UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA

(Creada por Ley Nro. 25265)

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

TESIS

"ANALISIS DEL METAGENOMA BACTERIANO DE LA RIZOSFERA DE QUINUA (*Chenopodium quinoa* Willd) EN SUELOS DE ALTA FERTILIDAD Y DEGRADADO EN HUANDO, HUANCAVELICA"

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN

SUELOS

PRESENTADO POR:

Bach. Juan Luis, MANCILLA CONDOR

PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

HUANCAVELICA, PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DE HUANCAVELICA
(Creada por ley N° 25265)
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

En la Ciudad Universitaria "Común Era"; auditorio de la Facultad de Ciencias Agrarias, a los 30 días del mes de abril del año 2019, a horas 4:00 p.m., se reunieron los miembros del Jurado Calificador, conformado de la siguiente manera:

PRESIDENTE : M. Sc. Julián Leonardo MANTARI MALLQUI

SECRETARIO : Ing. Carlos Raúl VERASTEGUI ROJAS

VOCAL : Dr. Isaac Nolberto ALIAGA BARRERA

Designados con resolución **N° 370-2018-D-FCA-UNH**; del proyecto de investigación titulado:

"ANÁLISIS DEL METAGENOMA BACTERIANO DE LA RIZOSFERA DE QUINUA *(Chenopodium quinoa* Willd) EN SUELOS DE ALTA FERTILIDAD Y DEGRADADO EN HUANDO, HUANCAVELICA" Cuyo autor es el graduado:

BACHILLER: Juan Luis, MANCILLA CONDOR.

ASESORADO POR: Dr. Ruggerths Neil DE LA CRUZ MARCOS.

A fin de proceder con la evaluación y calificación de la sustentación del proyecto de investigación, antes citado.

Finalizando la evaluación; se invitó al público presente y al sustentante abandonar el recinto; y luego de una amplia deliberación por parte del jurado, se llegó al siguiente resultado.

APROBADO [X]

POR UNANIMIDAD

DASAPROBADO [ ]

En conformidad a lo actuado firmamos al pie.

M. Sc. Julián Leonardo, MANTARI MALLQUI
Presidente

Ing. Carlos Raúl, VERASTEGUI ROJAS
Secretario

Dr. Isaac Nolberto ALIAGA BARRERA
Vocal

ASESOR:

Dr. RUGGERTHS NEIL DE LA CRUZ MARCOS

COASESOR:

Dr. GREGORIO JOSÉ, ARONE GASPAR

DEDICATORIA

A mis queridos padres Juan Leopoldo Mancilla Neyra y Josefina Condor Yangali por haberme guiado a ser una gran persona y haberme apoyado día a día orientándome, guiándome por el buen camino a seguir adelante hasta obtener este logro tan importante, que es de ustedes.

A mis hermanos, Yul Crisolvo, Denilson Leopoldo y Piero Alexander, mis queridos abuelitos, Filomena, Mauricio, Pelagia y Crisolvo Mancilla que desde el más allá nos guía e ilumina nuestros corazones de nuestras familias, a todos ustedes los estimo mucho y no hay manera de darles las gracias por el apoyo incondicional que me brindaron durante toda mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

- Primeramente, dar gracias a Dios por darme la vida y fortalecerme día a día para cumplir con mis metas que hasta ahora voy logrando.
- Expresar mi agradecimiento a la Universidad Nacional de Huancavelica, Facultad de Ciencias Agrarias, Escuela profesional de Agronomía.
- Mi más profundo agradecimiento al Dr. Gregorio José Arone Gaspar por sus sabias palabras y su acertada orientación para poder llevar a cabo el presente trabajo.
- A los docentes de la Universidad Nacional de Huancavelica de la Facultad de Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Agronomía, que con su esmero de cada día y su experiencia supieron guiarme por el camino correcto hacia mi formación profesional.
- Agradecer al Instituto de Innovación Agraria (INIA-Lima), programa presupuestal 089 Coordinadora Ing. Auristela Reynoso Zárate por brindarme la oportunidad de que sea posible este trabajo de investigación y que aporte a nuestra sociedad.
- A mis compañeros de trabajo, Leonor, Toño, Rubén y Viane por haberme apoyado durante la ejecución de mi tesis y estando día a día apoyándonos mutuamente, a todos ustedes muchas gracias.

ÍNDICE

CAPÍTULO I.. 2
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA 2
1.1. Descripción del Problema 2
1.2. Formulación del Problema 3
1.3. Objetivos: 3
1.3.1. Objetivo general 3
1.3.2. Objetivos específicos 3
1.4. Justificación 3
1.5. Limitaciones 4
CAPITULO II 5
MARCO TEÓRICO 5
2.1. Antecedentes 5
2.2. Bases Teóricas 7
2.2.1. La quinua 7
2.3. Bases conceptuales 8
2.3.1. Microbioma del suelo 9
2.3.2. La rizosfera 9
2.3.3. Biodiversidad microbiana del suelo 11
2.3.4. Ecología microbiana del suelo 14
2.3.5. Comunidad microbiana del suelo 14
2.3.6. Importancia de los microorganismos en el suelo 15
2.3.7. El rol de las bacterias en la agricultura 15
2.3.8. Caracterización del micro bioma del suelo 17
2.3.9. Metagenómica 17
2.3.10. Método independiente de cultivo celular 18
2.4. Defínción de términos 21
2.5. Hipótesis 23
2.6. Variables 23
2.7. Operacionalización de variables 24
CAPITULO III 25
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN 25
3.1. Ámbito temporal y espacial 25
3.1.1. Ubicación geográfica 26
3.1.2. Factores climáticos 26
3.2. Tipo de investigación 26
3.3. Nivel de Investigación 26

3.4. Población, muestra y muestreo 26
3.4.1. Población 26
3.4.2. Muestra 26
3.4.3. Muestreo 28
3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos 29
3.5.1. Tamizado de muestras de suelo rizosférico 29
3.5.2. Obtención de ADN genómico de suelo rizosférico 29
3.5.3. Preparado de geles de agarosa para la comprobación de ADN de las muestras de suelo rizosférico 31
3.5.4. Comprobación de las muestras de ADN 32
3.5.5. Tamizado de muestras de suelo no rizosférico 34
3.5.6. Obtención de ADN genómico de suelo rizosférico 34
3.5.7. Preparado de geles de agarosa para la comprobación de ADN de las muestras de suelo no rizosférico 36
3.5.8. Comprobación de las muestras de ADN de suelo no rizosférico 37
3.5.9. Procesamiento de datos a través de paquetes bioinformáticos. 39
3.6. Técnicas y procesamiento de análisis de datos 39
3.6.1. Materiales, reactivos y equipos utilizados 40
3.6.2. Unión de secuencias 42
3.6.3. Remover secuencias ambiguas de la base 42
3.6.4. Edición de la calidad de ADN 43
3.6.5. Editar longitud de secuencias 43
3.6.6. Limpieza de Chimeras de novo VESEARCH 44
3.6.7. Clasificación de secuencias 44
3.6.8. Alineamiento de secuencias 45
CAPITULO IV 46
PRESENTACIÓN DE RESULTADOS 46
4.1. Analisis de información 46
4.1.1. Propiedades fisicoquímicas de los suelos de alta fertilidad del Distrito de Huando 46
4.1.2. Propiedades fisicoquímicas de los suelos degradado del Distrito de Huando 47
4.1.3. Análisis foliar de la quinua (*chenopodium quinoa* Willd) de las parcelas del suelo de alta fertilidad. 48
4.1.4. Análisis foliar de la quinua (*chenopodium quinoa* Willd) de las parcelas del suelo degradado. 48
4.1.5. Biodiversidad de los suelos de alta fertilidad y suelo degradado procedentes de la secuenciación IlluminaMiseq 49
4.1.6. Diversidad bacteriana de las muestras de suelo de alta fertilidad 65
4.1.7. Análisis taxonómico de la comparación de muestras de suelo 66

4.2. Prueba de hipótesis 91
4.3. Discusión de resultados 91
Conclusiones 96
Recomendaciones 97
Referencias Bibliográficas 98
Apéndice…… 105

ÍNDICE DE CUADROS

Tabla 2. Mezcla de reacción para electroforesis de ADN.....33
Tabla 3. Mezcla de reacción para electroforesis de ADN.....38
Tabla 1. Nomenclatura de las muestras de suelo rizosférico y no rizosférico.....40
Tabla 4. Secuencias unidas de la muestra número suelo rizosférico.....42
Tabla 5. Analis de suelos de alta fertilidad.....46
Tabla 6. Análisis de muestras de suelo degradado 47
Tabla 7. Análisis foliar de hojas de quinua de los suelos de alta fertilidad.....48
Tabla 8. Análisis foliar de hojas de quinua del suelo degradado 48
Tabla 9. Número de secuencias totales de las muestras de suelo y su proceso después de la pirosecuenciación hasta obtener secuencias normalizadas. 50
Tabla 10. Número de OTUs mostrando diferencias significativas. 53
Tabla 11. Número de las secuencias de las muestras de suelo de alta fertilidad y suelo degradado, donde se incluyen los dominios bacteria y archea. 53
Tabla 12. Clasificación de las secuencias de suelo de alta fertilidad donde se indica la categoría taxonómica y el número de secuencias. 54
Tabla 13. Las categorías taxonómicas de las muestras de suelo se agruparon en 31 phylas, 59 clases, 81 órdenes, 187 familias y 447 géneros identificados, y su número de secuencias, de los suelos de alta fertilidad y degradado. 54
Tabla 14. Número de secuencias e índices de diversidad determinadas en las muestras de suelo de alta fertilidad.....66
Tabla 15. Género y número de secuencias en SRF Y SNRF del cultivo de quinua. 67
Tabla 16. Género y número de secuencias en SRD Y SND del cultivo de quinua. 75
Tabla 17. Géneros bacterianos solubilizadores de fosforo del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 84
Tabla 18. Géneros bacterianos biofúngicos del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 85
Tabla 19. Géneros bacterianos implicados en la Biorremediación en el cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 85
Tabla 20. Géneros bacterianos endófitos de la quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 86
Tabla 21. Géneros bacterianos implicadas en biocontro l del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 87

Tabla 22. Géneros bacterianos nitrificantes del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 88
Tabla 23. Géneros bacterianos productoras de fitohormonas del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 89
Tabla 24. Géneros bacterianos productores de sideróforos del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 90
Tabla 25. Géneros bacterianos productores de ACC - desaminaza del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo. 90

ÍNDICE DE FIGURAS

Ilustración 1. Esquema de la rizósfera. 10
Ilustración 2. Relación de área y especie 12
Ilustración 3. Resumen del proceso de Illumina. 20
Ilustración 5. Chacra cultivada con quinua en suelo degradado 27
Ilustración 6. Chacra cultivada con quinua en suelo de alta fertilidad 27
Ilustración 7. Muestreo de suelos para su análisis metagenómico 28
Ilustración 8. Muestreo de plantas de quinua con su pan de tierra 28
Ilustración 9. Tamizado de muestras de suelo. 29
Ilustración 10. Muestras de ADN en hependorff de 1.5 ml. 30
Ilustración 11. Gel de agarosa en cubetas de electroforesis. 32
Ilustración 12. Muestras de ADN cargando en las camas de electroforesis. 34
Ilustración 13. Muestras de ADN de suelos visualizadas en el fotocumentador con luz UV. 34
Ilustración 14. Muestras de ADN refrigeradas. 36
Ilustración 15. Muestras de suelo no rizosférico visualizadas en luz UV. 39
Ilustración 4. Diagrama de flujo de actividades de investigación 41
Ilustración 16. Remoción de secuencias ambiguous muestra de suelo número RF 16S. 42
Ilustración 17. Editado la calidad de ADN de la muestra de suelo NRF. 43
Ilustración 18. Programa SEED para editar la longitud de secuencias. 43
Ilustración 19. Editado la longitud de secuencia muestra SRD. 44
Ilustración 20. Limpieza de quimeras muestra SNRF. 44
Ilustración 21. Alineamiento muestra SNRD. 45
Ilustración 22. Tamaño medio de las secuencias inicialmente obtenidas mediante secuenciación Illumina Miseq. 51
Ilustración 23. Alineamiento de secuencias de la posición inicial y final del gen 16S rRna obtenidas a través de la plataforma de datos del RDP 11 "Aligner". 52
Ilustración 24. Numero de OTUs de la muestra SRF, donde nos muestra los valores en porcentajes de similitud al 97%, 98%, 99% y 100%. 53
Ilustración 25. Curvas de Rarefaction de las muestras de librería del suelo de alta fertilidad y degradado utilizando el número de OTUs asignado en el "Clustering" del RDP al 97.0% de similitud. Color azul: muestra SRF; color naranja: muestra SNRF; color plomo: muestra SRD; color amarillo: muestra SNRD. 66

ÍNDICE DE APÉNDICE

Anexo 1. Género y número de secuencias en SRF Y SRD del cultivo de quinua. 106
Anexo 2. Género y número de secuencias en SNRF Y SNRD del cultivo de quinua. 114
Anexo 3. Ordenes identificados, y su número de secuencias determinadas en el suelo rizosférico y no rizosférico, de los suelos de alta fertilidad y degradado en el cultivo de quinua. 122
Anexo 4. Phylas y su número de secuencias, identificadas en los suelos rizosféricos y no rizosféricos de los suelos de alta fertilidad y degradado del cultivo de quinua. ... 124
Anexo 5. Clase y su número de secuencias, identificadas en los suelos rizosféricos y no rizosféricos de los suelos de alta fertilidad y degradado del cultivo de quinua. ... 125
Anexo 6. Familia y su número de secuencias determinadas en los suelos rizosféricos y no rizosféricpos de los suelos de alta fertilidad y degradado en el cultivo de quinua. 127
Anexo 7. Análisis de suelos, caracterización del suelo de alta fertilidad 132
Anexo 8. Análisis de suelos, caracterización del suelo degradado 133
Anexo 9. Analis foliar del cultivo de quinua del suelo de alta fertilidad 134
Anexo 10. Análisis foliar del cultivo de quinua del suelo degradado 135

RESUMEN

Este estudio se desarrolló con la finalidad de conocer cambios en la población bacteriana de dos chacras campesinas, una de suelo fértil (SF) y otra degradada (SD), localizadas a 3562 msnm en Huando - Huancavelica cultivándose la quinua en la campaña agrícola 2016-2017. La comunidad bacteriana del suelo rizosférico (SR) de 30 plantas de quinua al 50% de floración y de 30 muestras de suelo no rizosférico (SNR) se analizaron después de la extracción de ADN del suelo. Para el análisis metagenómico se amplificó la región hipervariable V3-V4 del gen 16S rrna empleando IlluminaMiseq en FISABIO (Valencia, España). Se utilizaron FastQC y SEED2 para el procesamiento de secuencias, lo que permitió obtener 67235 secuencias normalizadas de 430 a 470 nucleótidos. Las secuencias se clasificaron en la plataforma de RDP11. En SR del SF se agruparon en 24 phyla con 60106 secuencias y 26 phyla con 47716 secuencias en SNR; en cambio en SD fue de 21 phyla con 61025 secuencias en SR y 22 phyla con 57105 secuencias en SNR. Se halló en SF 5356 unidades taxonómicas operativas (Otus) en SR y 6809 Otus en SNR. En SD se halló 5017 Otus en SR y 5571 Otus en el SNR. Los géneros más abundantes en SF y SD fueron Arthrobacter, Pseudomonas y Flavobacterium en SR, Gaiella, Gp6 y Paenibacillus predominaron en SNR. Existe una elevada biodiversidad en SR y SNR de ambos suelos, la diversidad en SR es menor que en SNR y además se aprecia pérdida de biodiversidad en SD con respecto al SF.

Palabras clave: Metagenómica, rizosfera, secuenciación masiva, quinua.

Abstract

This study was developed with the purpose of knowing changes in the bacterial population of two peasant farms, one of fertile soil (SF) and another degraded one (SD), located at 3562 meters above sea level in Huando - Huancavelica, cultivating quinoa in the 2016-2016 agricultural season. 2017 The bacterial community of the rhizospheric soil (SR) of 30 plants of quinoa at 50% flowering and 30 samples of non-rhizospheric soil (SNR) were analyzed after extraction of soil DNA. For the metagenomic analysis, the hypervariable region V3-V4 of the 16S rRNA gene was amplified using IlluminaMiseq in FISABIO (Valencia, Spain). FastQC and SEED2 were used for the processing of sequences, which allowed to 0obtain 67235 normalized sequences of 430 to 470 nucleotides. The sequences were classified in the RDP11 platform. In SR of the SF they were grouped in 24 phyla with 60106 sequences and 26 phyla with 47716 sequences in SNR; in SD, it was 21 phyla with 61025 sequences in SR and 22 phyla with 57105 sequences in SNR. It was found in SF 5356 operational taxonomic units (Otus) in SR and 6809 Otus in SNR. In SD 5017 Otus was found in SR and 5571 Otus in the SNR. The most abundant genera in SF and SD were Arthrobacter, Pseudomonas and Flavobacterium in SR, Gaiella, Gp6 and Paenibacillus predominated in SNR. There is a high biodiversity in SR and SNR of both soils, diversity in SR is lower than in SNR and in addition there is loss of biodiversity in SD with respect to SF.

Key words: Metagenomics, rhizosphere, massive sequencing, quinoa.

INTRODUCCIÓN

El estudio de los microorganismos de los suelos ha llegado a contribuir de manera natural en los problemas de la agricultura en estos últimos años ya que el uso excesivo de los fertilizantes sintéticos, funjicidas, herbicidas, etc. Han llegado a deteriorar y contamiar el suelo y aguas despertando a los investigadores como mitigar estos problemas. En las comunidades bacterianas estudiadadas se ha llegado a obtener resultados de bacterias que llegan a degradar hidrocarburos productos a base de petróleo, residuos químicos y bacterias que llegan a controlar las plagas y enfermedades en los cultivos, recuperando el equilibrio ecológico ambientalmente de las propiedades físicas y biológicas del suelo.

Estos estudios de metagenómica esta basado en las comunidades biológicas del suelo de aquellos organismos que cumplen diversas funciones específicas en el suelo de a cuerdo a los estudios mediante las técnicas moleculares de secuenciación masiva e Illumina Miseq técnica que actualmente se viene utilizando para la caractización de las poblaciones bacterianas del gen 16S rRNA. Uno de los problemas en los suelos de la sierra es la baja fertilidad donde se cultiva cada campaña agricola la quinua en el Distrito de Huando, fertilizando con productos sintéticos dañando la flora y fauna microbiana del suelo.

Gran parte de la producción es utilizada para el consumo familiar, la baja producción en el cultivo de quinua se debe principalmente a la falta de capital, créditos, asistencia técnica para la siembra y comercialización de este producto ya que está influenciado la capacidad de uso mayor de las tierras de calidad agrológicas bajas, por serias limitaciones de del suelo, por su fertilidad baja a media (debido a condiciones naturales del lugar y no tanto a una sobreexplotación agrícola) y por erosión.

Los agricultores del Distrito de Huando viene cultivando la quinua desde sus antepasados por ser un cultivo que adapata en las diferentes regiones del perú, llegando a producir de manera tardicional en pequeñas parcelas cuyo tamaño no sobrepasa los 10.000 m^2 utilizando sus propias semillas y abonando de manera tradicional con el estiércol del ganado. De esta manera obtienen rendimientos de 800 a 1000 kg/ha, que son rendimientos mínimos para su producción.

CAPÍTULO I
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.Descripción del Problema

La presencia de microorganismos en suelos naturales y agrícolas es indispensable, porque están implicados en el funcionamiento de los ciclos biogeoquímicos del C, N, P, S y otros, y en la transferencia de energía a los niveles superiores de la cadena trófica. Así mismo intervienen en los procesos claves como la formación de la estructura del suelo, descomposición de la materia orgánica, eliminación de toxinas y mediante la actividad PGPR (Rizo bacterias Promotoras de Crecimiento de Plantas) otorgan sostenibilidad de producción a los cultivos. Estas rizobacterias se hallan hospedadas principalmente en el suelo rizosférico y en el interior de las raíces de las plantas como endófitos.

La creciente demanda por la quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) viene induciendo a los campesinos a producir grandes volúmenes mediante una fuerte presión sobre los frágiles suelos. Asimismo, las prácticas implementadas han dado lugar a la pérdida de la cobertura vegetal, erosión, compactación, falta de rotación y escasa reposición de materia orgánica, los que influyen en la aceleración de la degradación de los suelos alto andinos, que finalmente se traduce en la pérdida de fertilidad del suelo. Para superar estos impases los agricultores acceden a los agroquímicos, generan más alteraciones y afectando al medio ambiente y la salud del suelo, principalmente a las comunidades microbianas del suelo en su composición, diversidad y actividad.

1.2. Formulación del Problema

¿Qué géneros bacterianos se hallan hospedadas en la rizósfera de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) cultivada en suelo de alta fertilidad y suelo degradado en Huando – Huancavelica?

1.3. Objetivos:

1.3.1. Objetivo general

Caracterizar poblaciones bacterianas asociadas a la rizósfera de quinua cultivada en suelo de alta fertilidad y suelo degradado, empleando el método independiente de cultivo celular, en Huando- Huancavelica.

1.3.2. Objetivos específicos

- ✓ Determinar los géneros bacterianos de la rizósfera y suelo no rizosférico de quinua cultivada en suelo de alta fertilidad.
- ✓ Determinar los géneros bacterianos de la rizósfera y suelo no rizosférico de quinua cultivada en suelo degradado.

1.4. Justificación

• Científico

El estudio en base al cultivo de la quinua contribuirá a la ciencia y los estudios de mayor profundidad a investigar sobre el impacto que generan los diferentes sistemas de manejo sobre las comunidades microbianas de los suelos de alta y baja fertilidad, promoviendo la actividad planta microorganismo que resulta interesante aplicar una de las técnicas moleculares para este tipo de estudio. Una de las técnicas moleculares se basa en el análisis de la constitución genética de los microorganismos mediante la extracción del ADN de las muestras, amplificación de ciertos genes o marcadores moleculares mediante Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) con marcadores universales 16S.

• Social

En lo social esta investigación contribuirá a nuestro país en y la sociedad esencialmente a los productores del cultivo de quinua lo actualmente está dando un realce en cuanto a la alimentación y balances nutritivos lo cual es clave saber que microorganismos que son los entes vivientes en el suelo y la interacción de las plantas cuales son las interacciones que hay en cuanto a la estabilidad del suelo y la disponibilidad de nutrientes para las plantas.

- **Económico**

Gran parte de la población y la relación de las sociedades en las zonas rurales, sostiene su economía en base a la producción de cultivos andinos, como es el caso de la quinua. Destacan los agricultores de la Sierra como principales productores para el sostén económico de sus familias las cuales conlleva a que la producción de estos productos cultivadas año tras año ha ido decayendo en los rendimientos y la baja producción afectando sus ingresos económicos debido a las degradaciones que acurre en el suelo.

- **Ambiental**

La determinación de la diversidad bacteriana debe realizarse como primer paso en los procesos de recuperación ambiental para entender el rol fundamental de los microorganismos responsables de los ciclos biogeoquímicos que contribuyen en los aspectos físicos, químico y biológicos de las estructuras del suelo lo que conlleva a que cuando hay una interacción microorganismo planta hay una relatividad de simbiosis de estos seres vivientes, que también son sensores de cambios ambientales, centrando al mismo tiempo su valor como fuente abundante de recursos biotecnológicos. El perfil de la diversidad microbiana puede representar la capacidad del suelo para enfrentarse a perturbaciones externas y puede ser un indicador para evaluar su calidad.

1.5.Limitaciones

Durante el proceso de ejecución del proyecto de tesis y el presamiento de los datos obtenidos, surgieron los sigueiemtes problemas:

- ✓ Uno de las limitaciones encontradas durante el proceso de ejecución fue la falta de recursos económicos para poder iniciar las evaluaciones que se tenían evaluar inicialmente, frente a ello se solucionó con el apoyo del equipo técnico del PNIA-PI-118 quienes fueron los que subencionaron económicamente las evaluaciones, la compra de materiales y los servicios de secuenciación en el extranjero.
- ✓ La falta de programas bioinformáticos para el procesamiento de datos obtenidos una vez secuenciados en España Valencia, frente a ello se trabajó con programas ya concocidos como el SEED, RDP11 y FQ, son aquellos programas que se encuentran en internet para poder descargarlo mediate la compra de estos paquetes por días limitados.

CAPITULO II
MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

Según Vega *et al.,* (2015), muestran los resultados del análisis de suelos cultivados con vid, donde se identificaron en la rizosfera de la vid con manejo agronómico orgánico y convencional abundantes filos entre ellos: Proteobacteria, Actinobacteria, Firmicutes, Bacteriodetes, Acidobacteria, Cloroflexi, Verrucomicrobia y Planctomycetes en diferentes proporciones.

Castañeda & Barbosa (2016), analizaron los suelos de viñedos orgánicos de Chile, donde observaron que el filo Proteobacteria fue más abundante, tanto en suelos prístinos como en aquellos provenientes de viñedos, seguido de Actinobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes y Planctomycetes, éstos sin diferencias significativas en ambos suelos.

Holland *et al.,* (2016), muestran resultados mediante la metagenómica una riqueza y diversidad de la microbiota ligeramente superior en suelos provenientes de viñedos (no rizosfera) que en suelos sin manejo agrícola (suelos prístinos), rechazando los conceptos de alteración de la diversidad bacteriana de los suelos por las actividades agrícolas.

Sugún Teng *et al., (*2018), mostraron los resultados sobre el P unido al Ca (Ca-P) era la principal especie de P orgánico (IP) y P inorgánico altamente resistente (HR-OP) representaron la mayor parte de P orgánico (OP). Estas cepas fueron identificadas como especies bacterianas de Enterobacter asburiae, Acinetobacter sp., cepa de Bacillus cereus, y así sucesivamente. Lo más eficiente La cepa IPSB podría

convertir más de 430 mg L-1 de ortofosfato, mientras que la cepa OPSB equivalente solo liberó menos de 4 mg L-1 in cultivo líquido, que indicó que los IPSB tienen una mejor capacidad de solubilización de P que los OPSB en los suelos de la rizosfera de Yeyahu. Es probable que los humedales regulen el proceso de transformación de P.

Estudios realizados en la microbiota del suelo de las 20 muestras generadas (5 tratamientos x 4 repeticiones), resultó que 90406 secuencias, que son más del 50% de estas se asociaron con el compost de doble dosis enmienda (COM2), alrededor del 17% de las secuencias fueron asociadas a la enmienda de compost de dosis única (COM1), y 13 y 10% fueron de pastizales. La diversidad se evaluó adicionalmente en un 3% de disimilitud con los índices de diversidad de Shannon (H) y Simpson (1 / D), no paramétricos estimadores de la riqueza Chao1 y ACE y la uniformidad de Shannon (H / log S). La prueba SNK aplicada a los índices de diversidad y uniformidad de Shannon no se pudo detectar diferencias significativas entre los tratamientos de manejo. El índice de Simpson encontró significativas diferencias entre las parcelas GS y COM1 con las demás, las parcelas de diversidad intermedia no se encontraron una relación significativamente diferente, en comparación con los suelos modificados con la doble dosis de compost (COM2) que si hay una riqueza significativamente mayor ($P < 0.05$) como lo indica los estimadores no paramétricos de riqueza CHAO 1, ACE y por el Curvas de rarefacción (Xiao *et al.*, 2018*)*.

Hartman, *et al.*, (2018), mencionan sobre los perfiles de comunidades de bacterias y hongos que se trabajaron por separado de 16 muestras de suelo y 16 de raíces de trigo de invierno. El perfil de la comunidad bacteriana produjo un total de 639440 secuencias de alta calidad (rango 11,192–37,255; mediana 18,122; adicional). El perfil que produjo 962,619 secuencias, osciló entre 9138 y 48,750 secuencias por muestra (mediana 30,284), identificándose 2972 unidades taxonómicas (OTU) fúngicas bacterianas, 3 arquéales y 1975 en todas las muestras, para los análisis de diversidad α, las comunidades se dividieron en 11,000 secuencias de bacterias y 9000 de hongos por cada muestra. Los suelos soportaron una mayor riqueza de especies que las raíces y las comunidades bacterianas teniendo una mayor riqueza que los hongos po lo tanto en el suelo como en las comunidades de raíces, la riqueza de bacterias y hongos fue mayor en las muestras de O-IT con un efecto significativo para las comunidades de bacterias en las muestras de raíces. Para concluir, la

microbiota de la raíz y el suelo de la planta difieren notablemente en riqueza, composición y taxonomía.

Estudios realizados en el cultivo de maíz demuestra la diversidad de organismos asociados a la rizósfera que se caracterizan por la diversidad bacteriana de la rizósfera de 27 líneas endogámicas de maíz, mediante secuenciación illumina de genes bacterianos con el gen 16S rRNA, y observaron variación sustancial en la riqueza bacteriana, diversidad y abundancia relativa de los taxones entre el suelo a granel y la rizósfera del maíz, teniendo como Phyla dominantes a Proteobacteria, Acidobacteria, Actinobacteria, Bacteroidetes y Cianobacterias, en el cual se evaluaron 274 secuencias obtenidas de la estructura rizosferica de maíz (Castillo *et al.*, 2015).

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. La quinua

La quinua es uno de los cultivos más antiguos de la región Andina, habiéndose hallado registros arqueológicos que datan de aproximadamente 5000 años AC, y en cuya domesticación y conservación han participado grandes culturas como la Tiahuanaco y la Incaica. Esta especie tuvo una amplia difusión en toda la región Andina de Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Chile, previo a la "Conquista". Con la llegada de los españoles los cultivos y hábitos alimenticios de los pueblos originarios fueron remplazados. Sin embargo, el cultivo de quinua se mantuvo en pequeñas plantaciones ubicadas en zonas periféricas a las grandes urbes, donde se producía preponderantemente para el autoconsumo. La conservación de las quinuas ancestrales, por parte de los pueblos originarios de América, constituye una fuente de diversidad invalorable. Estos materiales son utilizados en la actualidad como base para el mejoramiento genético de la especie y la obtención de variedades modernas (Hasta, 2017).

Clasificación taxonómica

La quinua está ubicada dentro de la sección Chenopodia y tiene la siguiente posición taxonómica de acuerdo a (Mujica 1993 citado por Tapia, 2016).

Reino : Vegetal

División : Fanerógamas

Clase : Dicotiledóneas

Orden : Angiospermas
Familia : Chenopodiáceas
Género : Chenopodium
Sección : Chenopodia
Subsección : Cellulata
Especie : *Chenopodium quinoa* Willd

El crecimiento y desarrollo de la quinua determinado por la genética de la planta, por las condiciones ambientales a las que está expuesta, y por factores bióticos (plagas, enfermedades y plantas extrañas que compiten con el cultivo). Tres de los factores ambientales más importantes son la radiación solar, la temperatura y la humedad del suelo. Uno de las principales fuentes es el suelo para poder sembrar la quinua la cual requiere de suelos franco arenosos y bien drenados, también está influenciada los factores ambientales, lo que resulta variable de acuerdo a las altitudes de siembra en sierra desde los 0 metros hasta los 4000 m.s.n.m. con una amplia variedad de cultivares de esta misma especie, comprendiendo los valles interandinos que también tiene potencialidades para para producción de este grano andino (Tapia, 2016).

2.3. Bases conceptuales

El origen de suelo es el resultado de cinco factores principalmente: la materia parental, el clima, la biota, la topografía y el tiempo. Todos los factores desempeñan un papel importante en el desarrollo de cualquier tipo de suelo y son altamente interactivos. Las combinaciones de estos factores llevan a la formación de tipos únicos de suelos, pero con horizontes relativamente predecibles que componen el perfil del suelo (Priscila, 2016).

El suelo es una matriz compleja formada por tres componentes importantes: un agregado de partículas minerales de tamaños diferentes, una composición química de componentes orgánicos en las diferentes etapas de su descomposición y un componente biológico que comprende a bacterias, hongos, levaduras y también a las raíces de plantas. Los minerales están divididos en tres tipos: arenas, arcillas y limos. Los porcentajes de estos tres componentes y la materia orgánica se organizan a nivel micro y macro en agregados que determinan la textura y estructura del suelo. Como cita Priscila, (2016), la composición del suelo y de la materia mineral viene dado por

las características de las rocas del subsuelo, así como de los procesos edáficos que hayan tenido lugar en su formación. Esta porción inorgánica se halla muy relacionada con la disponibilidad de nutrientes, retención de agua, etc. La materia orgánica procede de la actividad de los distintos organismos vivos del suelo, a su vez su composición y cantidad es variable especialmente en función del tipo de cubierta vegetal. La cantidad de materia orgánica es, sin duda, uno de los mejores indicadores de la calidad agronómica y fertilidad de un suelo.

2.3.1. Microbioma del suelo

El microbioma del suelo es un hábitat altamente complejo, contiene un tercio de los organismos vivientes y es el responsable del funcionamiento de los ecosistemas del suelo, debido a que están involucrados en los ciclos biogeoquímicos de elementos esenciales que requieren estos para poder vivir, entre ellos el carbón, oxigeno, nitrógeno, azufre, fosforo y otros metales (Zhou *et al*. 2015).

Se ha estimado que un gramo de suelo prístino presenta 2 X 10^9 células procariotas y kilómetros de hifas fúngicas. En base a los estudios de cinéticas de re asociación de ácidos desoxirribonucleicos (ADN) realizados sobre muestras de ADN extraído y purificado de suelo, han permitido estimar que un gramo de suelo comprende entre 2.000 y 18.000 genomas procariotas distintos un valor que puede ser subestimado ya que tales análisis difícilmente consideren los genomas de especies raras o difícil acceso (Zhou *et al.* 2015).

Adicionalmente, diversos trabajos han demostrado que una abundante diversidad microbiana del suelo incrementa la resistencia a plagas, la capacidad de recuperación del proceso microbiano e incluso se ha confirmado que el microbioma del suelo impacta en la composición del metaboloma de la hoja (Balestrini *et al.* 2015).

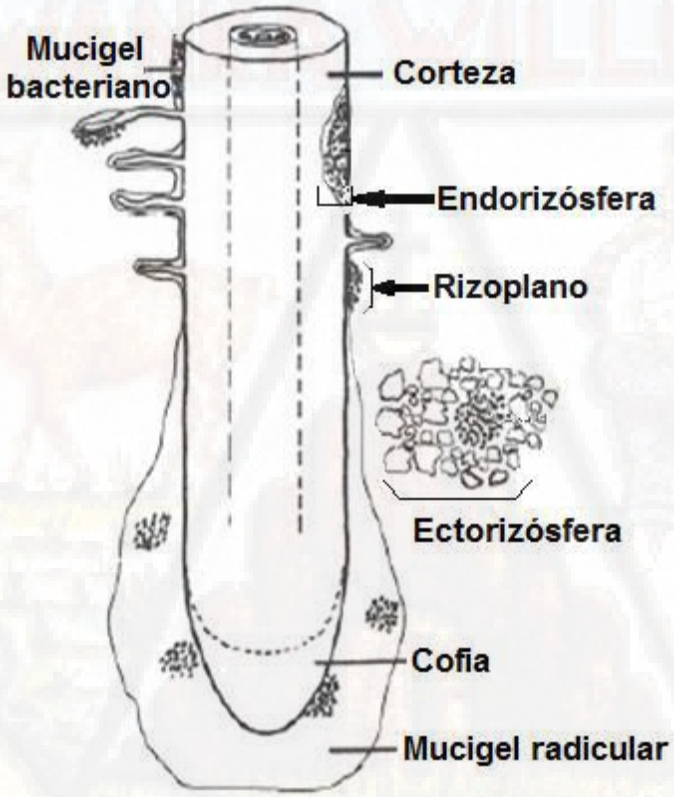
2.3.2. La rizosfera

La vida en el suelo se distribuye irregularmente cuya tendencia es agruparse para formar áreas críticas de biodiversidad, el término rizosfera fue introducido por primera vez por Hiltner (1904) para describir al volumen de suelo que rodea y está influenciado por las partes de tejido radicular, en el cual propiedades físicas, químicas y biológicas han sido cambiadas por el crecimiento y actividad de los microorganismos que interactúan en la raíz de cada planta (Voroney & Heck 2015).

La rizosfera se extiende a pocos milímetros del área abarcada por la raíz, donde habitan un aproximado de 1011 células microbianas por gramo de raíces (Morris & Blackwood 2015). La rizosfera está dividida en:

a) **Endorizósfera:** conformada por el tejido radicular incluyendo endodermis y capas corticales.
b) **Rizoplano:** es la superficie de la raíz donde partículas del suelo y microorganismos se adhieren; está conformado por la epidermis, corteza y capa de polisacárido mucilaginoso.
c) **Ectorizósfera:** consiste en el suelo seguidamente adyacente a la raíz.

Ilustración 1. Esquema de la rizósfera.



La planta al liberar compuestos de carbono mediante las raíces al ambiente circundante, junto al exudado de las raíces y el desprendimiento de las células proporciona los recursos necesarios para el desarrollo de diversos microorganismos entre ellas principalmente bacterias, de este modo, la planta y su microbioma se considera como un súper organismo debido a la dependencia de la microflora del

suelo para ciertas funciones y rasgos específicos que la planta dispone (Mendes *et al.* 2015).

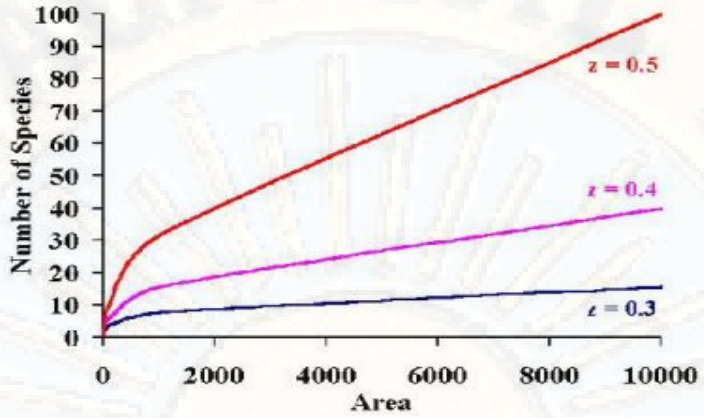
2.3.3. Biodiversidad microbiana del suelo

La biodiversidad de un suelo o un ambiente se estudia en el marco de la ecología de comunidades. Por definición una comunidad es el conjunto de especies que coexisten en un determinado lugar y tiempo. Definir especies entre microorganismos no es tarea sencilla, pora ello el análisis de comunidades microbianas hablaremos de unidades taxonómicas operativas (OTUs, en inglés Operational toxonomic units) (Udaondo, *et al.*, 2017).

El análisis de biodiversidad basado en amplicones ARNr 16S o de un gen funcional pueden llevarse a cabo mediante distintas estrategias para analizar un perfil de la diversidad de la comunidad y/o analizar su composición taxonómica, suele utilizarse el 97% de similitud entre secuencias nucleotídicas para definir un OTU (para Bacteria y Arquea). Además, existen distintos métodos para agrupar secuencias en OTUs y se dividen entre: aglomerativos, divisivos y de partición. Por su lado, los métodos de clasificación taxonómica suelen seguir alguna de las siguientes estrategias como alineamientos pareados contra un set de secuencias de referencia con identidad taxonómica conocida (BLAST) o comparación de la composición de las secuencias con una referencia de entrenamiento utilizando kmeros, o palabras de una longitud de pares de bases o métodos basados en filogenia que asignan la clasificación buscando la secuencia más cercana en una filogenia de referencia (Wen*et al.*, 2017).

Diversidad alfa. Diversidad alfa es la riqueza de especies de una comunidad particular a la que consideramos homogénea, la diversidad alfa es el número de especies que viven y están adaptadas a un hábitat homogéneo, cuyo tamaño determina el número de especies por la relación área especies en la cual, a mayor área, mayor cantidad de especies (Wen*et al.*, 2017).

Ilustración 2. Relación de área y especie



(Udaondo, *et al.*, 2017).

La medida más apropiada de diversidad es simplemente el número de especies por cada unidad de área representada en algún tipo de muestra estándar. Para la comparación de diferentes localidades se debe tomar en cuenta que el valor de la diversidad alfa es expresado como el número de especies el cual no es independiente del tamaño de la muestra, una curva de acumulación de especies debe ser establecida para cada tipo de localidad en particular que corresponde a la clase que precisa la comunidad en un área geográfica dada. Una vez se conozca el esfuerzo de captura necesario para llegar a un valor asintótico para la diversidad real, se puede aplicar el mismo esfuerzo para todas las localidades similares dentro de un paisaje, de estos surge el interés en trabajar con un promedio de valores alfa que corresponden a diferentes capturas entre el mismo tipo de comunidad en un paisaje dado (Thies, 2016).

Diversidad beta. Se refiere al estudio de diversidades entre hábitats o sitios, Whittaker definió que la diversidad beta puede medirse a partir de la presencia o ausencia de especies o a partir de los datos cuantitativos de abundancia, si la diversidad beta se mide entre pares de sitios, esta puede variar de par a par. Para analizar este tipo de variaciones se utilizan distancias ecológicas. La ventaja del uso de distancias es que se puede resumir la variación en la composición de especies en un solo valor; la desventaja es que se pierde la información sobre la identidad de las especies. Una distancia ecológica será buena si logra describir las diferencias entre la composición de especies para sitios que comparten la mayoría de las

especies con una distancia pequeña, mientras que, para los sitios con pocas especies, la distancia será grande. Para el cálculo de las distancias ecológicas existen varias posibilidades de calcular el tipo de valor que hay entre distancias que se miden en el intervalo entre cero y uno. Los valores de distancia de Bray Curtis y Kulczynski son cercanos a cero donde indican que el sitio comparado tiene una composición similar de especies, mientras que si el valor se acerca a uno implica que la composición varía entre sitios. Otras distancias calculan valores no restringidos, que pueden ser mayores a uno. Otras medidas de distancia tienen en cuenta solo las diferencias en presencia y ausencia de especies, entre ellas: Jaccard y Sorenson (Thies, 2017).

Diversidad gama.

La diversidad gamma es definida como la riqueza de especies de un grupo de hábitats (un paisaje, un área geográfica, una isla) que resulta como consecuencia de la diversidad alfa de las comunidades individuales y del grado de diferenciación entre ellas la diversidad beta. (Qingshui, *et al.* 2018).

Según Qingshui, *et al. (*2018), describen los pasos para poder realizar los estudios y medir la biodiversidad de una comunidad en áreas que incluyen más de un tipo de comunidad se limitan a presentar listas de especies de sitios puntuales (diversidad alfa), describiendo la diversidad regional (gamma) únicamente en términos de números de especies, o bien con cualquier otra medida de diversidad alfa. Algunos estudios llegan a hacer comparaciones entre los sitios (diversidad beta), pero no incluyen esta información en una medida de la biodiversidad basada tanto en alfa como en beta. La medición de la diversidad gamma con base en los componentes alfa, beta y la dimensión espacial se define de la siguiente manera:

Gamma = diversidad alfa promedio x diversidad beta x dimensión de la muestra donde:

- diversidad alfa promedio= número promedio de especies en una comunidad
- diversidad beta = inverso de la dimensión específica, es decir, 1/número promedio de comunidades ocupadas por una especie.
- dimensión de la muestra = número total de comunidades.

2.3.4. Ecología microbiana del suelo

La ecología microbiana del suelo, describe el número de especies de microoganismos diferentes y su abundancia relativa en una comunidad determinada en un hábitat dado tradicionalmente, este número se ha estimado para el total de células procariotas sobre la tierra en grupos taxonómicos distintos basados en el análisis secuencias de genes esto representa un enorme potencial biológico y genético que puede ser explotado para recuperar posibles nuevos genes, definir rutas metabólicas enteras y sus productos relacionados, se ha estimado que la ecología microbiana del suelo está dentro de un rango de 3000 y 11000 genomas por gramo de suelo, sin embargo, la inmensa diversidad genética y fenotípica de bacterias y hongos hacen de esta comunidad una de las más difíciles de estudiar. Se ha sugerido que el 99% de las bacterias observadas bajo el microscopio no son cultivables por las técnicas comunes de laboratorio, por lo que se puede suponer que ese 1% es representativo de la entera población y que ese 99% es simplemente un estado fisiológico que evita que sean cultivados en los medios actuales, o que es posible que el 99% sean fenotípicamente y genéticamente diferentes de ese 1% y solo la minoría de la población está representada. Para vencer este obstáculo del estudio dependiente de cultivo, se han desarrollado varios métodos para identificar y estudiar esos microorganismos, como el análisis de ácidos grasos y métodos como las diferentes variaciones de la Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) para analizar ADN y ARN (Carolina, *et at.*, 2016).

2.3.5. Comunidad microbiana del suelo

Las bacterias presentes en un hábitat determinado han sido parcialmente suplidas por la posibilidad de aislar y caracterizar el material genético de la comunidad microbiana residente en un nicho. A partir del estudio de los genomas de los microorganismos contenidos en una muestra es posible reconstruir la estructura poblacional de la comunidad de un suelo realizando los estudios basados en genomas de los microorganismos lo cual ha sido determinado como el estudio metagenomico implicando los genes 16S de las bacterias del suelo. Este tipo de investigación parte del análisis de los ácidos nucleicos e incluye a aquellos microorganismos que aún no han podido ser cultivados en condiciones simuladas. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), desarrollada la década de los 80, es

la metodología empleada para la amplificación selectiva de secuencias de ácidos nucleicos, mediante esta técnica es posible realizar la conversión del ARN a ADN complementario (ADNc) y la amplificación, ofreciendo así la posibilidad de realizar análisis en el ADN y ARN asociados a diversas muestras complejas para poder hacer inferencias sobre la composición poblacional y el estatus metabólico de la comunidad, mediante el análisis de las secuencias de los genes amplificados con iniciadores específicos o universales actualmente se está empleando nuevas metodologías de estudio de la microbiología en secuenciaciones de pirosecuenciación e Illumina miseq (Illumina, 2017).

2.3.6. Importancia de los microorganismos en el suelo

Los microrganismos en suelo cumplen diversas funciones ya que son el sustento de la riqueza del suelo transformando la materia orgánica en azúcares, almidón, celulosa y otros, estos son las fuentes principales de energía de los microorganismos su permite comprender la importancia de la relación C/N en los aportes orgánicos que le brinda a los suelos degradando moléculas complejas de materia orgánica, formando el humus y creando una microbiota compleja del suelo facilitando la aireación, el almacenamiento de agua y su fertilidad para así ser asimilables de manera fácil para las plantas. Las características específicas de los microhábitats de los microorganismos del suelo forman las microregiones dentro de los agregados del suelo controlando la naturaleza y disponibilidad de los recursos de nutrientes. Los microorganismos son la base más compleja y estudiada del suelo ya que comprende un rol básico iniciando con la degradación de las rocas y los minerales como el fosforo, calcio, magnesio, asufre, etc, que son esenciales en la riqueza del suelo (Carolina, *et at.*, 2016).

2.3.7. El rol de las bacterias en la agricultura

Las bacterias del suelo son muy importantes en los ciclos biogeoquímicos y se han utilizado para la producción de cultivos durante décadas. La interacción planta-bacterianas en la rizosfera son los determinantes de la salud de las plantas y la fertilidad del suelo. Las bacterias del suelo de vida libre que son beneficiosas para el crecimiento de las plantas, generalmente denominadas rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR), son capaces de promover el crecimiento de las plantas al colonizar la raíz de la planta. Las PGPR también se

denominan rizobacterias que promueven la salud de las plantas (PHPR) o nódulos que promueven las rizobacterias (NPR). Estos están asociados con la rizosfera, que es un importante entorno ecológico del suelo para las interacciones planta-microbio. Las bacterias fijadoras de nitrógeno simbióticas incluyen las cianobacterias de los géneros Rhizobium, Bradyrhizobium, Azorhizobium, Allorhizobium, Sinorhizobium y Mesorhizobium. Bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre o fijadores de nitrógeno asociativos, por ejemplo, bacterias pertenecientes a las especies *Azospirillum, Enterobacter, Klebsiella* y *Pseudomonas.*, se ha demostrado que se adhieren a la raíz y colonizan de manera eficiente las superficies de la raíz. PGPR tiene el potencial de contribuir a la promoción del crecimiento sostenible de las plantas. En general, la PGPR funciona de tres maneras diferentes: sintetizando compuestos particulares para las plantas, facilitando la absorción de ciertos nutrientes del suelo y disminuyendo o evitando que las plantas contraigan enfermedades. La promoción y el desarrollo del crecimiento de las plantas se pueden facilitar directa e indirectamente. La promoción indirecta del crecimiento de las plantas incluye la prevención de los efectos nocivos de los organismos fitopatógenos. Esto se puede lograr mediante la producción de sideróforos, es decir, pequeñas moléculas de unión a metales. El control biológico de patógenos de plantas transmitidas por el suelo y la síntesis de antibióticos también se han reportado en varias especies bacterianas. Otro mecanismo por el cual la PGPR puede inhibir los fitopatógenos es la producción de cianuro de hidrógeno (HCN) y / o enzimas degradadoras de la pared celular fúngica, por ejemplo, quitinasa y β-1,3-glucanasa. La promoción directa del crecimiento de las plantas incluye PGPR simbiótica y no simbiótica que funcionan a través de la producción de hormonas vegetales como las auxinas, citoquininas, giberelinas, etileno y ácido abscísico. La producción de indol-3-etanol o indol-3-ácido acético (IAA), los compuestos que pertenecen a las auxinas, se ha informado para varios géneros bacterianos. Algunos PGPR funcionan como un sumidero para el 1-aminociclopropano-1-carboxilato (ACC), el precursor inmediato del etileno en las plantas superiores, al hidrolizarlo en α-cetobutirato y amoníaco, y de esta manera promover el crecimiento de la raíz al reducir los niveles de etileno en El entorno micro-rizo. PGPR también ayuda en la solubilización de fosfatos

minerales y otros nutrientes, mejora la resistencia al estrés, estabiliza los agregados del suelo y mejora la estructura del suelo y el contenido de materia orgánica. Las PGPR retienen más N orgánico del suelo y otros nutrientes en el sistema planta-suelo, lo que reduce la necesidad de fertilizantes N y P y mejora la liberación de nutrientes, también encontramos bacterias que silabizan fosfatos, inducen la resistencia sistémica, controlan entomopatógenos, inducen al estrés hídrico, bacterias que están en la biorremediación de suelos, aguas y bacterias que producen sideróforos. La presencia de hongos y bacterias endofíticos asintomáticos en plantas se conoció desde el siglo XIX. Se estima que más de 1 millón de especies endofíticos existen en los suelos como también bacterias que superan más de 200 géneros bacterianos de 16 filos, tanto cultivables como no cultivables (Hayat, *et al* 2017).

2.3.8. Caracterización del micro bioma del suelo

Los diversos enfoques moleculares basados en la secuenciación y análisis filogenéticos de los genes ADNr 16S nos han permitido detectar y caracterizar la gran diversidad de los microorganismos del suelo, sin embargo, los recuentos directos de las bacterias del suelo se suelen obtener de la mayor cantidad de microorganismos que son identificados molecularmente mediante técnicas independientes de cultivo celular. Considerando que al emplear el método dependiente de cultivo celular sólo se identifica alrededor del 1% de la diversidad microbiana del suelo mediante cultivo *in vitro*, se han desarrollado diferentes enfoques de estudios de los microorganismos ambientales entre ellos, las pruebas sin amplificar mediante el análisis de ácidos nucleicos *in situ* como la hibridación de ácidos nucleicos; y el análisis mediante metagenómica que implica la secuenciación directa del ADN independiente de cultivo microbiano (Thies, 2017).

2.3.9. Metagenómica

A partir de la década de los 90, surgieron varios métodos moleculares capaces de analizar la comunidad microbiana de cualquier tipo de ambientes basadas en la PCR amplificando mediante la clonación de; la secuenciación de los genes ADNr 16S y genes funcionales mediante la electroforesis en gel desnaturalizante en gradiente (DGGE); con el polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción terminal

(T-RFLP), sin embargo las actuales tecnologías moleculares de alto rendimiento han desplazado a las técnicas antecesoras en la caracterización de comunidades microbianas, entre ellos: la secuenciación de ADN / ARN de alto rendimiento; PhyloChip; GeoChip; la proteómica basada en espectrometría masiva para análisis de comunidades y el metaboloma. El análisis metagenómico se inicia al extraer el ADN directamente de una muestra ambiental, si este es sometido a la amplificación por PCR antes de la secuenciación utilizando los iniciadores para genes específicos se le denomina metagenómica dirigida (Wen, *et al* 2016).

Dentro del grupo de iniciadores específicos utilizados para la identificación de una taxa en particular, se emplea los iniciadores de la región de los genes ADNr 16S que sirve para determinar el número relativo de genes ADNr 16S provenientes de bacterianas y arquea, asimismo establecer la diversidad taxonómica general de estos organismos en el suelo; los métodos descritos producen grandes conjuntos de datos, también denominado metadato, los cuales son analizados bajo un enfoque computacional que depende del método de secuenciación empleado, el cual permite identificar los OTUS que representan la filogenia de los grupos taxonómicos y la abundancia relativa de la comunidad analizada (Wen, *et al* 2016). Este servidor ha sido utilizado para identificar microbiomas y perfiles metabólicos en diferentes biomas de los ambientes que se desea estudiar (Basak, *et al.* 2016).

2.3.10. Método independiente de cultivo celular

El desarrollo de técnicas para la extracción del ADN o ARN de toda la comunidad microbiana a partir de muestras ambientales y su análisis ha hecho posible un mayor conocimiento de la diversidad microbiana. Las técnicas para la extracción de ADN usualmente son una combinación de métodos físicos y químicos para romper las células tratando de minimizar el daño causado a los ácidos nucleícos. Los métodos para extraer metagenomas bacterianos de diversos ambientes se dividen en dos grupos: lisis directa de las células contenidas en una suspensión amortiguada de la muestra y seguidamente la separación del ADN del substrato y los residuos celulares, o la lisis indirecta con la separación primero de las células del substrato para luego ser lisados (Carver, *et al.* 2017).

Este tipo de lisis permite obtener ADN con una mayor integridad y pureza. Además, el ADN recuperado se encuentra menos contaminado con sustancias

asociadas a la muestra ambiental que interfieren con la manipulación enzimática del mismo. Otra de las ventajas que presenta este método se relaciona con el tamaño promedio de los fragmentos del ADN aislado, estos suelen ser mayores que los obtenidos con una lisis directa, la mayoría de las técnicas moleculares usadas para estudios de diversidad microbiana están basadas en la amplificación de una secuencia blanco. La secuencia más frecuentemente usada es la del gen que codifica para el ARN ribosómico, y específicamente el gen que codifica para la subunidad menor del ribosoma bacteriano, ARNr 16S. Esta aproximación ha sido utilizada para caracterizar la diversidad bacteriana en diferentes tipos de suelos y diferentes tipos de ambientes como sedimentos, aguas termales, suelos contaminados por relaves, etc. Este marcador ha sido extensamente usado dado que está presente en todos los microorganismos y tiene la misma función en todos ellos debido a sus restricciones estructurales en grados de variabilidad en su secuencia, lo que permite realizar comparaciones con diferente nivel de resolución (Carver, *et al.* 2017).

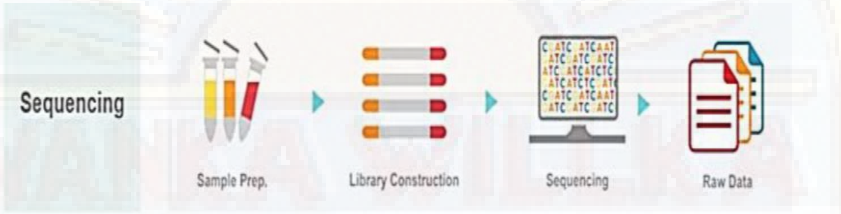
Métodos moleculares de huellas genéticas

El secuenciamiento de clones con insertos de producto de PCR del gen ARNr 16S, es el esfuerzo y el costo que involucra el análisis de múltiples muestras, lo cual es esencial cuando se pretende estudiar la funcionalidad de una comunidad microbiana del suelo como una alternativa para la investigación de comunidades de bacterianas de muestras complejas reflejan el gen ARNr 16S con métodos moleculares de huellas genéticas que permiten el análisis simultaneo de múltiples muestras. Otras metodologías han incorporado sistemas de secuenciación automatizado para la detección láser de fragmentos de ADN con marcadores de fluoróforos que es el método más recientemente teniendo la posibilidad de incorporar un marcador interno de tamaño en cada muestra, son características que deben dotarlos de un grado necesario de reproducibilidad. Además, de su bajo costo y sencillez. Es importante resaltar que todas las técnicas de tipo huella digital presentan desvíos asociados a la amplificación por PCR suelen presentar una baja cobertura y también baja resolución taxonómica, ya que se obtienen fragmentos del mismo tamaño, que pueden resultar de grupos filogenéticos muy distintos (Chapelle, *et al.* 2016).

Secuenciación Illumina miseq

Es uno de los métodos universales de identificación de las bacterias en poblaciones o comunidades bacterianas que se encuentran en los diferentes ambientes del suelo, el proceso que se utiliza en la pirosecuenciación illumina consta de cuatro pasos importantes para determinar la secuenciación de los genes: preparación de la muestra, construcción de la biblioteca, secuenciación y generación de datos sin procesar (Illumina, 2017).

Ilustración 3. Resumen del proceso de Illumina.



La preparación de la muestra, parte principalmente de muestras de ADN o ARN que pasa por un control de calidad y aquellas que lo superan nos permite construir la biblioteca. Se prepara por fragmentación al azar de ADN o ADNc que une en el adaptador ($5^{!}$ y $3^{!}$), aquellos fragmentos ligados se amplifican por PCR y se purifican en gel (Illumina, 2017).

La etapa de la secuenciación es un punto más complejo para la producción de un clúster, se debe cargar a la biblioteca una celda de flujo que atrae segmentos en un campo de sebadores incorporados en la superficie y complementarios a los adaptadores mencionados. Se originan clones de cada amplificación y al completar el clúster lo moldes pueden ser secuenciados (Illumina, 2017).

El método de Illumina es un proceso patentado en base a un terminador capaz de detectar cada base mientras se une a las cadenas del ADN molde, es por ello que se obtiene una secuencia más precisa y con eliminación de errores específicos según la secuencia, mejor que los métodos de primera generación. Finalmente, aquellos datos se convierten en datos brutos para el análisis bioinformático (Illumina, 2017).

2.4. Defínción de términos

Rizósfera. La rizósfera es un complejo y dinámico microambiente, donde las bacterias y hongos, en asociación con las raíces, forman comunidades únicas que tienen considerable potencial para la detoxificación de compuestos orgánicos nocivos.

Endófito. Son organismos que viven en asociación con plantas, se encuentran en las hojas y en los tallos de muchas plantas.

Ecosistema. Un ecosistema es una unidad compuesta de organismos interdependientes que comparten el mismo hábitat.

Genómica. Es el conjunto de ciencias y técnicas dedicadas al estudio integral del funcionamiento, el contenido, la evolución y el origen de los genomas.

Genoma. Es el conjunto de genes contenidos en los cromosomas, lo que puede interpretarse como la totalidad del material genético que posee un organismo o una especie en particular.

Metagenoma. Son secuencias del genoma de los diferentes microorganismos, bacterias en este caso, que componen una comunidad, extrayendo y analizando su ADN de forma global.

Oligonucleótidos. Es una secuencia corta de ADN o ARN, con cincuenta pares de bases o menos. Tienen distintas funciones se utilizan como cebadores en reacciones de amplificación, como sondas de hibridación y en bloqueos específicos de ARN mensajero.

Plásmidos. Son moléculas circulares de ADN que se replican de manera independiente al cromosoma de la célula hospedera.

Secuenciación. Es un conjunto de métodos y técnicas bioquímicas cuya finalidad es la determinación del orden de los nucleótidos (A, C, G y T) en un oligonucleótido de ADN.

Secuenciación IlluminaMiseq. El método clásico de terminación de la cadena o método de Sanger necesita una hebra molde de ADN de cadena sencilla, un cebador de ADN, una ADN polimerasa con nucleótidos marcados radiactivamente o mediante fluorescencia y nucleótidos modificados que terminan la elongación de la cadena de ADN.

Normalización. Proceso de elaborar, aplicar y mejorar las normas que se aplican a distintas actividades científicas, industriales o económicas, con el fin de ordenarlas y mejorarlas.

ADN. Ácido desoxirribonucleico, abreviado como ADN, es un ácido nucleico que contiene las instrucciones genéticas usadas en el desarrollo y funcionamiento de todos los organismos vivos y algunos virus, y es responsable de su transmisión hereditaria.

Gen 16S. Es un componente de la subunidad 30S de los ribosomas procariontes que se une a la secuencia de Shine-Dalgarno. Los genes que lo codifican son conocidos como genes del 16 rRNA, y se utilizan para la reconstrucción de filogenias debido a sus bajas tasas de evolución.

ADN ribosómico. El ADN ribosómico (ADNr) es una secuencia de ADN contenida en los cromosomas del nucléolo que codifica ARN ribosómico.

Bioinformática. Es la aplicación de tecnologías computacionales a la gestión y análisis de datos biológicos.

Secuencia de ADN. Una secuencia de ADN, secuencia de nucleótidos o secuencia genética es una sucesión de letras representando la estructura primaria de una molécula real o hipotética de ADN o banda, con la capacidad de transportar información.

Lisis. Es el proceso de ruptura de la membrana celular de células o bacterias que produce la salida del material intracelular, provocado por lisinas.

PCR. Esta técnica sirve para amplificar un fragmento de ADN; su utilidad es que tras la amplificación resulta mucho más fácil identificar con una muy alta probabilidad, virus o bacterias causantes de una enfermedad, identificar personas (cadáveres) o hacer investigación científica sobre el ADN amplificado.

Oligonucleótidos. Es una secuencia corta de ADN o ARN, con cincuenta pares de bases o menos. Tienen distintas funciones: se utilizan como cebadores en reacciones de amplificación, como sondas de hibridación y en bloqueos específicos de ARN mensajero.

Polimerasa. El ADN polimerasa es la enzima que lleva a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), una técnica que ha desempeñado un papel esencial en el desarrollo de la genética.

dNTPs. Llevan a cabo la síntesis de la nueva cadena de ADN emparejando los desoxirribonucleótidos trifosfato (dNTP) con los desoxirribonucleótidos complementarios correspondientes del ADN molde.

Amplificación. También definida como agrandar la intensidad de algo, por lo general, podría ser luz o magnetismo, etc. En términos particulares se define para amplificar genéticamente genes de ADN.

2.5. Hipótesis

Ho: La población bacteriana asociada a la rizósfera de quinua, evaluada mediante el método independiente, no difieren en siembras realizadas en suelos de alta fertilidad y degradado, en Huando- Huancavelica.

Ha: La población bacteriana asociada a la rizósfera de quinua, evaluada mediante el método independiente, difieren en siembras realizadas en suelos de alta fertilidad y degradado, en Huando- Huancavelica.

2.6. Variables

Variables idependientes

- ✓ Suelo rizosférico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad.
- ✓ Suelo rizosférico de quinua sembrada en suelo degradado.
- ✓ Suelo no rizosférico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad
- ✓ Suelo no rizosférico de quinua sembrada en suelo degradado.

Variable Dependiente:

- ✓ Géneros bacterianos en la rizosfera de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad.
- ✓ Géneros bacterianos en el suelo no rizosférico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad.
- ✓ Géneros bacterianos en la rizosfera de quinua sembrada en suelo degradado.
- ✓ Géneros bacterianos en el suelo no rizosférico de quinua sembrada en suelo degradado.

2.7. Operacionalización de variables

Variable	Definición operativa	Indicador
Variable Independiente: ✓ Suelo rizosférico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad.	Muestras de suelo adherido a la raíz de la quinua.	g
✓ Suelo rizosférico de quinua sembrada en suelo degradado.	Muestras de suelo adherido a la raíz de la quinua.	g
✓ Suelo no rizosférico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad	Muestras de suelo que no están involucradas con la rizosfera de la quinua.	g
✓ Suelo no rizosférico de quinua sembrada en suelo degradado.	Muestras de suelo que no están involucradas con la rizosfera de la quinua.	g
Variable Dependiente: ✓ Géneros bacterianos en la rizosfera de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad.	ADN metagenómico.	Secuencias de ADN.
✓ Géneros bacterianos en el suelo no rizosférico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad.	ADN metagenómico.	Secuencias de ADN.
✓ Géneros bacterianos en la rizosfera de quinua sembrada en suelo degradado.	ADN metagenómico	Secuencias de ADN.
✓ Géneros bacterianos en el suelo no rizosférico de quinua sembrada en suelo degradado.	ADN metagenómico	Secuencias de ADN.

CAPITULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Ámbito temporal y espacial

Departamento : Huancavelica

Provincia : Huancavelica

Distrito : Huando

3.1.1. Ubicación geográfica

Latitud sur : 12° 33´ 52”

Longitud oeste : 74° 56´50”

Altitud : 3562 msnm.

3.1.2. Factores climáticos

Precipitación pluvial : 700 mm.

Humedad relativa : 60%

T° promedio anual : 12°C

Ls datos fueron obtenidos mediante un equipo GPS y comparadas con los datos que ya estaban establecidos por (MDH, 2018).

3.2. Tipo de investigación

El presente trabajo de investigación es descriptivo.

3.3. Nivel de Investigación

El presente trabajo de investigación es de nivel básico.

3.4. Población, muestra y muestreo

3.4.1. Población

La población esubo conformado por las plantas de quinua cultivadas en suelos de alta fertilidad y degradado, a partir de ello se extrajo muestras de suelo rizosférico y no rizosférico en el Distrito de Huando Huancavelica.

3.4.2. Muestra

La muestra estuvo constituida por dos tipos de suelo, suelo rizoserico y no rizosférico de los suelos de alta fertilidad y degradao, para luego ser procesadas en los ambientes del Laboratorio de Interacciones Planta Microorganismo de la Escuela Profesional de Agronomía de la Universidad Nacional de Huancavelica.

Ilustración 4. Chacra cultivada con quinua en suelo degradado

Ilustración 5. Chacra cultivada con quinua en suelo de alta fertilidad

3.4.3. Muestreo

Se utilizó el muestreo no trobabilistico en la colección de las muestras de suelo rizosférico y no rizosférico de las plantas de quinua (suelo fértil y suelo degradado).

Ilustración 6. Muestreo de suelos para su análisis metagenómico

Ilustración 7. Muestreo de plantas de quinua con su pan de tierra

3.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.5.1. Tamizado de muestras de suelo rizosférico

Tres días posteriores a la recolección de las muestras se tamizaron los suelos que están íntimamente adheridas a la raíz de la quinua a través de una malla de 4 mm para eliminar las raíces y algunos residuos de la planta. Una vez concluida con él se almacenaron las muestras debidamente codificadas en criotubos con una aproximación de 200 mg se suelo, en una congeladora de -40 °C, para luego extraer el ADN genómico.

Ilustración 8. Tamizado de muestras de suelo.

3.5.2. Obtención de ADN genómico de suelo rizosférico

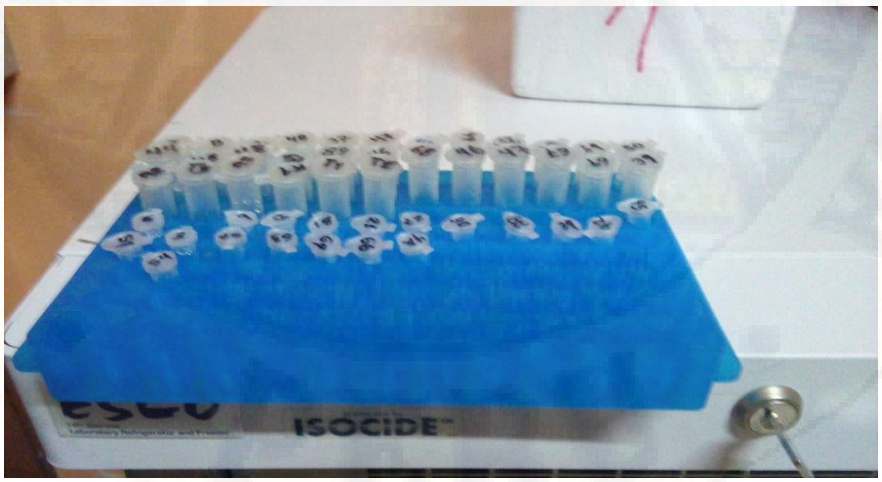
Para la obtención de ADN genómico se utilizó el producto PowerSoil® DNA Isolation Kit Mo Bio, siguiendo el protocolo establecido por la fábrica.

Protocolo de extracción de ADN genómico

a) Pesar 0.25 g de suelo y adicionar la muestra al microtubo de 2 ml.
b) Mezclar la muestra con ligero vortex y adicionar la solución C_1, 60 µl (si este precipitado es de color blanco lechoso, calentar a 60 °C hasta disolver).
c) Invertir manualmente varias veces los microtubos para mezclar.
d) Utilizar el homogenizador por 90 segundos a 1600 rpm.
e) Centrifugar en una microfuga a 12200 rpm por 30 segundos (no exceder los 10000xg los tubos se pueden romper).
f) Retirar el sobrenadante a un nuevo tubo de 2 ml aproxim. de 400 a 500 µl.
g) Adicionar la solución C_2, 250 µl y dar vortex por 5 segundos.
h) Incubar a 4 °C por 5 minutos.

i) Centrifugar a 12200 rpm por 1 minuto.
j) Retirar el sobrenadante, aproxm. 600 µl a un nuevo tubo de 2 ml.
k) Adicionar la solución C_3, de 200 µl y dar vortex ligero.
l) Incubar a 4 °C por 5 minutos.
m) Centrifugar a 12200 rpm por 1 minuto.
n) Retirar el sobrenadante hasta 750 µl a un nuevo microtubo de 2 ml.
o) Adicionar solución C_4 (mezclar bien antes de utilizar), 1200 µl y dar vortex por 5 segundos.
p) Cargar dentro del SPIN FILTER aproximadamente 650 µl.
q) Centrifugar a 12200 rpm por 1 minuto, volver a cargar 650 µl, centrifugar y cargar otra vez; realizar solo 3 cargadas y desechar el eluido.
r) Lavar con la solución C_5, adicionar 500 µl, al SPIN FILTER.
s) Centrifugar a 12200 rpm por 30 segundos. Desechar el eluido.
t) Volver a centrifugar a 12200 rpm por 1 minuto.
u) Retirar el filtro y colocar en un nuevo tubo eppendorf.
v) Adicionar 50 µl de agua MLQ estéril a la membrana.
w) La membrana se debe rehidratar por más de un minuto.
x) Centrifugar a 12200 rpm por 30 segundos.
y) El ADN está listo en el eluido.
z) Almacenar el ADN a -20 °C hasta usarse.

Ilustración 9. Muestras de ADN en hependorff de 1.5 ml.



3.5.3. Preparado de geles de agarosa para la comprobación de ADN de las muestras de suelo rizosférico

Se comprobó la presencia y la calidad de ADN extraído mediante la técnica de electroforesis, antes de ello realizamos el preparado de los geles de agarosa, donde se pondrán las muestras de ADN.

Protocolo para preparar tampón buffer para electroforesis de ADN.

- Tenemos el tampón TBE 10x(0,5x), para saber las cantidades a emplear realizamos la siguiente ecuación de cálculo de dilución en una concentración que está planteada por la siguiente formula.

  C1.V1= C2.V2

  10x . V1=0,5x . 500 ml

  $$V1=\frac{0,5x\ .500\ ml}{10x} = 25 \text{ ml}$$

  C1: concentración inicial
  C2: concentración final
  V1: volumen inicial
  V2: volumen final

- Para preparar 500 ml de tampón buffer necesitamos 25 ml de tampón TBE 10x (0,5x) y 475 ml de agua ultra pura. (los 475 ml de agua ultra pura se complementan con los 25 ml de tampón TBE 10x lo que corresponde a 500 ml de solución).
- Durante este proceso se debe trabajar cuidadosamente en el cuarto oscuro con los materiales del mismo ambiente y con la indumentaria de protección adecuada (guardapolvo, guantes, mascarilla y cofia).

Protocolo para el preparado de geles de agarosa al 1%

- Preparar la cama de electroforesis con cinta maskin para evitar derrames de la solución.
- Pesar 0,6 g de agarosa y echar en un frasco de 250 ml de tapa color azul con rosca.
- Medir 40 ml de tampón TBE en una probeta de 100 ml que está en el ambiente oscuro.
- Una vez medida los 40 ml de tampón TBE adicionar al frasco con los 0,6 g de agarosa, tapar y diluir bien.
- Llevar la solución al microondas por un tiempo de 120 segundos para disolver la agarosa, en caso que no se disolviera bien la agarosa, aumentar por un tiempo

de 20 segundos en el microondas, hasta que la solución se muestre claro sin grumos.

- Una vez retirada la solución del microondas echar en la cama de electroforesis. Para ello la cama de electroforesis debe estar bien forrada con cinta maskin.
- Colocar los peines en la cama y dejar que solidifique por un tiempo de 20 minutos.

Preparado de marcador de DNA 300 µl.

DNA marcador 1 ul x 50= 50 µl

Loading dye 6x 1 ul x 50= 50 µl

Agua ultra pura 4 ul x 50= 200 µl

300 µl

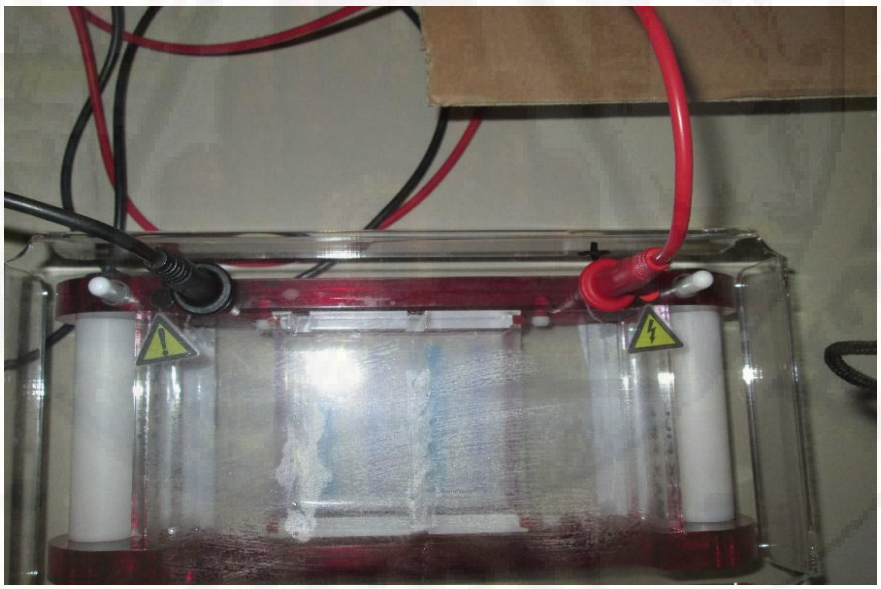
Preparado de GelRed para 1ml

GelRed(1000x) 3 µl

Loading buffer 997 µl

1000 ml.

Ilustración 10. Gel de agarosa en cubetas de electroforesis.



3.5.4. Comprobación de las muestras de ADN

Para comprobar la presencia y calidad del ADN después de su extracción y purificación, se tomó 5 µl de muestra de ADN, 4 µl de loading buffer y 1 µl de

marcador o tampón de carga, está mezcla se empleó para cargar en los geles de agarosa al 1% preparados en solución tampón TBE. La electroforesis se realizó empleando una corriente continua de 80 V. Los geles se tiñeron con una solución de bromuro de etidio (0.5 µg/ml) y se fotografiaron bajo luz UV. Como marcador de tamaño molecular se utilizó el denominado Molecular DNA Marker. En los geles debe comprobarse una banda superior a 20 kpb, a veces se nota presencia ADN degradado con valores inferiores.

Tabla 1. Mezcla de reacción para electroforesis de ADN

productos	**Cantidad (µl)**
Marcador DNA	1 µl
Loading buffer	4 µl
ADN	5 µl
total	**10 µl**

Protocolo para cargar las muestras ADN en gel de agarosa

- Retiramos las cintas maskin de las camas de electroforesis.
- Poner la cama con gel en la cubeta de electroforesis con tampón TBE 10x.
- Retirar los peines de la cama de electroforesis cuidadosamente sin dañar el gel.
- Centrifugar con un mini spin el marcador y loading buffer para poder juntar y deshielar.
- Extraer 5 µl de ADN a un parafilm (para cada muestra).
- Extraer el loading buffer 4 µl y juntarlo con la muestra de ADN.
- Extraer 1 µl de marcador y cargarlos en los pocillos extremos de la cama de electroforesis.
- Cargar las muestras que están en el parafilm (ADN y loadin buffer 9 µl), a los pocillos de la cama de electroforesis con una micropipeta de rango variable de 0,5-10 µl cuidadosamente.
- Una vez cargada las muestras de ADN se le somete a través de una fuente poder a 80 V por un tiempo de 45 minutos.

  Transcurridos los 45 minutos observamos las muestras de ADN mediante un fotodocumentador, con la ayuda de una laptop conectada a este servidor, mediante el programa SMARTVIEW PRO 2100, donde se fotografiaron bajo

luz UV. Para luego ser enviadas estas muestras de ADN al extranjero a Fisabio, Valencia, España.

Ilustración 11. Muestras de ADN cargando en las camas de electroforesis.

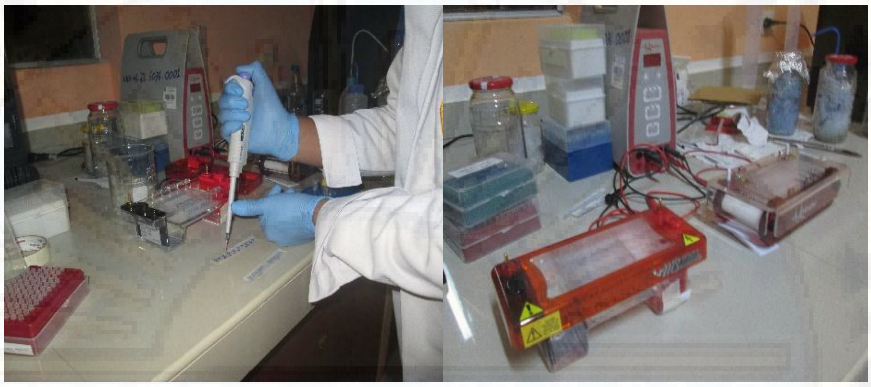


Ilustración 12. Muestras de ADN de suelos visualizadas en el fotocumentador con luz UV.

3.5.5. Tamizado de muestras de suelo no rizosférico

Tres días posteriores a la recolección de las muestras se tamizaron los suelos no rizosféricos del cultivo de quinua a través de una malla de 4 mm para eliminar las piedras, etc y algunos residuos de la planta. Una vez concluida se almacenaron las muestras debidamente codificadas en criotubos con una aproximación de 200 mg se suelo, en una congeladora de -40 °C, para luego extraer el ADN genómico.

3.5.6. Obtención de ADN genómico de suelo rizosférico

Para la obtención de ADN genómico se utilizó el producto PowerSoil® DNA Isolation Kit Mo Bio, siguiendo el protocolo establecido por la fábrica.

Protocolo de extracción de ADN genómico

a) Pesar 0.25 g de suelo y adicionar la muestra al microtubo de 2 ml.
b) Mezclar la muestra con ligero vortex y adicionar la solución C_1, 60 µl (si este precipitado es de color blanco lechoso, calentar a 60 °C hasta disolver).
c) Invertir manualmente varias veces los microtubos para mezclar.
d) Utilizar el homogenizador por 90 segundos a 1600 rpm.
e) Centrifugar en una microfuga a 12200 rpm por 30 segundos (no exceder los 10000xg los tubos se pueden romper).
f) Retirar el sobrenadante a un nuevo tubo de 2 ml aproxim. de 400 a 500 µl.
g) Adicionar la solución C_2, 250 µl y dar vortex por 5 segundos.
h) Incubar a 4 °C por 5 minutos.
i) Centrifugar a 12200 rpm por 1 minuto.
j) Retirar el sobrenadante, aproxm. 600 µl a un nuevo tubo de 2 ml.
k) Adicionar la solución C_3, de 200 µl y dar vortex ligero.
l) Incubar a 4 °C por 5 minutos.
m) Centrifugar a 12200 rpm por 1 minuto.
n) Retirar el sobrenadante hasta 750 µl a un nuevo microtubo de 2 ml.
o) Adicionar solución C_4 (mezclar bien antes de utilizar), 1200 µl y dar vortex por 5 segundos.
p) Cargar dentro del SPIN FILTER aproximadamente 650 µl.
q) Centrifugar a 12200 rpm por 1 minuto, volver a cargar 650 µl, centrifugar y cargar otra vez; realizar solo 3 cargadas y desechar el eluido.
r) Lavar con la solución C_5, adicionar 500 µl, al SPIN FILTER.
s) Centrifugar a 12200 rpm por 30 segundos. Desechar el eluido.
t) Volver a centrifugar a 12200 rpm por 1 minuto.
u) Retirar el filtro y colocar en un nuevo tubo eppendorf.
v) Adicionar 50 µl de agua MLQ estéril a la membrana.
w) La membrana se debe rehidratar por más de un minuto.
x) Centrifugar a 12200 rpm por 30 segundos.
y) El ADN está listo en el eluido.
z) Almacenar el ADN a -20 °C hasta usarse.

Ilustración 13. Muestras de ADN refrigeradas.

3.5.7. Preparado de geles de agarosa para la comprobación de ADN de las muestras de suelo no rizosférico

Es necesario comprobar la presencia y la calidad de ADN extraído mediante la técnica de electroforesis, antes de ello se realizó el preparado de los geles de agarosa donde se pondrán las muestras de ADN.

Protocolo para preparar tampón buffer para electroforesis de ADN.

- Tenemos el tampón TBE 10x(0,5x), para saber las cantidades a emplear realizamos la siguiente ecuación de cálculo de dilución en una concentración que está planteada por la siguiente formula.

  C1.V1= C2.V2

  10x . V1=0,5x . 500 ml

  $$V1=\frac{0,5x\ .500\ ml}{10x} = 25 \text{ ml}$$

  C1: concentración inicial
  C2: concentración final
  V1: volumen inicial
  V2: volumen final

- Para preparar 500 ml de tampón buffer necesitamos 25 ml de tampón TBE 10x (0,5x) y 475 ml de agua ultra pura. (los 475 ml de agua ultra pura se complementan con los 25 ml de tampón TBE 10x lo que corresponde a 500 ml de solución).
- Durante este proceso se debe trabajar cuidadosamente en el cuarto oscuro con los materiales del mismo ambiente y con la indumentaria de protección adecuada (guardapolvo, guantes, mascarilla y cofia).

Protocolo para el preparado de geles de agarosa al 1%

- Preparar la cama de electroforesis con cinta maskin para evitar derrames de la solución.
- Pesar 0,6 g de agarosa y echar en un frasco de 250 ml de tapa color azul con rosca.
- Medir 40 ml de tampón TBE en una probeta de 100 ml que está en el ambiente oscuro.
- Una vez medida los 40 ml de tampón TBE adicionar al frasco con los 0,6 g de agarosa, tapar y diluir bien.
- Llevar la solución al microondas por un tiempo de 120 segundos para disolver la agarosa, en caso que no se disolviera bien la agarosa, aumentar por un tiempo de 20 segundos en el microondas, hasta que la solución se muestre claro sin grumos.
- Una vez retirada la solución del microondas echar en la cama de electroforesis. Para ello la cama de electroforesis debe estar bien forrada con cinta maskin.
- Colocar los peines en la cama y dejar que solidifique por un tiempo de 20 minutos.

Preparado de marcador de DNA 300 µl.

DNA marcador 1 ul x 50= 50 µl
Loading dye 6x 1 ul x 50= 50 µl
Agua ultra pura 4 ul x 50= 200 µl
300 µl

Preparado de GelRed para 1ml

GelRed (1000x) 3 µl
Loading buffer 997 µl
1000 ml.

3.5.8. Comprobación de las muestras de ADN de suelo no rizosférico

Para comprobar la presencia y calidad del ADN después de su extracción y purificación, se tomó 5 µl de muestra de ADN, 4 µl de loading buffer y 1 µl de marcador o tampón de carga, está mezcla se empleó para cargar en los geles de agarosa al 1% preparados en solución tampón TBE. La electroforesis se realizó empleando una corriente continua de 80 V. Los geles se tiñeron con una solución

de bromuro de etidio (0.5 µg/ml) y se fotografiaron bajo luz UV. Como marcador de tamaño molecular se utilizó el denominado Molecular DNA Marker. En los geles debe comprobarse una banda superior a 20 kpb, a veces se nota presencia ADN degradado con valores inferiores.

Tabla 2. Mezcla de reacción para electroforesis de ADN

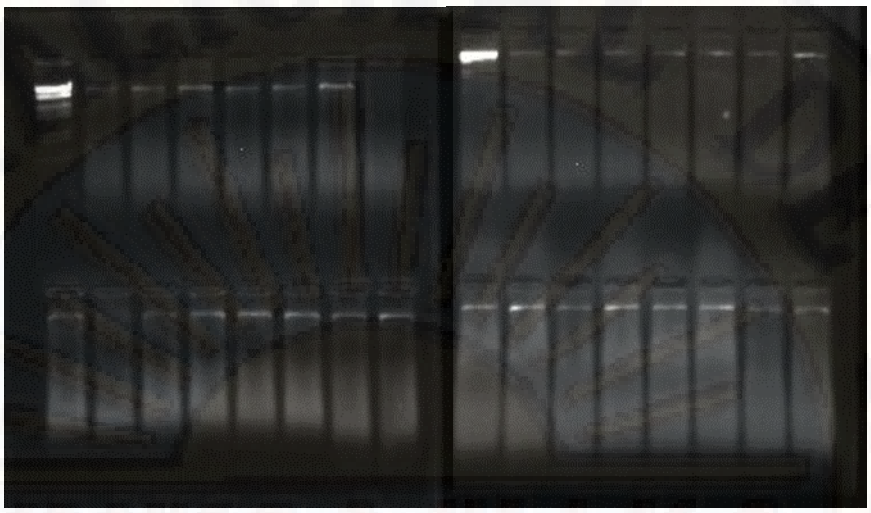
productos	**Cantidad (µl)**
Marcador DNA	1 µl
Loading buffer	4 µl
ADN	5 µl
total	**10 µl**

Protocolo para cargar las muestras ADN en gel de agarosa

- Retiramos las cintas maskin de las camas de electroforesis.
- Poner la cama con gel en la cubeta de electroforesis con tampón TBE 10x.
- Retirar los peines de la cama de electroforesis cuidadosamente sin dañar el gel.
- Centrifugar con un mini spin el marcador y loading buffer para poder juntar y deshielar.
- Extraer 5 µl de ADN a un parafilm (para cada muestra).
- Extraer el loading buffer 4 µl y juntarlo con la muestra de ADN.
- Extraer 1 µl de marcador y cargarlos en los pocillos extremos de la cama de electroforesis.
- Cargar las muestras que están en el parafilm (ADN y loadin buffer 9 µl), a los pocillos de la cama de electroforesis con una micropipeta de rango variable de 0,5-10 µl cuidadosamente.
- Una vez cargada las muestras de ADN se le somete a través de una fuente poder a 80 V por un tiempo de 45 minutos.

  Transcurridos los 45 minutos observamos las muestras de ADN mediante un fotodocumentador, con la ayuda de una laptop conectada a este servidor, mediante el programa SMARTVIEW PRO 2100, donde se fotografiaron bajo luz UV. Para luego ser enviadas estas muestras de ADN al extranjero a Fisabio, Valencia, España.

Ilustración 14. Muestras de suelo no rizosférico visualizadas en luz UV.



3.5.9. Procesamiento de datos a través de paquetes bioinformáticos.

Los datos se obtuvieron después de haber enviado las muestras de ADN de los suelos a Fisabio – Valencia – España, donde se secuenciaron las muestras mediante el método de Illumina Miseq.

3.6. Técnicas y procesamiento de análisis de datos

Las secuencias procedentes después de la secuenciación mediante la metodología IlluminaMiseq se procesaron empleando el programa SEED 2.1 y la plataforma del programa Ribosomal Database Proyect RDP 11, dende las secuencias cualificamos, analizamos empleando las herramientas disponibles en el RDP 11. "*Aligner*" que nos permite el alineamiento de las secuencias y "*Complete linkage clustering*" las agrupaciones en Unidades Taxonómicas Operativas (OTUs). En este trabajo las secuencias se agruparon (*clustering*) al 97% de similitud. La clasificación taxonómica de las secuencias se llevó a cabo con la herramienta *"Classifier*" utilizando un umbral de confianza del 80. Los índices de diversidad y las curvas de rarefacción se calcularon en el program SEED 2.1para luego ser mostrada los datos en el programa Excel, en cuento a los índices de diversidad se calculó de acuerdo a Chao1 y Shannon, Simpson y Jackniffe con el programa SEED2.1 Y RDP 11.

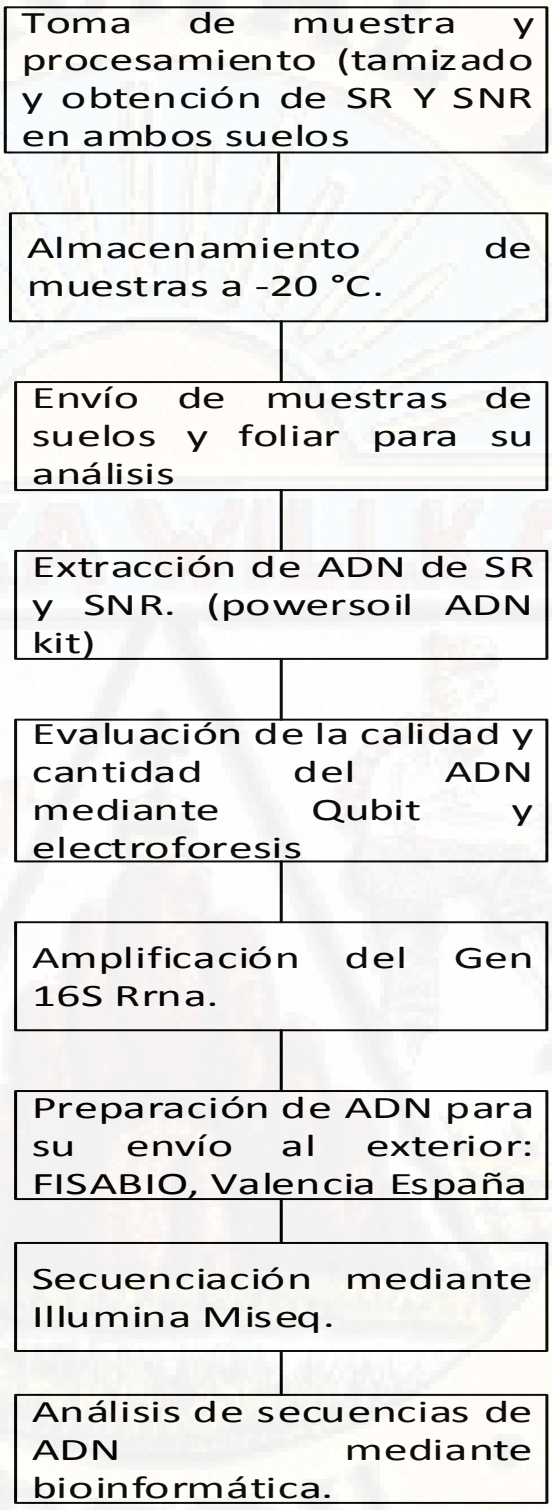
3.6.1. Materiales, reactivos y equipos utilizados

Materiales	Reactivos	Equipos
Pico	Solución C_1	Balanza de precisión
Bolsa	Solución C_2	Agitador vortex
Malla	Solución C_3	Disruptor
Tubos falcon	Solución C_4	Mini centrífuga
Espátula	Solución C_5	Baño maría
Roltulador	Alcohol	Micropipetas
Tips de 100 a 1000ul	Tampón TBE 10X	Congeladora de -20 C°
Tips de 0 a 200ul	Agarosa	Fotodocumentador
Tips de 0.5 a 10ul	Agua ultra pura	Laptot
Tips de 0.1 a 10ul	DNA marcador	Cámara de electroforesis
Microtubo de 2 ml	Loading dye 6x	Fuente poder
Heppendorf de 1.5 ml	GelRed	
Heppendorf de 2 ml	Loading buffer	
Spin filter de 2 ml		
Guantes de nitrilo		
Mascarilla		
Algodón		
Para film		
Probeta de 100 ml		
Frasca de borosilicato de 250 ml		
Racks		

Tabla 3. Nomenclatura de las muestras de suelo rizosférico y no rizosférico

Tipo de suelo	cultivo	Tipo de suelo	nomenclatura
Suelo de alta fertilidad	Quinua cultivada en suelo fértil	Suelo rizosférico fértil	Q-SRF
		Suelo no rizosférico fértil	Q-SNRF
Suelo degradado	Quinua cultivada en suelo degradado	Suelo rizosférico degradado	Q-SRD
		Suelo no rizosférico degradado	Q-SNRD

Ilustración 15. Diagrama de flujo de actividades de investigación



3.6.2. Unión de secuencias

Los datos obtenidos a través de la metodología empleada en España llegaron en formatos fasq y separados los furbak y reverso de los nucleótidos de cada muestra de suelo rizosférico y no rizosférico. La unión de estos nucleótidos se llevó acabo con el programa SEED 2.1

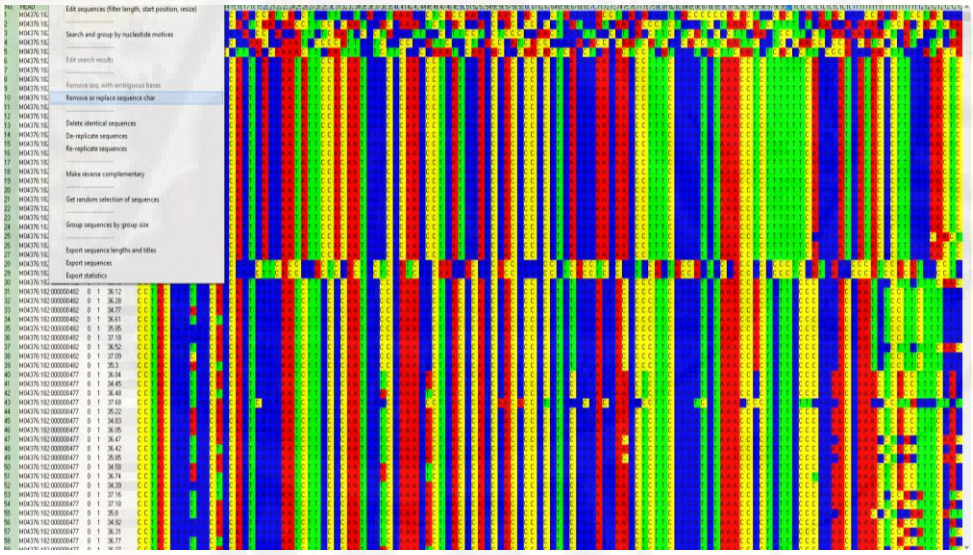
Tabla 4. Secuencias unidas de la muestra número suelo rizosférico.

secuencias unidas muestra N° 1
CCTACGGGTGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCC TGAT
CCTACGGGTGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCC TGAT
CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGCACAATGGGCGCAAGCC TGAT
CCTACGGGAGGCAGCAGTGGGGAATATTGGACAATGGGCGAAAGCC TGAT

3.6.3. Remover secuencias ambiguas de la base

En la plataforma de datos del programa SEED 2.1 en la barra de opciones secuences encontramos la remoción de secuencias ambiguas para realizar una de las limpiezas de aquellas secuencias o bases de nucleótidos que no hayan completado correctamente su calidad.

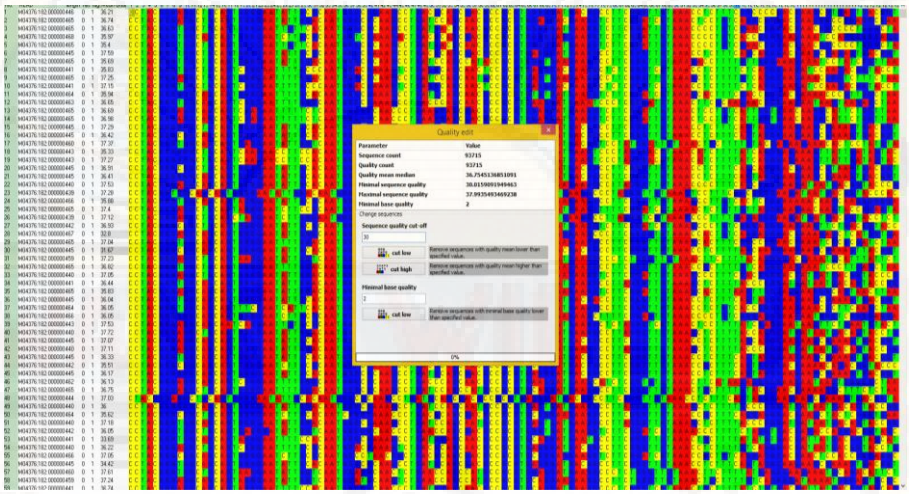
Ilustración 16. Remoción de secuencias ambiguous muestra de suelo número RF 16S.



3.6.4. Edición de la calidad de ADN

La plataforma de datos del programa SEED2.1 tiene una de las opciones para editar la calidad del ADN como mínimo de 30 donde resalta en el programa fastq que está delimitando los valores de la calidad de ADN.

Ilustración 17. Editado la calidad de ADN de la muestra de suelo NRF.



3.6.5. Editar longitud de secuencias

Para poder determinar la longitud de secuencias cada muestra fue visualizada en el programa fastq donde muestra los parámetros de longitud de cada secuencia indicada en Pb a partir de 400 Pb definidas para 16S.

Ilustración 18. Programa SEED para editar la longitud de secuencias.

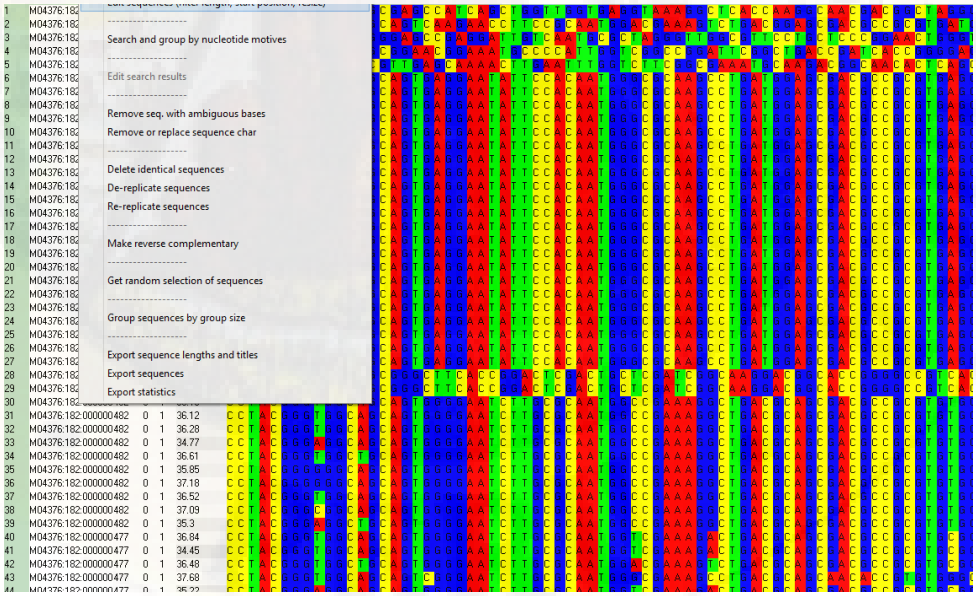
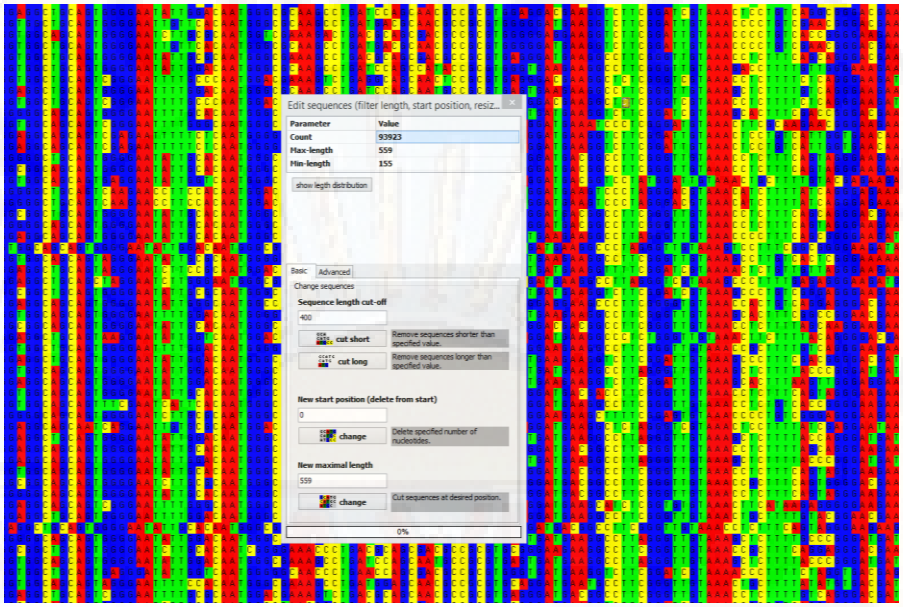


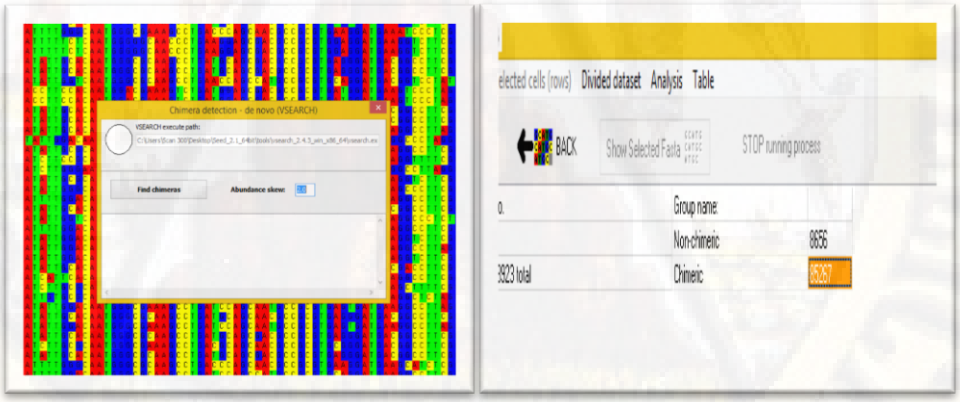
Ilustración 19. Editado la longitud de secuencia muestra SRD.



3.6.6. Limpieza de Chimeras de novo VESEARCH

La limpieza de chimeras se realizó para limpiar aquellas secuencias que tienen impurezas y así obtener buenos resultados en el momento de la clasificación de secuencias.

Ilustración 20. Limpieza de quimeras muestra SNRF.



3.6.7. Clasificación de secuencias

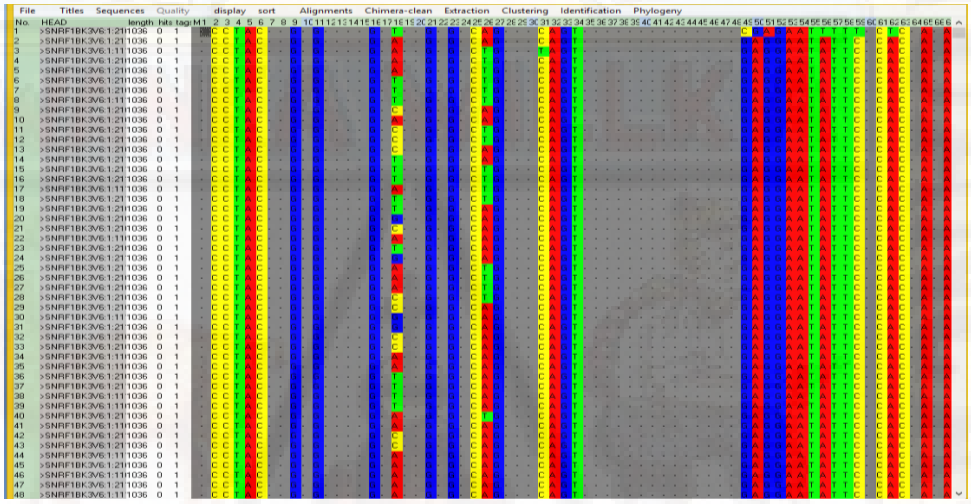
Las secuencias de muestras de suelo se clasificaron con la plataforma de datos del RDP 11 conectado a internet por un tiempo de una hora y media donde clasifica e identifica el género, familia, clase, phylum, orden y los unclasfy, para esta operación se mamdó a clasificar 67235 secuencias normalizadas por cada suelo,

finalizado la clasificación, ordenamos los resultados en el programa Excel los ordenes taxonómicos de cada suelo.

3.6.8. Alineamiento de secuencias

Los alineamientos para los suelos rizosféricos y no rizosféricos se realizaron en la plataforma de datos del RDP 11 con el comando "*Aligner*" donde se suben las muestras normalizadas a 67235 secuencias en formato fast, el tiempo en realizar fue de 12 horas que los resultados se mostraban en tu correo electrónico en Yahoo! Que solo dispone está plataforma de datos registrados.

Ilustración 21. Alineamiento muestra SNRD.



CAPITULO IV

PRESENTACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Analisis de información

4.1.1. Propiedades fisicoquímicas de los suelos de alta fertilidad del Distrito de Huando

Los suelos de la chacra del Distrito de Huando se interpretaron de acuerdo a Guerrero 1998, donde tienden a clasificarse con valores altos en Ph, en cuanto a sales no hay problemas, contenido alto en calcio, contenido de carbonatos media, bajo contenido de P en las muestras de suelo F2, F3, los valores mas altos de P encontramos en los suelos F 1, F 2, F 3, bajo contenido de M.O. Según los porcentajes de clasificación de arena, limo y arcilla está dentro de la clase textural franco arcilloso.

Tabla 5. Analis de suelos de alta fertilidad.

Número de Muestra			C.E.					Análisis Mecánico			Clase	CIC	Cationes Cambiables					Suma	Suma	%
Lab	Claves	pH	(1:1)	$CaCO_3$	M.O.	P	K	Arena	Limo	Arcilla	Textural		Ca^{+2}	Mg^{+}_{2}	K^{+}	Na^{+}	$Al^{+3} + H^{+}$	de	de	Sat. De
		(1:1)	dS/m	%	%	ppm	ppm	%	%	%		meq/100g						Cationes	Bases	Bases
3947	F1	8.16	0.19	10.10	2.07	8.0	439	40	27	33	Fr.Ar.	27.20	23.92	1.88	1.23	0.17	0.00	27.20	27.20	100
3948	F2	8.13	0.21	10.20	1.98	8.8	390	36	27	37	Fr.Ar.	31.20	28.08	1.97	0.94	0.21	0.00	31.20	31.20	100
3949	F3	8.21	0.16	10.30	1.58	8.8	371	38	27	35	Fr.Ar.	27.84	25.05	1.78	0.78	0.23	0.00	27.84	27.84	100

4.1.2. Propiedades fisicoquímicas de los suelos degradado del Distrito de Huando

La interpretación de acuerdo a Guerrero 1998 analizados en el laboratorio de la UNALM, Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes que los suelos de la chacra del Distrito de Huando tienden a clasificarse con valores altos en PH, sim problemas de sales, alto contenido de calcio, adecuado contenido de carbonatos, muy bajo contenido de P en las muestras de suelo D2, D3, contenido optimo de P en las muestras de suelo D1 y bajo contenido de M.O. Según los porcentajes de clasificación de arena, limo y arcilla está dentro de la clase textural franco arcilloso.

Tabla 6. Análisis de muestras de suelo degradado

Número de Muestra			C.E.					Análisis Mecánico			Clase	CIC	Cationes Cambiables					Suma	Suma	%
Lab	Claves	pH	(1:1)	$CaCO_3$	M.O.	P	K	Arena	Limo	Arcilla	Textural		Ca^{+2}	Mg^{+}_{2}	K^{+}	Na^{+}	$Al^{+3} + H^{+}$	de	de	Sat. De
		(1:1)	dS/m	%	%	ppm	ppm	%	%	%		meq/100g						Cationes	Bases	Bases
3938	D1	7.80	0.57	14.30	1.08	33.4	148	42	31	27	Fr.Ar.	21.44	18.88	1.92	0.30	0.34	0.00	21.44	21.44	100
3939	D2	8.13	0.16	14.30	0.63	4.7	190	42	31	27	Fr.Ar.	21.60	19.09	1.82	0.47	0.23	0.00	21.60	21.60	100
3940	D3	8.27	0.12	16.80	0.17	3.4	165	38	35	27	Fr.Ar.	22.08	18.21	3.40	0.32	0.15	0.00	22.08	22.08	100

4.1.3. Análisis foliar de la quinua (*chenopodium quinoa* Willd) de las parcelas del suelo de alta fertilidad.

El análisis foliar de la quinua fue realizado en los laboratorios de la UNALM Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes, se analizaron el contenido de macro y micronutrientes de las hojas de la quinua.

Tabla 7. Análisis foliar de hojas de quinua de los suelos de alta fertilidad.

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	N %	P %	K %	Ca %	Mg %	S %	Na %	Zn ppm	Cu ppm	Mn ppm	Fe ppm	B ppm	M.S. %
3673	F1	3.40	0.31	3.75	2.09	0.70	0.36	0.02	48	5	244	109	40	21.89
3674	F2	3.90	0.33	4.15	2.48	0.89	0.32	0.02	49	5	235	117	50	20.90
3675	F3	3.40	0.27	3.80	2.17	0.71	0.30	0.03	37	5	239	87	35	22.48

4.1.4. Análisis foliar de la quinua (*chenopodium quinoa* Willd) de las parcelas del suelo degradado.

El análisis foliar de la quinua fue realizado en los laboratorios de la UNALM Análisis de Suelos, Plantas, Aguas y Fertilizantes, se analizaron el contenido de macro y micronutrientes de las hojas de la quinua.

Tabla 8. Análisis foliar de hojas de quinua del suelo degradado

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	N %	P %	K %	Ca %	Mg %	S %	Na %	Zn ppm	Cu ppm	Mn ppm	Fe ppm	B ppm	M.S. %
3664	D1	3.10	0.27	4.05	2.97	1.03	0.30	0.03	48	4	208	85	36	22.10
3665	D2	4.40	0.29	5.15	2.66	0.87	0.22	0.02	45	6	132	113	30	20.70
3666	D3	3.60	0.24	4.20	3.69	0.96	0.20	0.03	36	5	167	91	32	21.82

4.1.5. Biodiversidad de los suelos de alta fertilidad y suelo degradado procedentes de la secuenciación IlluminaMiseq

El ADN de los suelos de la rizosféra y suelo no rizosférico del cultivo de quinua se amplificó utilizando el método de IlluminaMiseq, los resultados obtenidos con mayor número de secuencias fue el suelo Q-SRF con 262771 secuencias del suelo de alta fertilidad, el valor más bajo se obtuvo en el suelo Q-SNRF con 201873 secuencias. Para el suelo degradado con mayor número de secuencias fue el suelo Q-SRD con 216782 secuencias y el menor número fue Q-SNRD con 205167 secuencias. Para poder llegar a este número de secuencias para ambos suelos se tubo que unir las bub muestras por quienes estaba constituidos, sumar y promediar de acuerdo a la escasa calidad de secuencias, aquellas que no se pueden leer y las de tamaño inferior a 400 pb, finalmente, el número de secuencias se normalizó después de haberse promediado a 67235, que fue el valor mínimo obtenido correspondiente a la muestra Q-SNRF. El resultado obtenido después del procesamiento de datos encontramos que en el SR del SF se agruparon en 24 phyla con 60106 secuencias y 26 phyla con 47716 secuencias en SNR; en cambio en SD fue de 21 phyla con 61025 secuencias en SR y 22 phyla con 57105 secuencias en SNR. Se halló en SF 5356 unidades taxonómicas operativas (Otus) en SR y 6809 Otus en SNR. En SD se halló 5017 Otus en SR y 5571 Otus en el SNR.

Tabla 9. Número de secuencias totales de las muestras de suelo y su proceso después de la pirosecuenciación hasta obtener secuencias normalizadas.

SUELO DE ALTA FERTILIDAD										
Tipo de suelo	**N° secuencia inicial**	**sec. Removidas ambig.**	**sec. Eleimin. (30)**	**cortar sec. (400)**		**chimera**	**L.quimera**	**sumatoria**	**promedio**	**sec. Normalizada**
Q-SRF	93923	93898	93715	93678	93678	6909	82477	262771	87590.3333	67235
	66944	66929	66823	66799	66799	4330	60021			
	136802	136767	136501	136406	136406	9835	120273			
Q-SNRF	82716	82692	82544	82472	82472	7655	70763	201873	67291	67235
	74854	74837	74685	74625	74625	6812	64049			
	77587	77573	77423	77355	77355	6810	67061			
SUELO DEGRADADO										
Q-SRD	82183	82168	82036	81988	81988	5604	72504	216782	72260.6667	67235
	72738	72730	72604	72542	72542	4562	64702			
	89134	89116	88970	88889	88889	5574	79576			
Q-SNRD	69663	69650	69528	69490	69490	4471	61844	205167	68389	67235
	69057	69045	68934	68880	68880	4011	61722			
	92676	92658	92510	92439	92439	6617	81601			

Para cada una de las muestras de suelo, el tamaño de las secuencias varió de 430 a 470 pb, de esta manera se realizó el presesamiento de los resultados hasta obtener secuencias normalizadas libre de secuencias que no se correlacionaban con los demás a ello se les llama Chimera, para poder conseguir la clasificación de las secuencias se usó el programa RDP 11. A continuación se muestra como un ejemplo de la muestra 1 SRF.

Ilustración 22. Tamaño medio de las secuencias inicialmente obtenidas mediante secuenciación Illumina Miseq.

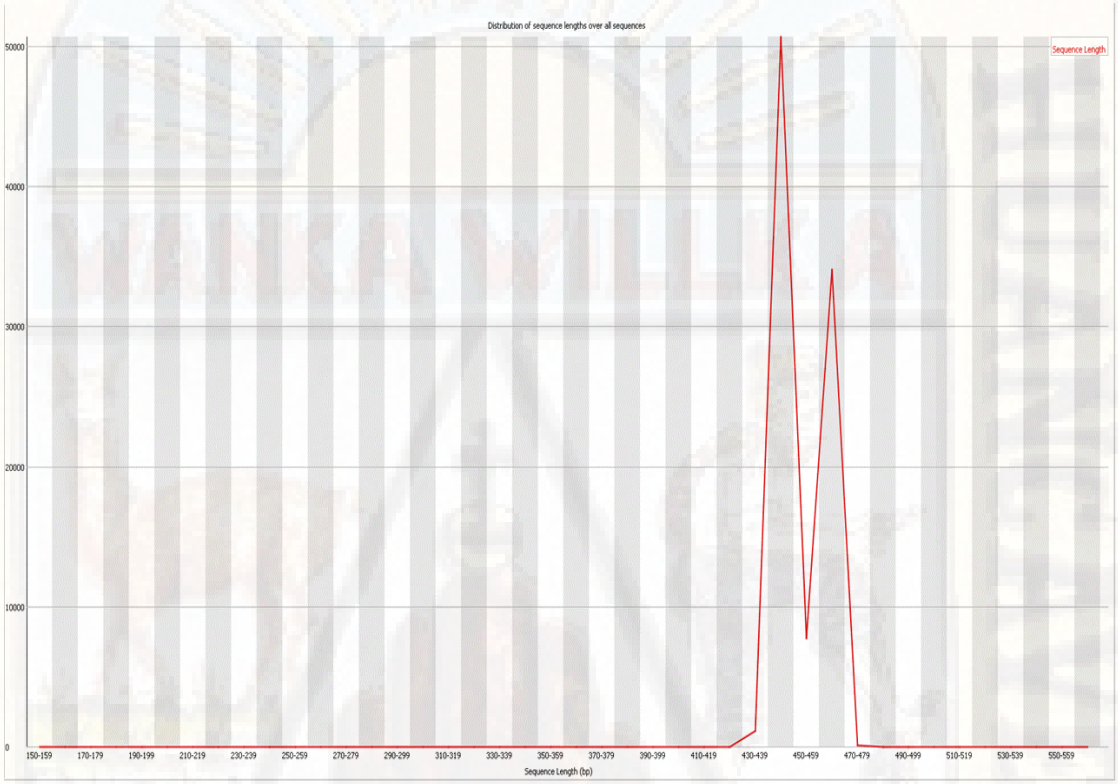
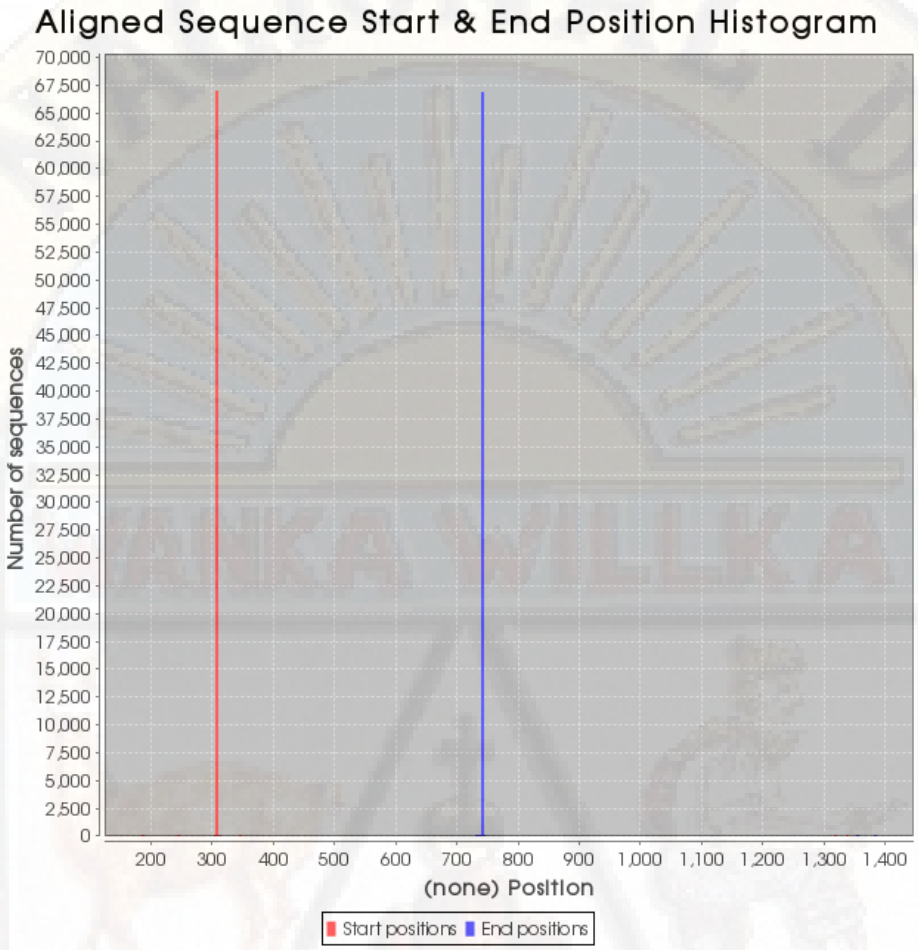
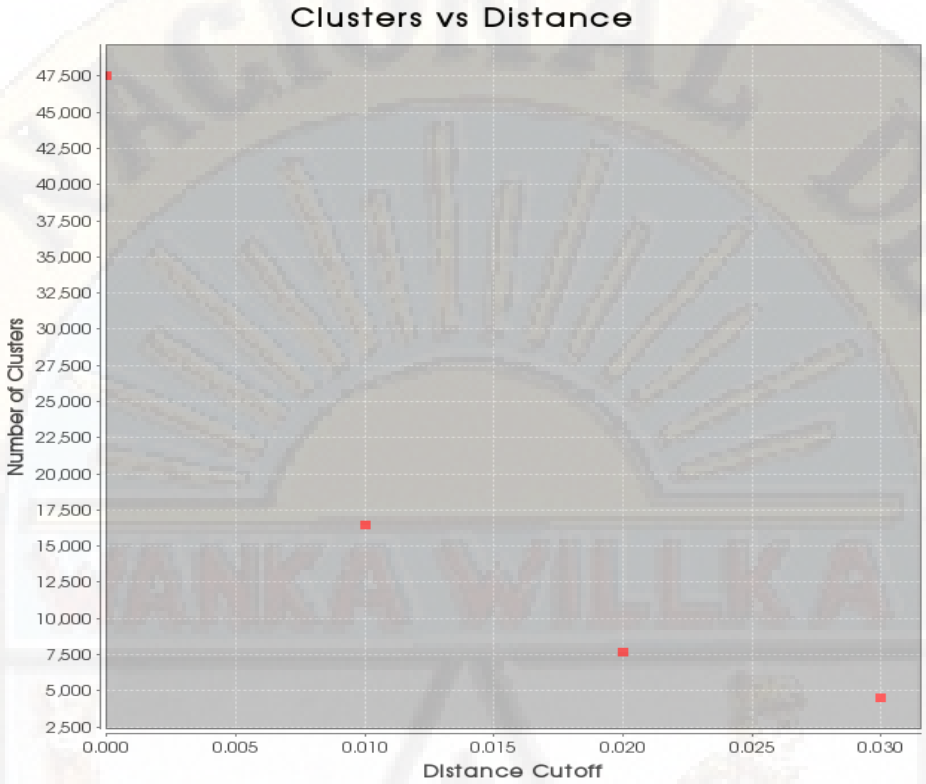


Ilustración 23. Alineamiento de secuencias de la posición inicial y final del gen 16S rRna obtenidas a través de la plataforma de datos del RDP 11 "Aligner".



Una vez alineadas las secuencias, se agruparon con el comando "*clustering*" para poder ver el número de OTUs como se presenta a continuación un ejemplo claro del agrupamiento de las secuencias de los suelos rizosféricos de alta fertilidad.

Ilustración 24. Numero de OTUs de la muestra SRF, donde nos muestra los valores en porcentajes de similitud al 97%, 98%, 99% y 100%.



El número de OTUs que se determinaron en los suelos son diferentes con valores que oscilaron de 5017 para la muestra SRD a 6809 para la muestra SNRF.

Tabla 10. Número de OTUs mostrando diferencias significativas.

	Suelo de alta fertilidad		Suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
OTUS	5356	6809	5017	5531

Tabla 11. Número de las secuencias de las muestras de suelo de alta fertilidad y suelo degradado, donde se incluyen los dominios bacteria y archea.

	Suelo de alta fertilidad		Suelo degradado	
Dominio	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Bacteria	67203	67208	67201	67150
Archea	5	26	10	3
Sin clasificar	27	1	24	82
Total	67235	67235	67235	67235
* significativamente diferente a 0.01				

Tabla 12. Clasificación de las secuencias de suelo de alta fertilidad donde se indica la categoría taxonómica y el número de secuencias.

	Suelo de alta fertilidad				Suelo degradado			
	SRF		SNRF		SRD		SNRD	
Taxon	**Nª**	**secuencia**	**Nª**	**secuencia**	**Nª**	**secuencia**	**Nª**	**secuencia**
Phylum	24	60106	26	47716	21	61025	22	57105
Clase	47	55649	42	36846	43	57080	49	49683
Orden	62	47092	35	29080	60	49667	61	37040
Familia	134	42729	81	26097	135	45544	143	30796
gènero	312	32189	208	27990	313	31447	321	30823
OTUS	5356	67235	6809	67235	5017	67235	5531	67235

Tabla 13. Las categorías taxonómicas de las muestras de suelo se agruparon en 31 phylas, 59 clases, 81 órdenes, 187 familias y 447 géneros identificados, y su número de secuencias, de los suelos de alta fertilidad y degradado.

Género	**SRF**	**SNRF**	**SRD**	**SNRD**
Achromobacter	8	0	9	1
Aciditerrimonas	1	136	5	8
Acidovorax	30	0	88	22
Acinetobacter	77	10	35	96
Acrocarpospora	0	3	0	0
Actinoallomurus	1	0	0	0
Actinocorallia	4	6	7	8
Actinokineospora	0	0	0	1
Actinomadura	1	4	1	6
Actinomyces	0	0	0	8
Actinomycetospora	5	14	6	11
Actinophytocola	9	23	10	36
Actinoplanes	38	14	57	6
Actinotalea	0	1	5	0
Adhaeribacter	699	375	402	352
Advenella	0	0	0	12
Aeribacillus	1	0	0	0
Aerococcus	0	0	0	1
Aeromicrobium	338	354	534	305
Aeromonas	4	0	0	3
Afifella	5	0	1	1
Aggregicoccus	1	0	0	0
Agrococcus	7	1	27	1
Agromyces	317	253	156	158

Algoriphagus	42	0	39	1
Alishewanella	1	0	0	0
Alistipes	0	0	0	1
Allocatelliglobosispora	0	1	0	0
Allokutzneria	0	0	0	1
Altererythrobacter	4	0	2	1
Alteribacillus	0	1	0	0
Alterococcus	4	4	1	0
Amaricoccus	3	0	4	2
Aminobacter	1	0	3	1
Ammoniibacillus	0	0	0	1
Amphibacillus	0	0	1	1
Amycolatopsis	2	5	0	0
Anaerococcus	1	0	0	1
Anaeromyxobacter	5	0	6	5
Anaerosalibacter	0	1	0	0
Ancylobacter	1	0	1	0
Angustibacter	0	0	1	0
Anoxybacillus	0	0	0	1
Aquabacterium	3	0	16	1
Aquicella	3	0	3	13
Aquihabitans	24	50	70	43
Aquipuribacter	5	0	10	0
Aquisphaera	1	25	0	2
Arcicella	0	1	0	0
Arenimonas	185	0	264	80
Aridibacter	253	391	123	60
Armatimonadetes_gp	51	85	41	36
Armatimonas/Armatimonadetes_gp	75	31	24	21
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Asanoa	1	5	3	16
Asticcacaulis	5	0	11	0
Atopobium	0	0	0	1
Aureimonas	5	0	10	0
Aureispira	2	0	0	0
Azoarcus	0	0	1	0
Azospirillum	0	0	0	1
Azotobacter	0	0	0	4
Bacillariophyta	38	7	5	0
Bacillus	79	524	42	131
Bacteriovorax	5	0	9	0

Bacteroides	0	0	0	1
Bauldia	0	0	0	1
Bdellovibrio	13	0	21	8
Beijerinckia	0	0	1	2
Belnapia	2	0	1	0
Blastocatella	7	45	1	0
Blastococcus	414	355	575	780
Blastopirellula	0	1	0	0
Blautia	0	0	0	1
Bosea	18	0	52	10
Brachybacterium	2	0	0	1
Bradyrhizobium	23	0	27	28
BRC_genera_incertae_sedis	8	10	5	4
Brevibacillus	2	3	0	1
Brevibacterium	0	0	0	1
Brevifollis	8	0	22	0
Brevundimonas	116	0	219	13
Buchnera	0	0	2	0
Burkholderia	0	0	2	7
Buttiauxella	0	0	1	1
Caenimonas	0	0	4	0
Caldilinea	0	15	0	0
Campylobacter	0	0	0	1
Candidatus Hydrogenedens	0	1	2	0
Candidatus Koribacter	0	2	1	0
Candidatus Procabacter	1	0	0	1
Candidatus Solibacter	0	2	0	0
Capnocytophaga	0	0	0	1
Cardiobacterium	0	0	1	0
Carnobacterium	0	0	2	0
Caryophanon	0	1	0	0
Catellatospora	9	4	11	13
Catelliglobosispora	0	19	0	0
Catenuloplanes	6	0	2	0
Caulobacter	37	0	71	5
Celerinatantimonas	0	0	0	2
Cellulomonas	45	34	48	20
Cellulosilyticum	0	0	0	1
Cellvibrio	85	0	172	4
Chiayiivirga	1	0	1	0
Chitinophaga	4	2	5	11

Chlorophyta	14	25	5	13
Chondromyces	0	0	0	5
Chryseobacterium	357	21	51	2
Chryseolinea	55	122	30	29
Chthonomonas/Armatimonadetes_gp	47	114	26	102
Chungangia	0	1	0	0
Citricoccus	0	0	4	0
Clavibacter	3	0	0	0
Clostridium III	0	6	2	0
Clostridium sensu stricto	6	11	1	5
Clostridium XI	3	0	8	1
Cohnella	6	10	2	11
Comamonas	0	0	2	0
Compostibacillus	0	0	0	2
Conexibacter	85	264	147	171
Constrictibacter	0	0	7	0
Corynebacterium	2	0	0	24
Croceicoccus	0	0	1	0
Cryptosporangium	8	2	3	5
Cupriavidus	3	0	2	3
Curvibacter	1	0	0	0
Cystobacter	2	0	1	112
Cytophaga	3	0	1	1
Dactylosporangium	11	10	8	11
Dechloromonas	0	0	0	0
Deinococcus	14	5	11	4
Delftia	10	0	5	7
Demequina	1	1	0	0
Desulfitobacterium	1	0	0	0
Devosia	129	0	283	14
Dietzia	0	0	1	0
Domibacillus	7	12	1	0
Dongia	4	0	9	3
Duganella	130	0	81	0
Dyadobacter	124	16	204	4
Emticicia	16	0	2	0
Enhydrobacter	0	0	0	1
Enhygromyxa	0	0	0	1
Ensifer	1	0	0	4
Enterococcus	0	0	0	1
Epilithonimonas	2	0	1	0

Eremococcus	0	0	0	1
Euzebya	1	10	11	85
Exiguobacterium	30	0	118	0
Facklamia	0	0	9	0
Ferrovibrio	3	0	0	0
Ferruginibacter	30	30	35	2
Fictibacillus	3	2	0	0
Filifactor	0	0	0	1
Flaviflexus	0	0	0	1
Flavisolibacter	87	176	31	27
Flavitalea	33	32	25	13
Flavobacterium	712	20	960	7
Flindersiella	0	0	0	1
Fluviicola	11	0	63	2
Fonticella	0	1	0	0
Fontimonas	0	0	1	0
Frateuria	3	0	0	0
Fretibacterium	1	0	0	0
Friedmanniella	3	1	17	10
Fusobacterium	0	0	0	1
Gaiella	2262	5710	1823	6389
Gardnerella	0	0	0	1
Geminicoccus	142	0	90	124
Gemmata	60	350	47	86
Gemmatimonas	640	595	567	460
Gemmobacter	0	0	2	0
Geobacter	0	0	1	0
Geodermatophilus	90	64	168	225
Georgenia	2	4	1	0
Gimesia	0	12	0	2
Glycomyces	3	11	8	13
Gp	4433	2806	3337	7326
GpI	6	15	2	3
GpIV	0	0	3	0
Gracilibacillus	0	0	0	1
Gracilibacter	2	7	1	0
Granulicatella	0	0	4	3
Haemophilus	0	0	4	0
Haloarcula	0	0	3	0
Halocella	0	4	0	0
Halomonas	7	0	3	17

Herbaspirillum	1	0	0	0
Herbidospora	0	4	0	2
Herminiimonas	2	0	20	0
Herpetosiphon	82	19	76	11
Hydrogenispora	0	1	1	0
Hydrogenophaga	3	0	5	0
Hydrogenophilus	1	0	1	0
Hymenobacter	63	24	78	37
Hyphomicrobium	9	0	6	27
Iamia	11	19	26	6
Ignavibacterium	0	0	0	0
Ilumatobacter	579	1147	467	1080
Inquilinus	8	0	7	7
Intrasporangium	8	60	0	1
Janibacter	8	7	2	0
Janthinobacterium	2	0	0	0
Jeotgalicoccus	0	0	0	5
Jiangella	3	150	0	4
Kaistia	4	0	1	0
Kallotenue	12	149	17	4
Kibdelosporangium	1	7	2	0
Kineococcus	2	0	1	0
Kineosporia	3	2	9	5
Kocuria	1	0	1	9
Kofleria	10	0	7	41
Kribbella	184	157	159	115
Kroppenstedtia	0	0	0	0
Ktedonobacter	0	6	1	1
Kutzneria	0	2	0	0
Labilithrix	15	0	9	8
Labrys	14	0	21	38
Lacibacter	47	2	105	1
Lacibacterium	13	0	10	36
Lactobacillus	0	1	5	138
Lactococcus	0	0	0	10
Larkinella	7	0	3	0
Latescibacteria_genera_incertae_sedis	12	31	5	38
Lautropia	0	0	0	1
Lechevalieria	0	1	4	4
Legionella	21	0	24	16
Leifsonia	0	2	0	0

Lentibacillus	1	0	7	16
Lentzea	93	223	101	29
Leptonema	0	1	0	0
Leptotrichia	1	0	0	3
Leucobacter	9	0	2	0
Leuconostoc	0	0	0	10
Limnobacter	1	0	0	0
Limnohabitans	0	0	0	2
Litorilinea	46	155	38	18
Longispora	0	1	1	1
Luedemannella	0	2	0	0
Luteibacter	1	0	0	0
Luteimonas	2	0	2	1
Luteococcus	0	0	0	2
Luteolibacter	84	23	115	18
Lysinibacillus	15	13	4	25
Lysobacter	57	0	43	55
Marmoricola	63	128	80	65
Massilia	414	0	349	123
Megamonas	0	0	0	1
Meiothermus	1	0	1	4
Mesorhizobium	26	0	36	34
Methylobacterium	16	0	66	0
Methyloceanibacter	4	0	1	5
Methylophilus	20	0	23	0
Methylopila	1	0	0	0
Methylotenera	0	0	2	0
Microbacterium	186	52	242	19
Micrococcus	0	0	1	1
Microgenomates_genera_incertae_sedis	5	11	0	3
Microlunatus	204	311	142	306
Micromonospora	30	70	4	20
Microvirga	197	0	300	395
Modestobacter	0	3	9	11
Moheibacter	1	0	0	0
Motilibacter	1	0	1	1
Mucilaginibacter	39	0	6	0
Mycetocola	3	5	13	0
Mycobacterium	152	33	156	240
Myxococcus	1	0	6	25
Nannocystis	2	0	3	9

Neisseria	1	0	1	2
Neochlamydia	0	1	0	0
Neorhizobium	11	0	32	1
Nevskia	0	0	0	0
Niastella	14	33	11	4
Nibribacter	92	12	31	18
Nitrosomonas	0	0	3	0
Nitrososphaera	1	11	0	2
Nitrosospira	42	0	44	40
Nitrospira	74	175	59	85
Nocardia	7	20	29	20
Nocardioides	2902	2302	3411	1741
Nocardiopsis	0	0	0	1
Nonomuraea	1	6	1	5
Noviherbaspirillum	26	0	21	1
Novosphingobium	84	0	183	18
Oceanisphaera	0	0	1	0
Oceanobacillus	1	4	0	4
Ochrobactrum	3	0	2	0
Oerskovia	0	2	0	0
Ohtaekwangia	234	292	212	104
Oligoflexus	8	0	1	0
Olivibacter	1	10	1	1
Opitutus	468	168	351	100
Ornatilinea	0	1	0	0
Ornithinibacillus	0	0	0	1
Oscillochloris	10	5	4	2
Oxalicibacterium	3	0	5	0
Pacearchaeota Incertae Sedis AR	0	2	0	0
Paenibacillus	43	890	25	92
Paenisporosarcina	5	10	6	3
Panacagrimonas	1	0	6	5
Pantoea	8	0	2	0
Parablastomonas	2	0	2	0
Parachlamydia	1	3	0	1
Paracoccus	29	0	34	2
Parafilimonas	3	6	1	0
Parasegetibacter	22	52	28	3
Parcubacteria_genera_incertae_sedis	30	95	48	31
Parvimonas	0	0	0	4
Patulibacter	0	1	3	0

Pediococcus	1	0	1	1
Pedobacter	316	25	608	7
Pedomicrobium	23	0	9	55
Pelomonas	9	0	23	0
Pelosinus	0	1	2	4
Peptoniphilus	0	0	0	1
Peredibacter	16	0	35	27
Phaeodactylibacter	0	1	0	0
Phaselicystis	4	0	3	5
Phenylobacterium	89	0	95	51
Phycicoccus	20	11	26	4
Phycisphaera	0	1	0	0
Phyllobacterium	9	0	9	6
Phytohabitans	0	5	0	0
Pilimelia	1	0	3	1
Pirellula	64	412	54	167
Piscinibacter	1	0	3	1
Planctomicrobium	0	4	0	1
Planctopirus	3	9	0	0
Planifilum	1	1	1	16
Planococcaceae_incertae_sedis	1	1	6	4
Planococcus	1	0	1	0
Planomicrobium	140	57	53	5
Polyangium	9	0	8	14
Polynucleobacter	1	0	0	0
Pontibacter	75	51	14	8
Porphyrobacter	0	0	0	2
Porphyromonas	0	0	0	2
Povalibacter	8	0	10	17
Prevotella	0	0	0	2
Promicromonospora	63	37	103	28
Propionibacterium	2	1	3	18
Prosthecobacter	21	3	35	0
Pseudochrobactrum	0	0	1	0
Pseudomonas	1635	0	876	216
Pseudonocardia	179	222	98	291
Pseudorhodoferax	10	0	45	0
Pseudoxanthomonas	29	0	46	11
Psychrobacter	0	0	112	2
Ramlibacter	37	0	37	24
Rathayibacter	1	0	17	0

Reyranella	33	0	36	73
Rheinheimera	1	0	1	2
Rhizobacter	73	0	92	9
Rhizobium	65	0	210	44
Rhizocola	13	36	5	43
Rhodobacter	0	0	0	1
Rhodococcus	194	12	255	18
Rhodocytophaga	64	43	42	11
Rhodopirellula	1	0	1	3
Romboutsia	1	2	4	71
Roseimicrobium	12	7	19	1
Roseomonas	6	0	10	6
Rothia	2	0	1	2
Rubellimicrobium	148	0	286	33
Rubrivirga	0	3	0	0
Rubrobacter	961	1149	587	1228
Rufibacter	93	23	27	18
Saccharibacillus	4	0	1	0
Saccharibacteria_genera_incertae_sedis	726	377	579	154
Saccharomonospora	0	0	0	2
Saccharothrix	7	58	6	6
Salinicoccus	0	0	0	3
Sandaracinus	11	0	13	9
Sanguibacter	20	1	9	0
Schlesneria	0	0	1	0
Segetibacter	209	43	138	29
Shewanella	0	0	3	0
Shimazuella	3	3	1	2
Shinella	2	0	4	0
Simkania	0	1	0	0
Singulisphaera	5	37	6	7
Sinibacillus	0	0	0	1
Skermanella	383		369	360
Smaragdicoccus	1	0	5	0
Sneathia	0	0	0	1
Solirubrobacter	481	382	611	1501
Solitalea	3	12	0	0
Sorangium	0	0	0	1
Spartobacteria_genera_incertae_sedis	163	232	214	175
Sphaerisporangium	1	1	0	3
Sphaerobacter	0	6	0	0

Sphingobacterium	30	0	11	2
Sphingobium	19	0	18	2
Sphingomonas	1821	0	1409	1299
Sphingopyxis	20	0	70	1
Sphingorhabdus	1	0	0	0
Spirosoma	6	0	6	2
Sporacetigenium	1	3	0	4
Sporichthya	23	27	31	8
Sporobacter	0	1	0	0
Sporomusa	0	2	1	1
Sporosarcina	4	3	1	2
Stackebrandtia	0	1	0	0
Staphylococcus	3	4	2	40
Stenotrophomonas	43	0	75	15
Steroidobacter	34	0	40	77
Streptococcus	0	2	7	12
Streptomyces	25	238	76	94
Streptophyta	382	9	680	51
Streptosporangium	0	6	3	3
Subdivision_genera_incertae_sedis	355	972	222	312
Symbiobacterium	0	0	0	2
Tahibacter	27	0	55	0
Taibaiella	12	1	17	15
Tepidisphaera	16	17	23	1
Terrabacter	0	2	3	1
Terrimicrobium	3	67	0	4
Terrimonas	19	67	23	12
Terrisporobacter	0	1	0	0
Thermoactinomyces	1	1	3	5
Thermobifida	0	0	1	1
Thermocatellispora	0	1	0	0
Thermocrispum	0	0	0	1
Thermogutta	0	20	0	1
Thermoleophilum	0	99	0	0
Tissierella	1	0	1	4
Treponema	0	1	6	1
Turicibacter	0	0	1	14
Turneriella	1	5	1	2
Vagococcus	2	0	0	1
Variovorax	86	0	102	9
Vasilyevaea	2	0	3	3

Veillonella	0	0	0	2
Verrucomicrobium	20	2	21	3
Verrucosispora	0	0	0	1
Vibrio	0	0	0	3
Virgibacillus	0	0	1	3
Virgisporangium	37	65	20	50
Vogesella	0	0	0	1
Williamsia	3	0	8	1
WPS-_genera_incertae_sedis	424	1436	371	586
Xanthomonas	11	0	0	0
Xenophilus	2	0	1	0
Zavarzinella	35	111	16	41
Zhihengliuella	0	1	0	0
Total	**299**	**199**	**304**	**306**

- Suelo rizosférico fértil: se encontró 299 géneros.
- Suelo no rizosférico fértil: se encontró 199 géneros
- Suelo rizosférico degradado: se encontró 304 géneros
- Suelo no rizosférico degradado: se encontró 306 géneros

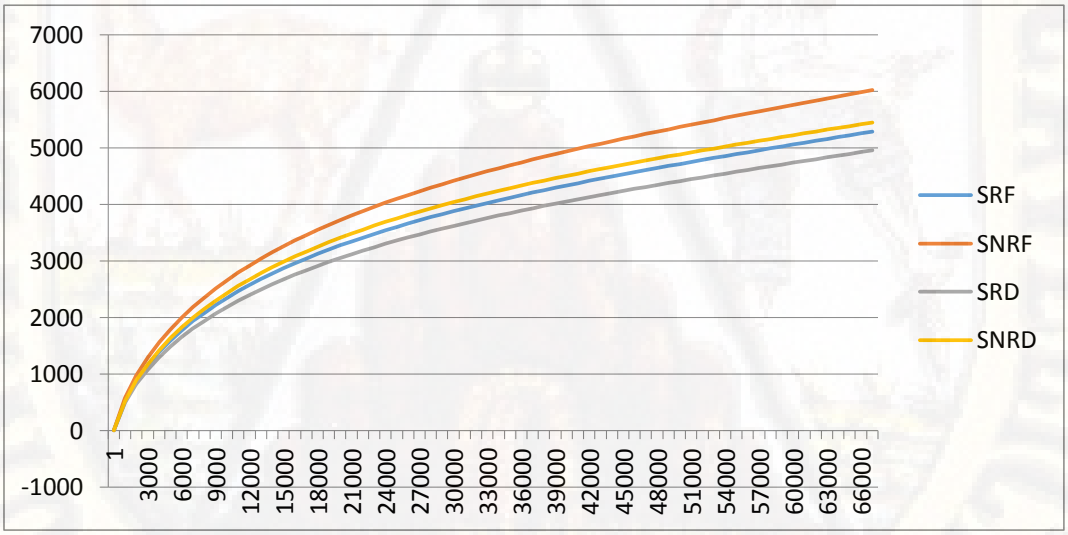
4.1.6. Diversidad bacteriana de las muestras de suelo de alta fertilidad

La biodiversidad alpha bacteriana de las diferentes muestras de suelo se estimaron calculando los índices de Shannon, Chao1, Simpson, Evenness y Species R. atravez del programa SEED 2.01 Y la plataforma de datos RDP 11. Las curvas de Rarefaction y equidad se calcularon a través de RDP y el programa SEED calculándose también los índices basados en el número total de OTUs, donde nos sugiere que existe una elevada biodiversidad en algunas muestras de suelo Las curvas de Rarefaction correspondientes a cada librería se construyeron utilizando los valores de Rarefaction obtenidos mediante el comando "*Rarefaction*" del RDP 11 que utiliza las secuencias agrupadas mediante el comando "*Clustering*". Estos resultados, ya presentados conjuntamente con los demás índices de diversidad nos muestra que esta estadísticamente bien representada.

Tabla 14. Número de secuencias e índices de diversidad determinadas en las muestras de suelo de alta fertilidad.

Riqueza de especies	Muestras de suelo			
	SRF	**SNRF**	**SRD**	**SNRD**
secuencia	67235	67235	67235	67235
Shannon-W.	6.65507742	7.1017829	6.34037719	6.86819548
Shannon E.	9.60124719	10.245707	9.14723073	9.90871156
Species Richness (S)	5356	6089	5017	5531
Abundancia t.	67235	67235	67235	67235
Simpson	0.01021492	0.0027022	0.02299146	0.00383651
Evenness	0.77511048	0.81496305	0.74412442	0.79694787
Species R.	759	983	639	814
Chao-1	8577.57992	9646.4983	8255.93577	8241.00115

Ilustración 25. Curvas de Rarefaction de las muestras de librería del suelo de alta fertilidad y degradado utilizando el número de OTUs asignado en el "Clustering" del RDP al 97.0% de similitud. Color azul: muestra SRF; color naranja: muestra SNRF; color plomo: muestra SRD; color amarillo: muestra SNRD.



4.1.7. Análisis taxonómico de la comparación de muestras de suelo

El análisis taxonómico de las muestras de suelo de alta fertilidad y suelo degradado se realizó mediante el comando "*library compare"* utilizando las secuencias de cada muestra de suelo, para ello se tuvo que normalizar las

secuencias de 67235 a 40000 secuencias ya que el comando soolo acepta comparar librerías de dos muestras de 40000 secuencias cada uno.

Tabla 15. Género y número de secuencias en SRF Y SNRF del cultivo de quinua.

Género	SRF	SNRF	significancia
Streptophyta	238	4	2.04E-65
Duganella	88	0	3.23E-27
Cellvibrio	59	0	1.73E-18
Brevundimonas	68	4	2.44E-16
Novosphingobium	57	2	3.18E-15
Adhaeribacter	407	219	6.00E-14
Arenimonas	111	20	6.00E-14
Arthrobacter	1564	97	6.00E-14
Chryseobacterium	209	10	6.00E-14
Flavobacterium	447	8	6.00E-14
Gaiella	1353	2998	6.00E-14
Gemmata	28	145	6.00E-14
Gp10	168	398	6.00E-14
Gp4	253	616	6.00E-14
Gp6	925	1977	6.00E-14
Ilumatobacter	337	646	6.00E-14
Massilia	261	102	6.00E-14
Microbacterium	116	18	6.00E-14
Nocardioides	1753	1200	6.00E-14
Opitutus	272	116	6.00E-14
Paenibacillus	25	498	6.00E-14
Pedobacter	190	15	6.00E-14
Pirellula	34	212	6.00E-14
Pseudomonas	977	15	6.00E-14
Rhodococcus	120	7	6.00E-14
Rubellimicrobium	87	10	6.00E-14
Saccharibacteria_genera_incertae_sedis	424	181	6.00E-14
Segetibacter	136	17	6.00E-14
Esfingomonas	1124	747	6.00E-14
Subdivision3_genera_incertae_sedis	220	542	6.00E-14
WPS-1_genera_incertae_sedis	249	575	6.00E-14
Gp7	159	316	6.00E-13
Variovorax	50	3	2.92E-12
Dyadobacter	74	10	5.24E-12
Gp16	858	1157	2.10E-11

Lacibacter	32	0	2.33E-10
Blastococo	254	130	2.99E-10
Devosia	69	12	2.99E-10
Nitrospira	40	112	6.65E-09
Planomicrobium	82	23	1.20E-08
Rhizobacter	42	5	1.37E-08
Luteolibacter	51	8	2.15E-08
Mucilaginibacter	25	0	2.98E-08
Nibribacter	52	9	3.81E-08
Algorifago	22	0	2.38E-07
Esfingobacteria	22	0	2.38E-07
Gemmatimonas	369	243	3.40E-07
Herpetosiphon	50	10	3.40E-07
Solirubrobacter	280	414	3.40E-07
Exiguobacterium	20	0	9.54E-07
Rubrobacter	546	721	9.60E-07
Zavarzinella	17	61	9.60E-07
Noviherbaspirillum	19	0	1.91E-06
Pedomicrobium	9	43	2.60E-06
Acinetobacter	41	9	6.80E-06
Rufibacter	54	16	6.80E-06
Nitrosospira	25	3	1.52E-05
Lacibacterium	10	40	2.67E-05
Mycobacterium	83	147	2.67E-05
Paracoco	15	0	3.05E-05
Skermanella	219	140	4.13E-05
Chthonomonas / Armatimonadetes_gp3	30	70	6.34E-05
Saccharothrix	7	32	6.34E-05
Acidovorax	17	1	7.63E-05
Protecobacter	16	1	1.45E-04
Rhizocola	3	21	1.57E-04
Bacillariophyta	23	4	1.80E-04
Gp25	7	29	2.40E-04
Metilofilo	12	0	2.44E-04
Verrucomicrobium	15	1	2.75E-04
Agromyces	188	125	3.60E-04
Gp17	51	93	4.60E-04
Sanguibacter	11	0	4.88E-04
Caulobacter	23	5	5.46E-04
Actinoplanos	27	7	6.00E-04
Himenobacter	43	17	7.80E-04

Fenilobacteria	62	30	8.40E-04
Emticicia	10	0	9.77E-04
Phyllobacterium	3	17	1.49E-03
Gp3	149	208	1.74E-03
Esfingobio	12	1	1.83E-03
Taibaiella	9	0	1.95E-03
Mesorhizobium	15	37	2.28E-03
Tahibacter	18	4	2.60E-03
Reyranella	20	44	2.70E-03
Streptomyces	13	33	3.18E-03
Phycicoccus	11	1	3.42E-03
Celulomonas	31	12	3.74E-03
Xanthomonas	8	0	3.91E-03
Microvirga	117	164	4.96E-03
Methyloceanibacter	1	10	6.35E-03
Achromobacter	7	0	7.81E-03
Fluviicola	7	0	7.81E-03
Metilobacteria	7	0	7.81E-03
Armatimonas / Armatimonadetes_gp1	36	17	9.06E-03
Bradyrhizobium	15	33	9.32E-03
Singulisphaera	2	11	1.29E-02
Bacilo	52	80	1.47E-02
Flavisolibacter	56	33	1.47E-02
Brevifollis	6	0	1.56E-02
Gp22	0	6	1.56E-02
Leucobacter	6	0	1.56E-02
Nonomuraea	0	6	1.56E-02
Pseudorhodoferax	6	0	1.56E-02
Gp1	4	14	1.92E-02
Solitalea	2	10	2.25E-02
Microlunatus	124	161	2.78E-02
Parcubacteria_genera_incertae_sedis	19	35	2.93E-02
Rhizobium	39	22	2.93E-02
Dongia	4	13	3.09E-02
Afifella	5	0	3.13E-02
Catenuloplanos	5	0	3.13E-02
Criptosporangio	5	0	3.13E-02
Halomonas	5	0	3.13E-02
Panacagrimonas	0	5	3.13E-02
Pantoea	5	0	3.13E-02
Spirosoma	5	0	3.13E-02

Pseudoxantomonas	16	6	3.32E-02
Kallotenue	9	2	3.86E-02
Peredibacter	12	24	4.55E-02
Nocardia	4	12	4.90E-02
Terrimonas	13	25	5.12E-02
Geminicoco	83	60	5.36E-02
Altererythrobacter	4	0	6.25E-02
Aureimonas	4	0	6.25E-02
Glycomyces	0	4	6.25E-02
Larkinella	4	0	6.25E-02
Nitrososphaera	0	4	6.25E-02
Turneriella	0	4	6.25E-02
Delftia	5	13	6.36E-02
Chryseolinea	31	47	7.03E-02
Catellatospora	6	1	7.03E-02
Conexibacter	46	64	8.54E-02
Marmoricola	35	50	1.03E-01
Promicromonospora	34	22	1.10E-01
Aquipuribacter	3	0	1.25E-01
Chitinophaga	3	0	1.25E-01
Clavibacter	3	0	1.25E-01
Cupriavidus	3	0	1.25E-01
Ferrovibrio	3	0	1.25E-01
Friedmanniella	3	0	1.25E-01
Geobacter	0	3	1.25E-01
Ochrobactrum	3	0	1.25E-01
Olivibacter	0	3	1.25E-01
Pelomonas	3	0	1.25E-01
Williamsia	3	0	1.25E-01
Agrococcus	5	1	1.25E-01
Blastocatella	5	1	1.25E-01
Intrasporangio	5	1	1.25E-01
Jiangella	1	5	1.25E-01
Kibdelosporangium	1	5	1.25E-01
Povalibacter	7	14	1.26E-01
Aridibacter	148	123	1.29E-01
Clorofita	10	18	1.31E-01
Pseudonocardia	107	130	1.34E-01
Bdellovibrio	8	3	1.46E-01
Esfingopía	8	3	1.46E-01
Stenotrophomonas	25	16	1.59E-01

Litorilinea	31	43	1.62E-01
Actinocorallia	2	6	1.80E-01
Actinomicetospora	2	6	1.80E-01
Deinococcus	6	2	1.80E-01
Geodermatophilus	48	36	1.90E-01
Gp5	24	34	1.90E-01
Sporichthya	12	19	2.08E-01
Lentzea	54	42	2.19E-01
Micromonospora	17	25	2.19E-01
Acididimonas	1	4	2.19E-01
Bacteriovorax	4	1	2.19E-01
Inquilino	4	1	2.19E-01
Janibacter	4	1	2.19E-01
Oscillochloris	7	3	2.27E-01
Kribbella	104	88	2.46E-01
Acrocarpospora	0	2	2.50E-01
Asticcacaulis	2	0	2.50E-01
Clostridium XI	2	0	2.50E-01
Cytophaga	2	0	2.50E-01
Euzebya	0	2	2.50E-01
Hydrogenophaga	2	0	2.50E-01
Kaistia	2	0	2.50E-01
Luteimonas	2	0	2.50E-01
Modestobacter	0	2	2.50E-01
Mycetocola	2	0	2.50E-01
Parablastomonas	2	0	2.50E-01
Rothia	2	0	2.50E-01
Sorangio	0	2	2.50E-01
Esfingosinicella	0	2	2.50E-01
Esporacetigenium	0	2	2.50E-01
Estreptococo	0	2	2.50E-01
Estreptosporangio	0	2	2.50E-01
Xenófilo	2	0	2.50E-01
Ferruginibacter	18	12	2.71E-01
Paenisporosarcina	2	5	2.89E-01
Virgisporangio	25	33	2.94E-01
Ohtaekwangia	145	163	3.03E-01
Rhodocytophaga	35	27	3.08E-01
Actinofitocola	6	10	3.17E-01
Lysinibacillus	10	6	3.17E-01
Kofleria	6	3	3.44E-01

Poliangio	3	6	3.44E-01
Lysobacter	40	32	3.47E-01
Tepidisphaera	11	7	3.47E-01
Parasegetibacter	18	13	3.68E-01
Actinomadura	1	3	3.75E-01
Aquisphaera	1	3	3.75E-01
Fictibacillus	3	1	3.75E-01
Phaselicystis	3	1	3.75E-01
Esporosarcina	3	1	3.75E-01
Flavitalea	19	14	3.84E-01
Dactylosporangium	5	8	4.24E-01
Pontibacter	43	36	4.30E-01
Craurococcus	4	2	4.53E-01
Roseomonas	4	2	4.53E-01
Acetobacter	0	1	5.00E-01
Actinoallomurus	1	0	5.00E-01
Aeribacilo	1	0	5.00E-01
Agregadococo	1	0	5.00E-01
Aminobacter	1	0	5.00E-01
Anaerosalibacter	0	1	5.00E-01
Ancylobacter	1	0	5.00E-01
Aquabacterium	1	0	5.00E-01
Arcicella	0	1	5.00E-01
Armatimonadetes_gp2	1	0	5.00E-01
Aureispira	1	0	5.00E-01
Belnapia	1	0	5.00E-01
Braquibacterias	1	0	5.00E-01
Campylobacter	0	1	5.00E-01
Candidatus Hydrogenedens	0	1	5.00E-01
Candidatus Solibacter	0	1	5.00E-01
Catelliglobosispora	0	1	5.00E-01
Chiayiivirga	1	0	5.00E-01
Corynebacterium	1	0	5.00E-01
Coxiella	0	1	5.00E-01
Curvibacter	1	0	5.00E-01
Demequina	1	0	5.00E-01
Desulfitobacterium	1	0	5.00E-01
Enhygromyxa	0	1	5.00E-01
Epilithonimonas	1	0	5.00E-01
Fonticella	0	1	5.00E-01
Frateuria	1	0	5.00E-01

Fretibacterium	1	0	5.00E-01
Gimesia	0	1	5.00E-01
Gp2	0	1	5.00E-01
Herbaspirillum	1	0	5.00E-01
Herminiimonas	1	0	5.00E-01
Kineococcus	1	0	5.00E-01
Kineosporia	1	0	5.00E-01
Kocuria	1	0	5.00E-01
Lentibacilo	1	0	5.00E-01
Leptotrichia	1	0	5.00E-01
Meiothermus	1	0	5.00E-01
Metilopila	1	0	5.00E-01
Nevskia	0	1	5.00E-01
Oxalicibacterium	1	0	5.00E-01
Pediococcus	1	0	5.00E-01
Pelosino	0	1	5.00E-01
Pilimelia	1	0	5.00E-01
Planctopirus	1	0	5.00E-01
Planococo	1	0	5.00E-01
Polinucleobacter	1	0	5.00E-01
Pseudoduganella	0	1	5.00E-01
Rheinheimera	1	0	5.00E-01
Romboutsia	0	1	5.00E-01
Saccharibacillus	1	0	5.00E-01
Shewanella	0	1	5.00E-01
Shinella	1	0	5.00E-01
Solimonas	0	1	5.00E-01
Sphaerisporangium	1	0	5.00E-01
Esporobacter	0	1	5.00E-01
Esporomusa	0	1	5.00E-01
Stackebrandtia	0	1	5.00E-01
Terrabacter	0	1	5.00E-01
Termoactinomyces	1	0	5.00E-01
Tissierella	1	0	5.00E-01
Treponema	0	1	5.00E-01
Vagococcus	1	0	5.00E-01
Domibacilo	4	6	5.49E-01
Neorhizobium	4	6	5.49E-01
Ramlibacter	22	26	5.62E-01
Cohnella	5	7	5.81E-01
Oligoflexo	7	5	5.81E-01

Sandaracinus	8	6	5.96E-01
Bosea	7	9	6.17E-01
Amycolatopsis	1	2	6.25E-01
Nannocystis	1	2	6.25E-01
Oceanobacilo	1	2	6.25E-01
Propionibacterium	2	1	6.25E-01
Shimazuella	1	2	6.25E-01
Estafilococo	1	2	6.25E-01
Terrimicrobium	1	2	6.25E-01
Brevibacillus	2	3	6.88E-01
Gp11	2	3	6.88E-01
Gracilibacter	2	3	6.88E-01
Roseimicrobium	2	3	6.88E-01
Aeromicrobio	201	208	7.26E-01
Spartobacteria_genera_incertae_sedis	99	104	7.26E-01
Anaeromixobacter	3	4	7.27E-01
Clostridium sensu stricto	4	3	7.27E-01
Microgenomates_genera_incertae_sedis	3	4	7.27E-01
BRC1_genera_incertae_sedis	5	4	7.54E-01
GpI	4	5	7.54E-01
Hyphomicrobium	6	5	7.74E-01
Labilithrix	6	5	7.74E-01
Iamia	7	6	7.79E-01
Labrys	7	8	7.95E-01
Niastella	9	8	8.10E-01
Armatimonadetes_gp5	14	15	8.49E-01
Esteroidobacter	24	25	8.89E-01
Aeromonas	1	1	1.00E+00
Alterococo	1	1	1.00E+00
Aquicella	2	2	1.00E+00
Aquihabitanos	13	13	1.00E+00
Armatimonadetes_gp4	15	15	1.00E+00
Asanoa	1	1	1.00E+00
Cistobacter	1	1	1.00E+00
Georgenia	2	2	1.00E+00
Gp18	7	7	1.00E+00
Janthinobacterium	1	1	1.00E+00
Latescibacteria_genera_incertae_sedis	8	8	1.00E+00
Legionella	16	16	1.00E+00
Neisseria	1	1	1.00E+00
Parafilimonas	2	2	1.00E+00

Planifilum	1	1	1.00E+00
Planococcaceae_incertae_sedis	1	1	1.00E+00
Esfingorhabdus	1	1	1.00E+00

Tabla 16. Género y número de secuencias en SRD Y SND del cultivo de quinua.

género	SRD	SNRD	Significancia
Flavobacterium	584	4	4.93E-168
Dyadobacter	122	1	1.18E-35
Cellvibrio	99	3	3.59E-26
Psychrobacter	77	1	2.65E-22
Cystobacter	0	68	3.39E-21
Exiguobacterium	65	0	2.71E-20
Lactobacillus	4	80	1.10E-19
Lacibacter	58	0	3.47E-18
Duganella	48	0	3.55E-15
Arthrobacter	1985	123	6.00E-14
Brevundimonas	125	8	6.00E-14
Devosia	164	7	6.00E-14
Gaiella	1049	3808	6.00E-14
Gp16	719	1276	6.00E-14
Gp17	43	186	6.00E-14
Gp4	237	639	6.00E-14
Gp6	560	1571	6.00E-14
Ilumatobacter	270	637	6.00E-14
Massilia	212	64	6.00E-14
Microbacterium	144	12	6.00E-14
Nocardioides	2028	1064	6.00E-14
Novosphingobium	115	14	6.00E-14
Opitutus	227	50	6.00E-14
Pedobacter	366	6	6.00E-14
Pseudomonas	523	128	6.00E-14
Pseudonocardia	56	172	6.00E-14
Rhizobium	128	21	6.00E-14
Rhodococcus	155	13	6.00E-14
Rubellimicrobium	179	16	6.00E-14
Rubrobacter	345	748	6.00E-14
Saccharibacteria_genera_incertae_sedis	340	85	6.00E-14
Solirubrobacter	373	909	6.00E-14

Streptophyta	371	27	6.00E-14
Variovorax	58	4	1.38E-13
Methylobacterium	38	0	3.64E-12
Tahibacter	36	0	1.46E-11
WPS-1_genera_incertae_sedis	200	358	2.10E-11
Arenimonas	142	51	8.07E-11
Aeromicrobium	329	183	1.56E-10
Pirellula	28	101	1.56E-10
Fluviicola	36	1	2.84E-10
Sphingopyxis	36	1	2.84E-10
Microlunatus	85	188	5.67E-10
Rhizobacter	54	6	5.67E-10
Luteolibacter	66	12	1.06E-09
Segetibacter	70	14	1.06E-09
Planomicrobium	34	1	1.08E-09
Herpetosiphon	46	5	1.28E-09
Chryseobacterium	34	2	1.02E-08
Gp7	155	273	1.20E-08
Caulobacter	42	5	1.37E-08
Pseudorhodoferax	26	0	1.49E-08
Rhizocola	1	29	2.98E-08
Romboutsia	4	38	3.11E-08
Prosthecobacter	24	0	5.96E-08
Euzebya	6	44	1.16E-07
Promicromonospora	62	15	1.16E-07
Neorhizobium	23	0	1.19E-07
Bacillus	25	77	3.40E-07
Ohtaekwangia	135	63	3.40E-07
Actinoplanes	31	3	4.18E-07
Bosea	30	3	7.66E-07
Paracoccus	20	0	9.54E-07
Stenotrophomonas	47	10	9.60E-07
Staphylococcus	2	26	1.62E-06
Acidovorax	53	14	2.60E-06
Blastococcus	339	474	2.60E-06
Chthonomonas/Armatimonadetes_gp3	17	56	6.80E-06
Pedomicrobium	6	35	6.80E-06
Algoriphagus	17	0	7.63E-06
Brevifollis	17	0	7.63E-06
Rhodocytophaga	26	3	8.43E-06
Latescibacteria_genera_incertae_sedis	2	23	1.05E-05

Paenibacillus	13	48	1.08E-05
Ferruginibacter	20	1	1.10E-05
Corynebacterium	0	16	1.53E-05
Aridibacter	77	32	1.71E-05
Lentzea	58	20	1.71E-05
Acinetobacter	26	65	6.34E-05
Agrococcus	17	1	7.63E-05
Mycobacterium	85	145	8.00E-05
Kofleria	4	24	1.04E-04
Herminiimonas	13	0	1.22E-04
Pelomonas	13	0	1.22E-04
Rathayibacter	13	0	1.22E-04
Tepidisphaera	16	1	1.45E-04
Phycicoccus	17	2	4.02E-04
Lysinibacillus	3	19	4.88E-04
Sporichthya	19	3	4.88E-04
Cellulomonas	32	10	6.80E-04
Myxococcus	2	16	7.29E-04
Gp5	8	28	8.60E-04
Methylophilus	10	0	9.77E-04
Planifilum	1	13	9.77E-04
Advenella	0	9	1.95E-03
Actinophytocola	8	26	2.00E-03
Pseudoxanthomonas	26	8	2.00E-03
Steroidobacter	23	48	2.98E-03
Noviherbaspirillum	11	1	3.42E-03
Aquabacterium	8	0	3.91E-03
Zavarzinella	9	26	4.10E-03
Micromonospora	2	13	4.18E-03
Parasegetibacter	13	2	4.18E-03
Reyranella	19	41	4.52E-03
Sphingomonas	870	757	4.66E-03
Microvirga	171	227	4.96E-03
Virgisporangium	12	30	5.44E-03
Hymenobacter	40	19	6.34E-03
Roseimicrobium	10	1	6.35E-03
Gp25	4	16	7.20E-03
Verrucomicrobium	12	2	7.39E-03
Achromobacter	7	0	7.81E-03
Mycetocola	7	0	7.81E-03
Turicibacter	0	7	7.81E-03

Gemmatimonas	337	272	8.30E-03
Iamia	15	4	1.18E-02
Lacibacterium	7	20	1.24E-02
Gemmata	28	50	1.28E-02
Hyphomicrobium	2	11	1.29E-02
Aquihabitans	43	23	1.39E-02
Gp10	195	246	1.47E-02
Aquipuribacter	6	0	1.56E-02
Gp15	0	6	1.56E-02
Lactococcus	0	6	1.56E-02
Niastella	8	1	2.15E-02
Terrimonas	17	6	2.20E-02
Subdivision3_genera_incertae_sedis	131	170	2.44E-02
Actinomyces	0	5	3.13E-02
Asticcacaulis	5	0	3.13E-02
Bacteriovorax	5	0	3.13E-02
Clostridium XI	5	0	3.13E-02
Mucilaginibacter	5	0	3.13E-02
Sanguibacter	5	0	3.13E-02
Labrys	12	25	3.24E-02
Halomonas	3	11	3.52E-02
Propionibacterium	2	9	3.86E-02
Sphingobium	9	2	3.86E-02
Sphingobacterium	7	1	3.91E-02
Phenylobacterium	44	27	4.34E-02
Kallotenue	10	3	5.74E-02
Aureimonas	4	0	6.25E-02
Gp18	0	4	6.25E-02
Gp22	0	4	6.25E-02
Jiangella	0	4	6.25E-02
Leuconostoc	0	4	6.25E-02
Methyloceanibacter	0	4	6.25E-02
Spirosoma	4	0	6.25E-02
Truepera	4	0	6.25E-02
Aquicella	2	8	6.54E-02
Bradyrhizobium	10	20	6.72E-02
Inquilinus	6	1	7.03E-02
Kocuria	1	6	7.03E-02
Litorilinea	22	12	8.54E-02
Lentibacillus	3	9	9.23E-02
Cohnella	2	7	1.09E-01

Geodermatophilus	104	128	1.14E-01
Bdellovibrio	10	4	1.18E-01
Marmoricola	48	34	1.21E-01
Actinotalea	3	0	1.25E-01
Bacillariophyta	3	0	1.25E-01
Ensifer	0	3	1.25E-01
Gp11	0	3	1.25E-01
GpIV	3	0	1.25E-01
Haemophilus	3	0	1.25E-01
Hydrogenophaga	3	0	1.25E-01
Jeotgalicoccus	0	3	1.25E-01
Microgenomates_genera_incertae_sedis	0	3	1.25E-01
Oceanobacillus	0	3	1.25E-01
Oxalicibacterium	3	0	1.25E-01
Shewanella	3	0	1.25E-01
Sphaerisporangium	0	3	1.25E-01
Tissierella	0	3	1.25E-01
Vasilyevaea	3	0	1.25E-01
Williamsia	3	0	1.25E-01
Craurococcus	1	5	1.25E-01
Cryptosporangium	1	5	1.25E-01
Flavitalea	14	7	1.26E-01
Spartobacteria_genera_incertae_sedis	130	107	1.34E-01
Geminicoccus	53	69	1.47E-01
Nibribacter	20	12	1.59E-01
Legionella	16	9	1.62E-01
Roseomonas	6	2	1.80E-01
Kribbella	93	77	2.19E-01
Nannocystis	1	4	2.19E-01
Chlorophyta	3	7	2.27E-01
Pontibacter	7	3	2.27E-01
Aeromonas	0	2	2.50E-01
Alistipes	0	2	2.50E-01
Caenimonas	2	0	2.50E-01
Candidatus Hydrogenedens	2	0	2.50E-01
Carnobacterium	2	0	2.50E-01
Clostridium III	2	0	2.50E-01
Comamonas	2	0	2.50E-01
Emticicia	2	0	2.50E-01
Gemmobacter	2	0	2.50E-01

Granulicatella	2	0	2.50E-01
Haloarcula	2	0	2.50E-01
Kibdelosporangium	2	0	2.50E-01
Nitrosomonas	2	0	2.50E-01
Nonomuraea	0	2	2.50E-01
Patulibacter	2	0	2.50E-01
Piscinibacter	2	0	2.50E-01
Prevotella	0	2	2.50E-01
Saccharomonospora	0	2	2.50E-01
Salinicoccus	0	2	2.50E-01
Shinella	2	0	2.50E-01
Smaragdicoccus	2	0	2.50E-01
Sporacetigenium	0	2	2.50E-01
Streptosporangium	0	2	2.50E-01
Vibrio	0	2	2.50E-01
Virgibacillus	0	2	2.50E-01
Gp3	92	107	2.89E-01
Armatimonadetes_gp5	20	14	3.03E-01
Flavisolibacter	20	14	3.03E-01
Friedmanniella	10	6	3.17E-01
Anaeromyxobacter	6	3	3.44E-01
Asanoa	3	6	3.44E-01
Chitinophaga	3	6	3.44E-01
Deinococcus	6	3	3.44E-01
Armatimonas/Armatimonadetes_gp1	17	12	3.52E-01
Taibaiella	12	8	3.73E-01
Burkholderia	1	3	3.75E-01
Lechevalieria	3	1	3.75E-01
Pilimelia	3	1	3.75E-01
Actinomycetospora	4	7	3.88E-01
Polyangium	4	7	3.88E-01
Adhaeribacter	233	216	4.24E-01
Lysobacter	27	33	4.41E-01
Afifella	1	0	5.00E-01
Altererythrobacter	1	0	5.00E-01
Alterococcus	1	0	5.00E-01
Anoxybacillus	0	1	5.00E-01
Aquisphaera	0	1	5.00E-01
Azoarcus	1	0	5.00E-01
Bacteroides	0	1	5.00E-01
Bauldia	0	1	5.00E-01

Beijerinckia	0	1	5.00E-01
Belnapia	1	0	5.00E-01
Blastocatella	1	0	5.00E-01
Brevibacterium	0	1	5.00E-01
Buchnera	1	0	5.00E-01
Campylobacter	0	1	5.00E-01
Candidatus Koribacter	1	0	5.00E-01
Candidatus Procabacter	0	1	5.00E-01
Capnocytophaga	0	1	5.00E-01
Catenuloplanes	1	0	5.00E-01
Celerinatantimonas	0	1	5.00E-01
Chiayiivirga	1	0	5.00E-01
Compostibacillus	0	1	5.00E-01
Cytophaga	1	0	5.00E-01
Dietzia	1	0	5.00E-01
Enhygromyxa	0	1	5.00E-01
Enterococcus	0	1	5.00E-01
Fusobacterium	0	1	5.00E-01
Gardnerella	0	1	5.00E-01
Georgenia	1	0	5.00E-01
Gimesia	0	1	5.00E-01
Gp2	0	1	5.00E-01
Gracilibacillus	0	1	5.00E-01
Gracilibacter	1	0	5.00E-01
Herbidospora	0	1	5.00E-01
Hydrogenophilus	1	0	5.00E-01
Intrasporangium	0	1	5.00E-01
Kineococcus	1	0	5.00E-01
Larkinella	1	0	5.00E-01
Lautropia	0	1	5.00E-01
Leptotrichia	0	1	5.00E-01
Leucobacter	1	0	5.00E-01
Longispora	1	0	5.00E-01
Luteococcus	0	1	5.00E-01
Megamonas	0	1	5.00E-01
Methylotenera	1	0	5.00E-01
Nitrososphaera	0	1	5.00E-01
Nocardiopsis	0	1	5.00E-01
Oceanisphaera	1	0	5.00E-01
Ochrobactrum	1	0	5.00E-01
Oligoflexus	1	0	5.00E-01

Pantoea	1	0	5.00E-01
Parachlamydia	0	1	5.00E-01
Parafilimonas	1	0	5.00E-01
Pediococcus	1	0	5.00E-01
Peptoniphilus	0	1	5.00E-01
Planctomicrobium	0	1	5.00E-01
Planococcus	1	0	5.00E-01
Porphyrobacter	0	1	5.00E-01
Porphyromonas	0	1	5.00E-01
Rhodobacter	0	1	5.00E-01
Sinibacillus	0	1	5.00E-01
Sneathia	0	1	5.00E-01
Sorangium	0	1	5.00E-01
Sporomusa	0	1	5.00E-01
Symbiobacterium	0	1	5.00E-01
Terrabacter	0	1	5.00E-01
Terrimicrobium	0	1	5.00E-01
Undibacterium	0	1	5.00E-01
Ureibacillus	1	0	5.00E-01
Vampirovibrio	0	1	5.00E-01
Veillonella	0	1	5.00E-01
Verrucosispora	0	1	5.00E-01
Xenophilus	1	0	5.00E-01
Phyllobacterium	5	3	5.08E-01
Singulisphaera	3	5	5.08E-01
Mesorhizobium	17	21	5.16E-01
Ramlibacter	21	17	5.16E-01
Aciditerrimonas	4	6	5.49E-01
Sandaracinus	6	4	5.49E-01
Parcubacteria_genera_incertae_sedis	26	22	5.62E-01
Glycomyces	5	7	5.81E-01
Povalibacter	5	7	5.81E-01
Streptococcus	5	7	5.81E-01
Nitrosospira	28	24	5.82E-01
Nitrospira	40	45	5.89E-01
Amaricoccus	1	2	6.25E-01
Aminobacter	2	1	6.25E-01
Clostridium sensu stricto	1	2	6.25E-01
Gp1	1	2	6.25E-01
GpI	1	2	6.25E-01
Luteimonas	2	1	6.25E-01

Oscillochloris	1	2	6.25E-01
Rhodopirellula	1	2	6.25E-01
Rothia	1	2	6.25E-01
Delftia	2	3	6.88E-01
Dongia	3	2	6.88E-01
Paenisporosarcina	3	2	6.88E-01
Panacagrimonas	2	3	6.88E-01
Phaselicystis	2	3	6.88E-01
Rufibacter	14	12	6.97E-01
Conexibacter	97	102	7.26E-01
BRC1_genera_incertae_sedis	4	3	7.27E-01
Saccharothrix	4	3	7.27E-01
Peredibacter	17	19	7.41E-01
Labilithrix	5	4	7.54E-01
Actinocorallia	6	5	7.74E-01
Kineosporia	6	5	7.74E-01
Modestobacter	7	6	7.79E-01
Catellatospora	7	8	7.95E-01
Agromyces	92	90	8.81E-01
Skermanella	218	215	8.89E-01
Streptomyces	47	48	9.20E-01
Planococcaceae_incertae_sedis	4	4	1.00E+00
Dactylosporangium	3	3	1.00E+00
Thermoactinomyces	3	3	1.00E+00
Actinomadura	1	1	1.00E+00
Amphibacillus	1	1	1.00E+00
Armatimonadetes_gp4	8	8	1.00E+00
Chryseolinea	17	17	1.00E+00
Cupriavidus	2	2	1.00E+00
Melghirimyces	1	1	1.00E+00
Neisseria	1	1	1.00E+00
Nocardia	15	15	1.00E+00
Olsenella	1	1	1.00E+00
Pelosinus	1	1	1.00E+00

Tabla 17. Géneros bacterianos solubilizadores de fosforo del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Acinetobacter	77	10	35	96
Aeromonas	4	0	0	3
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Azospirillum	0	0	0	1
Azotobacter	0	0	0	4
Bacillus	79	524	42	131
Bradyrhizobium	23	0	27	28
Brevibacillus	2	3	0	1
Brevibacterium	0	0	0	1
Burkholderia	0	0	2	7
Chryseobacterium	357	21	51	2
Corynebacterium	2	0	0	24
Cupriavidus	3	0	2	3
Delftia	10	0	5	7
Flavobacterium	712	20	960	7
Herbaspirillum	1	0	0	0
Janthinobacterium	2	0	0	0
Labrys	14	0	21	38
Mesorhizobium	26	0	36	34
Micrococcus	0	0	1	1
Micromonospora	30	70	4	20
Mycobacterium	152	33	156	240
Nocardia	7	20	29	20
Paenibacillus	43	890	25	92
Pantoea	8	0	2	0
Phyllobacterium	9	0	9	6
Pseudomonas	1635	0	876	216
Rhizobium	65	0	210	44
Rhodococcus	194	12	255	18
Sphingomonas	1821	0	1409	1299
Staphylococcus	3	4	2	40
Stenotrophomonas	43	0	75	15
Streptomyces	25	238	76	94
Variovorax	86	0	102	9
Xanthomonas	11	0	0	0

Tabla 18. Géneros bacterianos biofúngicos del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Azotobacter	0	0	0	4
Bacillus	79	524	42	131
Bradyrhizobium	23	0	27	28
Brevibacillus	2	3	0	1
Brevibacterium	0	0	0	1
Chryseobacterium	357	21	51	2
Delftia	10	0	5	7
Flavobacterium	712	20	960	7
Mesorhizobium	26	0	36	34
Pantoea	8	0	2	0
Pseudomonas	1635	0	876	216
Rhizobium	65	0	210	44
Rhodococcus	194	12	255	18
Variovorax	86	0	102	9
Xanthomonas	11	0	0	0

Tabla 19. Géneros bacterianos implicados en la Biorremediación en el cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Azotobacter	0	0	0	4
Bacillus	79	524	42	131
Burkholderia	0	0	2	7
Halomonas	7	0	3	17
Mycobacterium	152	33	156	240
Rhodococcus	194	12	255	18
Sphingomonas	1821	0	1409	1299
Stenotrophomonas	43	0	75	15
Vibrio	0	0	0	3
Xanthomonas	11	0	0	0

Tabla 20. Géneros bacterianos endófitos de la quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Sphingomonas	1821	0	1409	1299
Pseudomonas	1635	0	876	216
Flavobacterium	712	20	960	7
Massilia	414	0	349	123
Microbacterium	186	52	242	19
Variovorax	86	0	102	9
Bacillus	79	524	42	131
Rhizobium	65	0	210	44
Cellulomonas	45	34	48	20
Stenotrophomonas	43	0	75	15
Streptomyces	25	238	76	94
Bradyrhizobium	23	0	27	28
Methylobacterium	16	0	66	0
Xanthomonas	11	0	0	0
Delftia	10	0	5	7
Pelomonas	9	0	23	0
Phyllobacterium	9	0	9	6
Pantoea	8	0	2	0
Hydrogenophaga	3	0	5	0
Staphylococcus	3	4	2	40
Brevibacillus	2	3	0	1
Corynebacterium	2	0	0	24
Ensifer	1	0	0	4
Herbaspirillum	1	0	0	0
Azoarcus	0	0	1	0
Azospirillum	0	0	0	1
Burkholderia	0	0	2	7
Rhodobacter	0	0	0	1

Tabla 21. Géneros bacterianos implicadas en biocontrol del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Nocardioides	2902	2302	3411	1741
Sphingomonas	1821	0	1409	1299
Microlunatus	204	311	142	306
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Streptomyces	25	238	76	94
Flavobacterium	712	20	960	7
Bacillus	79	524	42	131
Rhizobium	65	0	210	44
Pseudomonas	1635	0	876	216
Bradyrhizobium	23	0	27	28
Rhodococcus	194	12	255	18
Paenibacillus	43	890	25	92
Nocardia	7	20	29	20
Phyllobacterium	9	0	9	6
Lysobacter	57	0	43	55
Stenotrophomonas	43	0	75	15
Cellulomonas	45	34	48	20
Actinoplanes	38	14	57	6
Sphingobacterium	30	0	11	2
Micromonospora	30	70	4	20
Actinomadura	1	4	1	6
Exiguobacterium	30	0	118	0
Burkholderia	0	0	2	7
Clostridium III	0	6	2	0
Amycolatopsis	2	5	0	0
Staphylococcus	3	4	2	40
Methylobacterium	16	0	66	0
Azospirillum	0	0	0	1
Pantoea	8	0	2	0
Clostridium XI	3	0	8	1
Lactobacillus	0	1	5	138
Herbaspirillum	1	0	0	0
Kocuria	1	0	1	9
Xanthomonas	11	0	0	0

Tabla 22. Géneros bacterianos nitrificantes del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Acinetobacter	77	10	35	96
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Azoarcus	0	0	1	0
Azospirillum	0	0	0	1
Bacillus	79	524	42	131
Beijerinckia	0	0	1	2
Bradyrhizobium	23	0	27	28
Burkholderia	0	0	2	7
Cellulomonas	45	34	48	20
Clostridium III	0	6	2	0
Clostridium sensu stricto	6	11	1	5
Clostridium XI	3	0	8	1
Corynebacterium	2	0	0	24
Cupriavidus	3	0	2	3
Delftia	10	0	5	7
Devosia	129	0	283	14
Ensifer	1	0	0	4
Flavobacterium	712	20	960	7
Geobacter	0	0	1	0
Herbaspirillum	1	0	0	0
Mesorhizobium	26	0	36	34
Methylobacterium	16	0	66	0
Mycobacterium	152	33	156	240
Nitrosospira	42	0	44	40
Nitrospira	74	175	59	85
Novosphingobium	84	0	183	18
Paenibacillus	43	890	25	92
Pantoea	8	0	2	0
Pelomonas	9	0	23	0
Phyllobacterium	9	0	9	6
Propionibacterium	2	1	3	18
Pseudomonas	1635	0	876	216
Rhizobium	65	0	210	44
Rhodobacter	0	0	0	1

Tabla 23. Géneros bacterianos productoras de fitohormonas del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Acinetobacter	77	10	35	96
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Streptomyces	25	238	76	94
Flavobacterium	712	20	960	7
Pedobacter	316	25	608	7
Bacillus	79	524	42	131
Rhizobium	65	0	210	44
Pseudomonas	1635	0	876	216
Mesorhizobium	26	0	36	34
Bradyrhizobium	23	0	27	28
Rhodococcus	194	12	255	18
Microbacterium	186	52	242	19
Chryseobacterium	357	21	51	2
Paenibacillus	43	890	25	92
Stenotrophomonas	43	0	75	15
Variovorax	86	0	102	9
Burkholderia	0	0	2	7
Clostridium III	0	6	2	0
Methylobacterium	16	0	66	0
Azospirillum	0	0	0	1
Aminobacter	1	0	3	1
Pantoea	8	0	2	0
Aeromonas	4	0	0	3
Herbaspirillum	1	0	0	0
Xanthomonas	11	0	0	0

Tabla 24. Géneros bacterianos productores de sideróforos del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Acinetobacter	77	10	35	96
Arthrobacter	2576	590	3361	217
Azospirillum	0	0	0	1
Bacillus	79	524	42	131
Bradyrhizobium	23	0	27	28
Burkholderia	0	0	2	7
Chryseobacterium	357	21	51	2
Ensifer	1	0	0	4
Flavobacterium	712	20	960	7
Lysobacter	57	0	43	55
Mesorhizobium	26	0	36	34
Mycobacterium	152	33	156	240
Nocardia	7	20	29	20
Novosphingobium	84	0	183	18
Paenibacillus	43	890	25	92
Pantoea	8	0	2	0
Pseudomonas	1635	0	876	216
Rhizobium	65	0	210	44
Rhodococcus	194	12	255	18
Sphingomonas	1821	0	1409	1299
Variovorax	86	0	102	9

Tabla 25. Géneros bacterianos productores de ACC - desaminaza del cultivo de quinua y número de secuencias de cada muestra de suelo.

GENERO	Suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Pseudomonas	1635	0	876	216
Rhodococcus	194	12	255	18
Mycobacterium	152	33	156	240
Variovorax	86	0	102	9
Bacillus	79	524	42	131
Acinetobacter	77	10	35	96
Rhizobium	65	0	210	44
Caulobacter	37	0	71	5
Acidovorax	30	0	88	22
Mesorhizobium	26	0	36	34

Methylobacterium	16	0	66	0
Phyllobacterium	9	0	9	6
Pantoea	8	0	2	0
Azospirillum	0	0	0	1
Burkholderia	0	0	2	7

4.2. Prueba de hipótesis

La hipótesis alternante planteada en el trabajo de investigación sobre la población bacteriana asociada a la rizósfera de quinua, evaluada mediante el método independiente, difieren en siembras realizadas en suelos de alta fertilidad y degradado.

4.3. Discusión de resultados

En este trabajo se llevó a cabo la caracterización de los géneros bacterianos de la rizósfera y suelo no rizosférico de quinua cultivada en suelo de alta fertilidad del Distrito de Huando, Huancavelica, donde a partir de las muestras de suelo se extrajo del gen 16S rRNA empleando la técnica de huella genética Illumina Miseq donde se prosesó los datos empleando la bioinformática para llegar a conocer los 447 géneros que se llegó a identificar, los suelos SRF, SNRF, SRD y SNRD, llegan a cumplir diversas funciones en el suelo y el medio ambiente ya que lo conforman la biodiversidad mas grande del suelo con diversos géneros bacterianos como *Streptophyta* cuya función es activar la radiación ultravioleta fotosintéticamente en la fisiología y ultraestructura de los ámidos de la planta ya que esta relacionado claramente entre estos factores climáticos Stamenković, M. y Hanelt, D. Hydrobiologia (2017), mencionó que *Duganella* es reconocido por ser capaz de producir violaceina, un de los compuestos de color púrpura vibrante derivado de la condensación de dos moléculas de triptófano que producen enzimas antifúngicas a partir de la violaceina que están realcionados con las plantas que son causados por daños de hongos patogénicos del suelo Haack *et a.,l (*2016), también se ha descrito a *Cellvibrio* como una bacteria que se ha aislado del suelos agrícolas y forestales ya que llega a degradadr celulosa, dextrano, xilano, quitina y almidón, en la descomposición de los restos orgánicos en el suelo

Zhangzhang *et al., (*2017), estudios recientes demuestra que *Brevundimonas* es una de las bacterias que principalmente es utilizada en la biorremediación de los suelos contaminados con por hidrocarburos marinos, incluidos los diesel, los n-alcanos y los hidrocarburos aromáticos policíclicos, también resalta como reductor de los insecticidads, pesticidads que son conaminantes de los suelos agrícolas, por otra parte se ha sugerido que existe una relación de *Arthobacter* y *Brevundimonas* guardando una relación en los suelos rizosféricos y no rifericos como un organismo que reducen los niveles de cromo, hexavalente y clorofenol que son los conatminantes principales de los suelos. Estos compuestos aromáticos, homocíclicos, como los hidroxibenzoatos, piridina y la picolina con los que se utilizan a travez de esta bacteria productora para la biorremediación de los suelos (Sakurai, *et al 2015*). *Psychrobacter* Rémi *et al., (*2017), *Paracoccus* Goncalo A. Santos, (2016), Novosphingobium Juanping *et al., (*2018), Dyadobacter Jun *et al.,(* 2016). Los generos bacterianos que son una de las herramientas mas eficaces y propicios para el medio ambiente y la salud, que actualmente nuestros suelos son contaminados, los ríos, los lagos, etc. Debido a estos problemas surge la biorremediación de los ambientes contaminados a travez de microorganismos aislados de estos mismos ambientes para llevar acabo la solución a este contaminantecon bacteria que producen enzimas llegando a degradar compuestos aromáticos como el fenol , anilina , nitrobenceno y fenantreno, con una capacidad para metabolizar contaminantes ambientales nocivos, incluyendo tolueno, naftaleno, herbicidas, PCB, catabolizando una amplia gama de compuestos que producen bioactivos, acrilamida para llegar a borremediar los suelos y aguas contaminadas por hidrocarburos , aceites de carrosy contamiantes por agroquímicos en los suelos de producción agrícola. *Rhodococcus* Ramaprasad *et al., (* 2018), es una de las bacterias que también llega a metabolizar contaminantes ambientales nocivos, incluyendo tolueno, naftaleno, herbicidas y PCB, además, cataboliza una amplia gama de compuestos y producir esteroides bioactivos, acrilamida y ácido acrílico y su participación en la biodesulfuración de combustibles fósiles, como también

otros contaminantes, como los colorantes azoicos, pesticidas y bifenilos policlorados, invezstigaciones recientes demuestran que este genero no solo participa como biorremediador de suelos, también dio resultados dentro de la industria farmacéutica ya que llega a producir indeno, un precursor de indinavir, el medicamento contra el SIDA, es un inhibidor de la proteasa, y que contiene dos de los cinco centros quirales necesarios para el tratamiento de este virus.

La presencia de los microorganismos del suelo en la rizósfera y suelo no rizosférico de las plantas de quinua esta poblada las raíces con bacterias que promuevn para el desarrlo de estas cumpliendo diversas funciones ya que estos generos bacterianos fueron aislados de ambientes marinos, aguas termales, volcanes, hielos desérticos, algas marinas, aguas saladas y suelos de diversos anbientes Shi *et al., (*2018), demuestra que *Variovorax* en la agricultura degrada una amplia gama de contaminantes orgánicos recalcitrantes que incluyen 2,4-dinitrotolueno, policarbonatos alifáticos y bifenilos policlorados, catabólizando, neutralizando los contaminantes por metales pesados, además proporciona el crecimiento que incluye reducir el estrés de las plantas, aumentando la disponibilidad de nutrientes e inhibiendo el crecimiento de patógenos que puedan causar daños en la raíz de las plantas, DMSMI, (2018), demuestró que *Williamsia es uno de los generos bacterianos que com*únmente está relacionado con las enfermedades de infección pulmonar en la salud humana, pero también nos da a conocer que degrada contaminantes por mayormente en los suelos y aguas *Flavobacterium*, Hernández *et al., (*2016), *Nitrosospira* Mónica *et al., (*2016), *Brevundimonas* Paola *et al., (*2018), *Devosia* Xu *et al., (*2017), Ilumatobacter Fujinami *et al., (2013), Nitrospira* Mikhailov *et al., (*2019), fueron aislados de suelos, plantas, que forman nodulos, algas marinas y suelos arenosos donde describen los autores que estas bacterias desnitrificantes están asociadas a la raíz de las plantas como también suele estar fuera de la rizosfera de las plantas principalmente para fijar el nitrógeno atmosférico a través de la simbiosis de las leguminosas que llegan formar los nodulos. la nitrificación, mineralización

de la materia orgánica nitrogenada ocurre principalmente con la oxidación biológica del amoníaco (NH_3) a nitrato (NO_3 para luego ser reducido a nitrito, las actividades enzimáticas están relacionadas con el ciclo del fósforo, la fosfatasa ácida, alcalina y fosfodiesterasa haciéndola asimilable para las plantas, con las actividades enzimáticas relacionadas con el ciclo del carbono y azufre: b-glucosidasa y arilsulfatasa respectivamente para la nutrición de estas ya que estas bacterias están en la rizozfera de las plantas y suelos no rizosféricos, por otro lado *Gaiella* es una de las bactrias que asimila principalmente los hidratos de carbono, ácidos orgánicos y aminoácidos que secreta la planta o también puede estar relacionado con la producción de otros microorganismos presentes en el suelo y la rizósfera Albuquerque *et al., (*2016) . *Planomicrobium* Teymouri *et al., (*2018) desarrolló que este género produce ácidos a partir de glucosa, sacarosa, rafinosa, lactosa, arabinosa, celobiosa, xilosa, ramnosa, melibiosa, manosa o manitol principalmente para la descomposición de células y la transformación en, materia orgánica lo cual guarda una relación con *Stenotrophomonas* Hogg *et al., (*2019), qien también describe que tiene la función fermentar, degradar restos de cosechas o material orgánico a base de celulosa Héctor *et al., (*2016), describió como uno de los organismos que comúnmente se encuentra en el suelo y restos de materia organica como *Sphingobacteria* que degrada residuos orgánicos a partir de estiércol de ovinos transformando en materia organica, además cumple un rol importante en la biorremediación de suelos contaminados por aceites automotrices.

Nocardioides se ha encontrado principalmente en las raíces de los cultivos de maíz, trigo y cebada ya que causa graves problemas debido a la producción de micotoxinas deoxinivalenol (DON) para los seres humanos y el ganado ya que se encuentran en los suelos y son producidas por *aspergillus* y algunas levaduras Yoon *et al., (* 2017).

Padda *et al., (*2017), *Painebacillus, Pseudomonas* Paulsson *et al., (*2017), *Duganella* Jinglou *et al., (*2016), *Celvibrio,* e*xiguobacterium* (Ramesh C & Pandey CB, 2017), Lactobacillus (Jorge P, 2019), Pseudonocardia Chanama

et al., *(*2018), Bacillus William R, 2015), Pedobacter y Paracoccus han demostrado las funciónes que desarrollan específicamente en el suelo como las enzimas que degradan el polisacárido y las proteasas, que pueden catalizar una amplia variedad de reacciones sintéticas en campos que van desde la producción de cosméticos hasta la producción de biocombustibles, también producen sustancias antimicrobianas que afectan a un amplio espectro de microorganismos tales como hongos, bacterias del suelo, bacterias patógenas de plantas e incluso patógenos anaeróbicos importantes como *Clostridium botulinum*, además promueve el crecimiento de plantas (PGPR), que colonizan de forma competitiva las raíces de las plantas y pueden actuar simultáneamente como biofertilizantes y como bioplaguicidas para el control de las enfermedades, el control de plagas, son enrraizadores, productores a ACCDSA, fitohormonas y la producción de sideroforos.

Conclusiones

- La diversidad bacteriana de los suelos rizosféricos y no rizosféricos son similares en el número total de géneros analizados en el cultivo de quinua.
- La rizósfera de la quinua promueve el crecimiento de determinados géneros bacterianos con una capacidad de promover el crecimiento de plantas.
- Los suelos no rizosféricos también existen géneros bacterianos que promueven en los ciclos biogeoquímicos de los nutrientes en el suelo.
- La biodiversidad microbiana del suelo rizosférico y no rizosferico de los suelos de alta fertilidad y suelo degradado son similares en cuanto a las secuencias clasificadas.
- Las rizósfera del cultivo de quinua llega a poblar bacterias que hasta el momento no han sido descritas y las funciones que llegan a realizar en algunas bacterias.
- La comparación de librerías del SRF y SRD, muestra estadísticamente significativa que *pseudomonas, gp6, rubrobacter y gaiella* son superiores en número de suecuencias que el SRD.
- Los resultados de de la comparación de librerías del SNRF y SNRD, *lactobacillus, cystobacter, blastococus, gaiella, paenibacillus* y *pseudomoas,* superan significativamente en número de secuencias al SNRF.

Recomendaciones

- Estudiar con mayor profundidad en las diferentes faces fenológicas del cultivo de quinua y ver la dinámica poblacional por cada face.
- Estudiar la dinámica poblacional en la rizosfera de otros cultivos con y sin fertilización.
- Se sugiere realizar estudios que evalúen el impacto de la condición climática y la altura sobre las comunidades microbianas de los suelos.
- Se recomienda realizar estudios similares en otros cultivos de sierra a nivel de la región Huancavelica.

Referencias Bibliográficas

1. Albuquerque L, França L, Rainey FA, Schumann P, (2016). Gaiella oculta gen. representativa de un linaje filogenético de ramificación profunda dentro de la clase Actinobacteria y propuesta de Gaiellaceae fam. nov. y Gaiellales. (8): 595-9. doi: 10.1016.
2. Balestrini, R., Lumini, R., Borriello, V. (2015). Plant-Soil Biota Interactions. Soil Microbiology Ecology and Biochemistry (Fourth Edition). Boston, United States of America. Eldor A. Paul, Academic Press, 311- 338.
3. Basak, P., Pramanik, S., Sengupta, S., Nag, A., Bhattacharyya, D., Roy, R., Pattanayak, A., Ghosh, D., Chattopadhyay, M. & Bhattacharyya. (2016). Bacterial diversity assessment of pristine mangrove microbial community from Dhulibhashani, Sundarbans using 16S rRNA gene tag sequencing. Genomics data 7: 76-78.
4. Carolina, V., Patricia, Portillo., Alvaro, M. (2016). Clonación expresión y caracterización de una nueva esterasa derivada de metagenoma de suelos agrícolas colombianos.
5. Carver, S.M., Nikulin, N., Kao, K. (2017). Uncovering Plant Growth-Mediating Allelochemicals Produced by Soil Microorganisms. Weed Science 64(1): 119-128.
6. Castañeda, L.E. & Barbosa. (2016). Evaluación de las bacterias aisladas de material particulado PM2.5 captado en tres estaciones de la Red de Monitoreo de Calidad de Aire del Área Metropolitana Valle de Aburrá.
7. Castillo, M., Bowker, T., Maestre, S., Rodríguez, E., Martinez, C., Barraza, Z., & Escolar, C. (2015). Relationships between biological soil crusts, bacterial diversity and abundance, and ecosystem functioning: insights from a semi-arid Mediterranean environment. J VegSci. 22: 165-74

8. Chanama S, Janphen S, Suriyachadkun C, Chanama M. (2018). Pseudonocardia mangrovi sp. nov., aislado del suelo. doi: 10.1099 / ijsem.0.002927.
9. Chapelle, E., R. Mendes, P.A., Bakker, H. Raaijmakers, J.M. (2016). Fungal invasion of the rhizosphere microbiome. The ISME journal: 265-268.
10. DMSMI. Department of Microbiology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran. (2018). Williamsia spp. are emerging opportunistic bacteria Masoud Keikha. doi: 10.1016/j.nmni.2017.11.002.
11. Fujinami, S., Takarada, H., Kasai, H. (2013). Complete genome sequence of Ilumatobacter coccineum YM16-304 8: 430. https://doi.org/10.4056/sigs.4007734
12. Goncalo A. Santos, MSc, gerente técnico de acuicultura, Biomin Holding GmbH, Austria. (2016). El papel de la biorremediación en el manejo de la calidad del agua.
13. Haack FS, Poehlein A, Kröger C, Voigt CA, Piepenbring M, Bode HB, Daniel R, Schäfer W, Streit WR (2016-10-26). "Fusarium graminearum" Las fronteras en la microbiología. 71668. doi: 10.3389 / fmicb.2016.01668
14. Hartman, K., Heijden, M., Wittwer, R. (2018). Microbioma de las prácticas de cultivo manipulan los patrones de abundancia de los miembros del microbioma de la raíz y el suelo allanando el camino hacia una agricultura inteligente https://doi.org/10.1186/s40168-017-0389-9.
15. Hasta, P., M. (2017). Pre mejoramiento Genético de Quinoa. Evaluación agronómica de diferentes líneas del ecotipo Del Nivel del Mar en Azul.
16. Hayat, R., Ali, S., Amara, U. (2017). Las bacterias benéficas del suelo y su papel en la promoción del crecimiento de las plantas 60: 579. https://doi.org/10.1007/s13213-010-0117-1.
17. Héctor Guillermo, Anza Cruz, Paula Deyanira, Orantes Calleja, Raúl González, Herrera Alejandro, Ruíz Marín, Eduardo Espinoza, Medinilla Rebeca, Isabel Martínez, Salinas Carlos, Manuel García, Lara Pedro, Vera

Toledo (2016). Biorremediación de suelos contaminados con aceite automotriz usados mediante sistema de biopilas.

18. Hernández, Escareno, Castillo,Tovar Sánchez,Yáñez, (2016). Microbiología Industrial y del Suelo. Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. Apdo. Postal 414. cp. 64000.
19. Hogg HDJ, Siah WF, Okonkwo A, Narayanan M, Figueiredo FC. (2019) Stenotrophomonas maltophilia-A Case Series of a Rare Keratitis Affecting Patients With Bandage Contact Lens. doi: 10.1097/ICL.0000000000000479.
20. Holland, T.C., P.A. Bowen, C.P. Bogdanoff, T.D. Lowery, O. Shaposhnikova, S. Smith and M.M. Hart. (2016). Evaluating the diversity of soil microbial communities in vineyards relative to adjacent native ecosystems. Applied Soil Ecology, 100: 91-103.
21. Illuimina. (2017). Tecnology key Illumina tecnology overviews. ttps://www.illumina.com/science/tecnology.html
22. Jinglou Zhang, Yeon-Ju Kim, Van-An Hoang, Ngoc Lan Nguyen, Chao Wang, Jong-Pyo Kang, Dandan Wang and Deok-Chun Yang. (2016). Duganella ginsengisoli sp. nov., isolated from ginseng soil.
23. Jorge Poveda Arias (2019). Los microorganismos asociados a los insectos y su aplicación en la agricultura. doi.org/10.22201/codeic.16076079e.2019.v20n1.a2
24. Juanping Wang, Chang Wang, Jionghui Li, Peng Bai, Qi Li, Mengyuan Shen, Renhui Li, Tao Li, and Jindong Zhao. (2018) Comparative Genomics of Degradative Novosphingobium Strains With Special Reference to Microcystin-Degrading Novosphingobium sp. THN1. doi: 10.3389/fmicb.2018.02238
25. Jun lian Gao, Pengbo Sun, Xu-ming Wang, Tian-lei Qiu, Fan-yang Lv, Mei Yuan, Ming-ming Yang and Jian-guang Sun. (2016). Dyadobacter endophyticus sp. nov., an endophytic bacterium isolated from maize root.

26. Mendes, L., Tsai, S., Navarrete, M., Hollander, J., Veen, E., Kuramae, E. (2015). Soil-borne microbiome: linking diversity to function. Microbial ecology 70(1): 255-265.
27. Mikhailov, IS, Zakharova, YR, Bukin, YS et al. Microb Ecol (2019) 77: 96. https://doi.org/10.1007/s00248-018-1212-2
28. Mónica Fabiola Boccolini; Laura Ana Basile; Cristian Román Cazorla; Carlos Martín Galarza; Belén Conde & Eva Lucía Margarita Figuerola. (2016). Impacto de la aplicación prolongada de urea sobre bacterias nitritantes de un Argiudol típico, Argentina.
29. Morris, S. & Blackwood, C. B. (2015). The Ecology of the Soil Biota and their Function. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition). Boston, United States of America. Eldor A. Paul, Academic Press, 273- 309.
30. Municipalidad Distrital de Huando gestión edil (2015- 2018). Autoridades regionales y municipales del Distrito de Huando.
31. Padda, Kiran Preet; Puri, Akshit; Chanway, Chris P. (2017). Microbios de importancia agrícola para la agricultura sostenible. Springer, Singapur. pp. 165–191. doi : 10.1007 / 978-981-10-5343-6_6
32. Paola Fincheira-Robles; María Mercedes Martínez-Salgado; Rodrigo Ortega- Blu; Marc Janssens; Maribel Parada-Ibañez. (2018). ndicadores de calidad de suelo en uva de mesa (Vitis vinifera cv. Thompson seedless) bajo manejo integrado de nutrición. doi.org/10.17268
33. Paulsson M, Granrot A, Ahl J et al. Antimicrobial combination treatment including ciprofloxacin decreased the mortality rate of Pseudomonas aeruginosa bacteraemia: a retrospective cohort study. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2017; 36:1187-1196. DOI: 10.1007/ s10096-017-2907-x
34. Priscila A. Calderoli (2016). Análisis de las poblaciones de microorganismos fijadores de nitrógeno del suelo aplicando procedimientos metagenómicos.

35. Qingshui, R., Changxiao, L., Wenhang, Y., Hong, S., Peng, M., Chaoying, W., Rebecca, L., Schneider, Stephen., Morreale, J. (2018). Pyrosequencing analysis of bacterial diversity in dental unit waterlines.
36. Ramaprasad, EVV; Mahidhara, Ganesh; Sasikala, Ch.; Ramana, cap. V. (2018). "Rhodococcus sp. Nov., Una actinobacteria electroactiva marina aislada de arrecifes de coral". Revista Internacional de Microbiología Sistemática y Evolutiva. 68 (8): 2644-2649. doi: 10.1099 / ijsem.0.002895
37. Ramesh C. Kasana & Pandey CB. (2017). Exiguobacterium: una visión general de un género versátil con potencial en la industria y la agricultura. https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1312273.
38. Rémi Le Guern, Monedero Frédéric, Emmanuel Vega, René J. Courcol, y Caroline Loïez. (2017). Psychrobacter sanguinis: una bacteria inusual para la meningitis nosocomial.
39. Sakurai, Hiroaki; Yokota, Atsushi; Tomita, Fusao (2016). "Clonación molecular de un gen de inulina fructotransferasa (despolimerización) de Arthrobactersp. H65-7 y su expresión en Escherichia coli". Biociencia, biotecnología y bioquímica. 6187. doi : 10.1271 / bbb.61.87
40. Shi-Lei Sun, Wen-Long Yang, Wen-Wan Fang, Yun-Xiu Zhao, Ling Guo, Yi-Jun Dai. (2018). El Rhizobacterium Variovorax boronicumulans CGMCC 4969, que promueve el crecimiento de las plantas, regula el nivel de ácido indol-3-acético sintetizado a partir de indol-3-acetonitrilo. DOI: 10.1128 / AEM.00298-18.
41. Stamenković, M. y Hanelt, D. Hydrobiologia (2017) 787: 1. https://doi.org/10.1007/s10750-016-2958-5
42. Tapia, M. & Fries, A. (2016). Guía de campo de los cultivos andinos. FAO y ANDE Perú. Taxonomic and functional diversity of soil microbial communities in Chilean vineyards and surrounding native forests. PeerJ PrePrints 4:1661v1.
43. Teng Z., Chen Z., Zhang Q., Yao Y., Song M., Li M. (2018). Isolation and characterization of phosphate solubilizing bacteria from rhizosphere soils

of the Yeyahu Wetland in Beijing, China. Environmental Science and Pollution Research https://doi.org/10.1007/s11356-018-2955-5.

44. Teymouri, M., Karkhane, M., Gilavand, F. (2018). Extracellular Lipase Purification from a Marine Planomicrobium sp. MR23K and Productivity Optimization in a Pilot-Scale Submerged Bioreactor 88: 739. https://doi.org/10.1007/s40011-016-0812-1.

45. Thies, J. E. (2016). Molecular Approaches to Studying the Soil Biota. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition). Boston, United States of America. Eldor A. Paul, Academic Press, 151-185

46. Thies, J., E. (2017). Molecular Approaches to Studying the Soil Biota. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition). Boston, United States of America. Eldor A. Paul, Academic Press, 151-185

47. Udaondo, Z., L. Molina, A., Segura, E., Duque J.L. (2017). Analysis of the core genome and pangenome of Pseudomonas putida. Environmental microbiology.

48. Vega-Avila, A.D., T. Gumiere, P.A.M. Andrade, J.E. Lima-Perim, A. Durrer, M. Baigori, F. Vazquez and F.D. Andreote. (2015). Bacterial communities in the rhizosphere of Vitis vinifera L. cultivated under distinct agricultural practices in Argentina. Antonie van Leeuwenhoek 107(2): 575-588.

49. Voroney, R. & Heck, R. (2015). The Soil Habitat. Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry (Fourth Edition). Boston, United States of America. Eldor A. Paul, Academic Press, 15-39.

50. Wen Ming Chen, Li-Ping Liu and Shih-Yi Sheu (2017). Cellvibrio fontiphilus sp. Nov., isolated from a spring. Syst Evol Microbiol 2017; 67:2532–2537 DOI 10.1099/ijsem.0.00195.

51. Wen, L.S., Philip, K. & Ajam, N. (2016). Purification, characterization and mode of action of plantaricin K25 produced by Lactobacillus plantarum. Food Control 60: 430-439.

52. William Rivera-Méndez. (2015). Microbiological control as experience of local sustainability in Central American agricultura.

53. Xiao, Z., Shirong, L., Yongtao, H., Shenglei, F., Jingxin, W., Angang, M., Xiangzhen, L., Minjie, Y., Huan, L. (2018). Mezcla de especies arbóreas inhibe el carbono orgánico del suelo. mineralización acompañada de disminución de bacterias r-seleccionadas. Plant Soil https://doi.org/10.1007/s11104-018-3755-x.
54. Xu, L., Zhang, Y., Read, N. y col. Antonie van Leeuwenhoek (2017) 110: 1475. https://doi.org/10.1007/s10482-017-0901-z
55. Yoon JH. Park YH. Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer KH. Stackebrandt E. (2017). Los procariotas. Springer, Nueva York, NY. El género Nocardioides. DOIhttps://doi.org/10.1007/0-387-30743-5_44
56. Zhangzhang, Xie; Weitie Lin, y Jianfei Luo (2017). Fenotipo comparativo y análisis del genoma de Cellvibrio sp. PR1, una bacteria xilanolítica y agarolítica del río Pearl. Doi: 10.1155 / 2017/6304248
57. Zhou, J., He, Y., Yang, Y., Deng, S., Tringe, L. Alvarez, C. (2015). High-throughput metagenomic technologies for complex microbial community analysis: open and closed formats. MBio 6(1): e02288-14.

Apéndice

Comparacoión de librerias de muestras de suelo

Anexo 1. Género y número de secuencias en SRF Y SRD del cultivo de quinua.

Género	SRF	SRD	Significancia
Nocardioides	1753	2028	6.80E-06
Arthrobacter	1564	1985	6.00E-13
Gaiella	1353	1049	2.99E-10
Sphingomonas	1124	870	1.20E-08
Pseudomonas	977	523	6.00E-14
Gp6	925	560	6.00E-14
Gp16	858	719	4.00E-04
Rubrobacter	546	345	2.10E-11
Flavobacterium	447	584	2.67E-05
Saccharibacteria_genera_incertae_sedis	424	340	2.28E-03
Adhaeribacter	407	233	5.24E-12
Gemmatimonas	369	337	2.26E-01
Ilumatobacter	337	270	6.34E-03
Solirubrobacter	280	373	2.60E-04
Opitutus	272	227	4.34E-02
Massilia	261	212	2.38E-02
Blastococcus	254	339	4.60E-04
Gp4	253	237	4.65E-01
WPS-1_genera_incertae_sedis	249	200	2.03E-02
Streptophyta	238	371	6.68E-08
Subdivision3_genera_incertae_sedis	220	131	2.60E-06
Skermanella	219	218	9.60E-01
Chryseobacterium	209	34	6.00E-14
Aeromicrobium	201	329	3.81E-08
Pedobacter	190	366	1.40E-13
Agromyces	188	92	1.20E-08
Gp10	168	195	1.56E-01
Gp7	159	155	8.18E-01
Gp3	149	92	2.40E-04
Aridibacter	148	77	2.60E-06
Ohtaekwangia	145	135	5.48E-01
Segetibacter	136	70	4.23E-06
Microlunatus	124	85	6.94E-03
Rhodococcus	120	155	3.49E-02
Microvirga	117	171	1.42E-03
Microbacterium	116	144	8.19E-02

Arenimonas	111	142	5.12E-02
Pseudonocardia	107	56	6.34E-05
Kribbella	104	93	4.35E-01
Spartobacteria_genera_incertae_sedis	99	130	4.04E-02
Duganella	88	48	6.00E-04
Rubellimicrobium	87	179	2.15E-08
Geminicoccus	83	53	1.02E-02
Mycobacterium	83	85	8.81E-01
Planomicrobium	82	34	1.08E-05
Dyadobacter	74	122	6.00E-04
Devosia	69	164	5.67E-10
Brevundimonas	68	125	4.13E-05
Phenylobacterium	62	44	8.01E-02
Cellvibrio	59	99	1.42E-03
Novosphingobium	57	115	1.08E-05
Flavisolibacter	56	20	4.13E-05
Lentzea	54	58	7.04E-01
Rufibacter	54	14	1.59E-06
Bacillus	52	25	2.08E-03
Nibribacter	52	20	1.60E-04
Gp17	51	43	4.07E-01
Luteolibacter	51	66	1.65E-01
Herpetosiphon	50	46	6.82E-01
Variovorax	50	58	4.41E-01
Geodermatophilus	48	104	6.80E-06
Conexibacter	46	97	2.67E-05
Hymenobacter	43	40	7.41E-01
Pontibacter	43	7	5.74E-07
Rhizobacter	42	54	2.19E-01
Acinetobacter	41	26	6.72E-02
Lysobacter	40	27	1.12E-01
Nitrospira	40	40	1.00E+00
Rhizobium	39	128	1.05E-11
Armatimonas/Armatimonadetes_gp1	36	17	9.06E-03
Marmoricola	35	48	1.53E-01
Rhodocytophaga	35	26	2.50E-01
Pirellula	34	28	4.47E-01
Promicromonospora	34	62	4.24E-03
Lacibacter	32	58	6.14E-03
Cellulomonas	31	32	8.97E-01
Chryseolinea	31	17	4.34E-02

Litorilinea	31	22	2.15E-01
Chthonomonas/Armatimonadetes_gp3	30	17	5.74E-02
Gemmata	28	28	1.00E+00
Actinoplanes	27	31	5.96E-01
Mucilaginibacter	25	5	1.92E-04
Nitrosospira	25	28	6.82E-01
Paenibacillus	25	13	5.12E-02
Stenotrophomonas	25	47	9.60E-03
Virgisporangium	25	12	3.24E-02
Gp5	24	8	4.66E-03
Steroidobacter	24	23	8.81E-01
Bacillariophyta	23	3	4.92E-05
Caulobacter	23	42	1.83E-02
Algoriphagus	22	17	4.24E-01
Ramlibacter	22	21	8.81E-01
Sphingobacterium	22	7	5.28E-03
Exiguobacterium	20	65	1.59E-06
Reyranella	20	19	8.73E-01
Flavitalea	19	14	3.84E-01
Noviherbaspirillum	19	11	1.44E-01
Parcubacteria_genera_incertae_sedis	19	26	2.98E-01
Ferruginibacter	18	20	7.49E-01
Parasegetibacter	18	13	3.68E-01
Tahibacter	18	36	1.43E-02
Acidovorax	17	53	1.71E-05
Micromonospora	17	2	4.02E-04
Zavarzinella	17	9	1.16E-01
Legionella	16	16	1.00E+00
Prosthecobacter	16	24	2.04E-01
Pseudoxanthomonas	16	26	1.24E-01
Armatimonadetes_gp4	15	8	1.44E-01
Bradyrhizobium	15	10	3.17E-01
Mesorhizobium	15	17	7.26E-01
Paracoccus	15	20	3.95E-01
Verrucomicrobium	15	12	5.62E-01
Armatimonadetes_gp5	14	20	3.03E-01
Aquihabitans	13	43	6.34E-05
Streptomyces	13	47	1.71E-05
Terrimonas	13	17	4.65E-01
Methylophilus	12	10	6.67E-01
Peredibacter	12	17	3.52E-01

Sphingobium	12	9	5.16E-01
Sporichthya	12	19	2.08E-01
Phycicoccus	11	17	2.58E-01
Sanguibacter	11	5	1.43E-01
Tepidisphaera	11	16	3.37E-01
Chlorophyta	10	3	5.74E-02
Emticicia	10	2	2.25E-02
Lacibacterium	10	7	4.65E-01
Lysinibacillus	10	3	5.74E-02
Kallotenue	9	10	8.18E-01
Niastella	9	8	8.10E-01
Pedomicrobium	9	6	4.41E-01
Taibaiella	9	12	5.16E-01
Bdellovibrio	8	10	6.38E-01
Latescibacteria_genera_incertae_sedis	8	2	6.54E-02
Sandaracinus	8	6	5.96E-01
Sphingopyxis	8	36	2.67E-05
Xanthomonas	8	0	3.91E-03
Achromobacter	7	7	1.00E+00
Bosea	7	30	1.60E-04
Fluviicola	7	36	1.08E-05
Gp18	7	0	7.81E-03
Gp25	7	4	3.88E-01
Iamia	7	15	8.73E-02
Labrys	7	12	2.50E-01
Methylobacterium	7	38	4.23E-06
Oligoflexus	7	1	3.91E-02
Oscillochloris	7	1	3.91E-02
Povalibacter	7	5	5.81E-01
Saccharothrix	7	4	3.88E-01
Actinophytocola	6	8	5.96E-01
Brevifollis	6	17	2.20E-02
Catellatospora	6	7	7.79E-01
Deinococcus	6	6	1.00E+00
Hyphomicrobium	6	2	1.80E-01
Kofleria	6	4	5.49E-01
Labilithrix	6	5	7.74E-01
Leucobacter	6	1	7.03E-02
Pseudorhodoferax	6	26	4.00E-04
Afifella	5	1	1.25E-01
Agrococcus	5	17	1.06E-02

Blastocatella	5	1	1.25E-01
BRC1_genera_incertae_sedis	5	4	7.54E-01
Catenuloplanes	5	1	1.25E-01
Cohnella	5	2	2.89E-01
Cryptosporangium	5	1	1.25E-01
Dactylosporangium	5	3	5.08E-01
Delftia	5	2	2.89E-01
Halomonas	5	3	5.08E-01
Intrasporangium	5	0	3.13E-02
Pantoea	5	1	1.25E-01
Spirosoma	5	4	7.54E-01
Altererythrobacter	4	1	2.19E-01
Aureimonas	4	4	1.00E+00
Bacteriovorax	4	5	7.54E-01
Clostridium sensu stricto	4	1	2.19E-01
Craurococcus	4	1	2.19E-01
Domibacillus	4	0	6.25E-02
Dongia	4	3	7.27E-01
Gp1	4	1	2.19E-01
GpI	4	1	2.19E-01
Inquilinus	4	6	5.49E-01
Janibacter	4	0	6.25E-02
Larkinella	4	1	2.19E-01
Neorhizobium	4	23	1.80E-04
Nocardia	4	15	1.18E-02
Roseomonas	4	6	5.49E-01
Anaeromyxobacter	3	6	3.44E-01
Aquipuribacter	3	6	3.44E-01
Chitinophaga	3	3	1.00E+00
Clavibacter	3	0	1.25E-01
Cupriavidus	3	2	6.88E-01
Ferrovibrio	3	0	1.25E-01
Fictibacillus	3	0	1.25E-01
Friedmanniella	3	10	5.74E-02
Microgenomates_genera_incertae_sedis	3	0	1.25E-01
Ochrobactrum	3	1	3.75E-01
Pelomonas	3	13	1.27E-02
Phyllobacterium	3	5	5.08E-01
Polyangium	3	4	7.27E-01
Rhizocola	3	1	3.75E-01
Sporosarcina	3	0	1.25E-01

Williamsia	3	3	1.00E+00
Actinocorallia	2	6	1.80E-01
Actinomycetospora	2	4	4.53E-01
Aquicella	2	2	1.00E+00
Asticcacaulis	2	5	2.89E-01
Brevibacillus	2	0	2.50E-01
Clostridium XI	2	5	2.89E-01
Cytophaga	2	1	6.25E-01
Georgenia	2	1	6.25E-01
Gp11	2	0	2.50E-01
Gracilibacter	2	1	6.25E-01
Hydrogenophaga	2	3	6.88E-01
Kaistia	2	0	2.50E-01
Luteimonas	2	2	1.00E+00
Mycetocola	2	7	1.09E-01
Paenisporosarcina	2	3	6.88E-01
Parablastomonas	2	0	2.50E-01
Parafilimonas	2	1	6.25E-01
Phaselicystis	2	2	1.00E+00
Propionibacterium	2	2	1.00E+00
Roseimicrobium	2	10	2.25E-02
Rothia	2	1	6.25E-01
Singulisphaera	2	3	6.88E-01
Solitalea	2	0	2.50E-01
Xenophilus	2	1	6.25E-01
Aciditerrimonas	1	4	2.19E-01
Actinoallomurus	1	0	5.00E-01
Actinomadura	1	1	1.00E+00
Aeribacillus	1	0	5.00E-01
Aeromonas	1	0	5.00E-01
Aggregicoccus	1	0	5.00E-01
Alterococcus	1	1	1.00E+00
Aminobacter	1	2	6.25E-01
Amycolatopsis	1	0	5.00E-01
Ancylobacter	1	0	5.00E-01
Aquabacterium	1	8	2.15E-02
Aquisphaera	1	0	5.00E-01
Armatimonadetes_gp2	1	0	5.00E-01
Asanoa	1	3	3.75E-01
Aureispira	1	0	5.00E-01
Belnapia	1	1	1.00E+00

Brachybacterium	1	0	5.00E-01
Chiayiivirga	1	1	1.00E+00
Corynebacterium	1	0	5.00E-01
Curvibacter	1	0	5.00E-01
Cystobacter	1	0	5.00E-01
Demequina	1	0	5.00E-01
Desulfitobacterium	1	0	5.00E-01
Epilithonimonas	1	0	5.00E-01
Frateuria	1	0	5.00E-01
Fretibacterium	1	0	5.00E-01
Herbaspirillum	1	0	5.00E-01
Herminiimonas	1	13	9.77E-04
Janthinobacterium	1	0	5.00E-01
Jiangella	1	0	5.00E-01
Kibdelosporangium	1	2	6.25E-01
Kineococcus	1	1	1.00E+00
Kineosporia	1	6	7.03E-02
Kocuria	1	1	1.00E+00
Lentibacillus	1	3	3.75E-01
Leptotrichia	1	0	5.00E-01
Meiothermus	1	0	5.00E-01
Methyloceanibacter	1	0	5.00E-01
Methylopila	1	0	5.00E-01
Nannocystis	1	1	1.00E+00
Neisseria	1	1	1.00E+00
Oceanobacillus	1	0	5.00E-01
Oxalicibacterium	1	3	3.75E-01
Pediococcus	1	1	1.00E+00
Pilimelia	1	3	3.75E-01
Planctopirus	1	0	5.00E-01
Planifilum	1	1	1.00E+00
Planococcaceae_incertae_sedis	1	4	2.19E-01
Planococcus	1	1	1.00E+00
Polynucleobacter	1	0	5.00E-01
Rheinheimera	1	0	5.00E-01
Saccharibacillus	1	0	5.00E-01
Shimazuella	1	0	5.00E-01
Shinella	1	2	6.25E-01
Sphaerisporangium	1	0	5.00E-01
Sphingorhabdus	1	0	5.00E-01
Staphylococcus	1	2	6.25E-01

Terrimicrobium	1	0	5.00E-01
Thermoactinomyces	1	3	3.75E-01
Tissierella	1	0	5.00E-01
Vagococcus	1	0	5.00E-01
Actinotalea	0	3	1.25E-01
Amaricoccus	0	1	5.00E-01
Amphibacillus	0	1	5.00E-01
Azoarcus	0	1	5.00E-01
Buchnera	0	1	5.00E-01
Burkholderia	0	1	5.00E-01
Caenimonas	0	2	2.50E-01
Candidatus Hydrogenedens	0	2	2.50E-01
Candidatus Koribacter	0	1	5.00E-01
Carnobacterium	0	2	2.50E-01
Clostridium III	0	2	2.50E-01
Comamonas	0	2	2.50E-01
Dietzia	0	1	5.00E-01
Euzebya	0	6	1.56E-02
Gemmobacter	0	2	2.50E-01
Glycomyces	0	5	3.13E-02
GpIV	0	3	1.25E-01
Granulicatella	0	2	2.50E-01
Haemophilus	0	3	1.25E-01
Haloarcula	0	2	2.50E-01
Hydrogenophilus	0	1	5.00E-01
Lactobacillus	0	4	6.25E-02
Lechevalieria	0	3	1.25E-01
Longispora	0	1	5.00E-01
Melghirimyces	0	1	5.00E-01
Methylotenera	0	1	5.00E-01
Modestobacter	0	7	7.81E-03
Myxococcus	0	2	2.50E-01
Nitrosomonas	0	2	2.50E-01
Oceanisphaera	0	1	5.00E-01
Olsenella	0	1	5.00E-01
Panacagrimonas	0	2	2.50E-01
Patulibacter	0	2	2.50E-01
Pelosinus	0	1	5.00E-01
Piscinibacter	0	2	2.50E-01
Psychrobacter	0	77	6.62E-24
Rathayibacter	0	13	1.22E-04

Rhodopirellula	0	1	5.00E-01
Romboutsia	0	4	6.25E-02
Shewanella	0	3	1.25E-01
Smaragdicoccus	0	2	2.50E-01
Streptococcus	0	5	3.13E-02
Truepera	0	4	6.25E-02
Ureibacillus	0	1	5.00E-01
Vasilyevaea	0	3	1.25E-01

Anexo 2. Género y número de secuencias en SNRF Y SNRD del cultivo de quinua.

Género	**SNRF**	**SNRD**	**Significancia**
Lactobacillus	0	80	8.27E-25
Cystobacter	1	68	1.20E-19
Blastococcus	130	474	6.00E-14
Gaiella	2998	3808	6.00E-14
Paenibacillus	498	48	6.00E-14
Pseudomonas	15	128	6.00E-14
Solirubrobacter	414	909	6.00E-14
Subdivision3_genera_incertae_sedis	542	170	6.00E-14
Aridibacter	123	32	2.80E-13
Geodermatophilus	36	128	1.26E-12
WPS-1_genera_incertae_sedis	575	358	1.26E-12
Gp6	1977	1571	5.24E-12
Gemmata	145	50	1.05E-11
Euzebya	2	44	1.60E-11
Ohtaekwangia	163	63	4.13E-11
Romboutsia	1	38	7.46E-11
Acinetobacter	9	65	8.07E-11
Pirellula	212	101	5.67E-10
Gp10	398	246	1.98E-09
Saccharibacteria_genera_incertae_sedis	181	85	3.65E-09
Gp3	208	107	1.20E-08
Pontibacter	36	3	1.95E-08
Gp17	93	186	3.81E-08
Nitrospira	112	45	1.16E-07
Saccharothrix	32	3	2.27E-07
Opitutus	116	50	3.40E-07
Planomicrobium	23	1	1.55E-06
Staphylococcus	2	26	1.62E-06

Rhodocytophaga	27	3	4.65E-06
Corynebacterium	0	16	1.53E-05
Myxococcus	0	16	1.53E-05
Streptophyta	4	27	1.93E-05
Kofleria	3	24	2.74E-05
Nitrosospira	3	24	2.74E-05
Litorilinea	43	12	4.13E-05
Skermanella	140	215	6.00E-05
Chryseolinea	47	17	1.80E-04
Zavarzinella	61	26	1.80E-04
Arenimonas	20	51	2.40E-04
Sporichthya	19	3	4.88E-04
Halomonas	0	11	4.88E-04
Acidovorax	1	14	5.19E-04
Terrimonas	25	6	6.40E-04
Solitalea	10	0	9.77E-04
Planifilum	1	13	9.77E-04
Microvirga	164	227	1.42E-03
Phyllobacterium	17	3	1.49E-03
Ferruginibacter	12	1	1.83E-03
Advenella	0	9	1.95E-03
Lentibacillus	0	9	1.95E-03
Gp1	14	2	2.35E-03
Novosphingobium	2	14	2.35E-03
Labrys	8	25	3.08E-03
Conexibacter	64	102	3.18E-03
Massilia	102	64	3.18E-03
Nocardioides	1200	1064	3.74E-03
Taibaiella	0	8	3.91E-03
Dongia	13	2	4.18E-03
Parasegetibacter	13	2	4.18E-03
Lentzea	42	20	5.12E-03
Flavisolibacter	33	14	5.60E-03
Dyadobacter	10	1	6.35E-03
Latescibacteria_genera_incertae_sedis	8	23	7.14E-03
Steroidobacter	25	48	7.14E-03
Actinophytocola	10	26	7.58E-03
Turicibacter	0	7	7.81E-03
Lysinibacillus	6	19	9.32E-03
Lacibacterium	40	20	9.88E-03
Propionibacterium	1	9	1.17E-02

Delftia	13	3	1.27E-02
Gp16	1157	1276	1.43E-02
Pseudonocardia	130	172	1.55E-02
Chitinophaga	0	6	1.56E-02
Domibacillus	6	0	1.56E-02
Friedmanniella	0	6	1.56E-02
Gp15	0	6	1.56E-02
Kocuria	0	6	1.56E-02
Lactococcus	0	6	1.56E-02
Neorhizobium	6	0	1.56E-02
Agromyces	125	90	1.68E-02
Catellatospora	1	8	2.15E-02
Niastella	8	1	2.15E-02
Chryseobacterium	10	2	2.25E-02
Chlorophyta	18	7	2.78E-02
Actinomyces	0	5	3.13E-02
Cryptosporangium	0	5	3.13E-02
Kibdelosporangium	5	0	3.13E-02
Kineosporia	0	5	3.13E-02
Oligoflexus	5	0	3.13E-02
Mesorhizobium	37	21	3.57E-02
Tepidisphaera	7	1	3.91E-02
Pedobacter	15	6	5.00E-02
Micromonospora	25	13	5.12E-02
Gp25	29	16	5.24E-02
Bacillariophyta	4	0	6.25E-02
Leuconostoc	0	4	6.25E-02
Tahibacter	4	0	6.25E-02
Turneriella	4	0	6.25E-02
Aquicella	2	8	6.54E-02
Asanoa	1	6	7.03E-02
Bradyrhizobium	33	20	7.35E-02
Gp7	316	273	7.51E-02
Arthrobacter	97	123	7.84E-02
Marmoricola	50	34	8.01E-02
Parcubacteria_genera_incertae_sedis	35	22	8.54E-02
Bosea	9	3	9.23E-02
Aquihabitans	13	23	9.49E-02
Streptomyces	33	48	9.49E-02
Streptococcus	2	7	1.09E-01
Methyloceanibacter	10	4	1.18E-01

Brevibacillus	3	0	1.25E-01
Burkholderia	0	3	1.25E-01
Cellvibrio	0	3	1.25E-01
Ensifer	0	3	1.25E-01
Geobacter	3	0	1.25E-01
Gracilibacter	3	0	1.25E-01
Jeotgalicoccus	0	3	1.25E-01
Olivibacter	3	0	1.25E-01
Sphaerisporangium	0	3	1.25E-01
Thermoactinomyces	0	3	1.25E-01
Tissierella	0	3	1.25E-01
Flavitalea	14	7	1.26E-01
Povalibacter	14	7	1.26E-01
Hyphomicrobium	5	11	1.43E-01
Singulisphaera	11	5	1.43E-01
Armatimonadetes_gp4	15	8	1.44E-01
Dactylosporangium	8	3	1.46E-01
Microlunatus	161	188	1.47E-01
Legionella	16	9	1.62E-01
Ramlibacter	26	17	1.71E-01
Modestobacter	2	6	1.80E-01
Nonomuraea	6	2	1.80E-01
Rhodococcus	7	13	1.80E-01
Gemmatimonas	243	272	2.01E-01
Aeromicrobium	208	183	2.04E-01
Herpetosiphon	10	5	2.10E-01
Chthonomonas/Armatimonadetes_gp3	70	56	2.11E-01
Nitrososphaera	4	1	2.19E-01
Planococcaceae_incertae_sedis	1	4	2.19E-01
Actinoplanes	7	3	2.27E-01
Rubellimicrobium	10	16	2.38E-01
Stenotrophomonas	16	10	2.38E-01
Acrocarpospora	2	0	2.50E-01
Alistipes	0	2	2.50E-01
Amaricoccus	0	2	2.50E-01
Amycolatopsis	2	0	2.50E-01
Cupriavidus	0	2	2.50E-01
Georgenia	2	0	2.50E-01
Parafilimonas	2	0	2.50E-01
Prevotella	0	2	2.50E-01
Rhodopirellula	0	2	2.50E-01

Rothia	0	2	2.50E-01
Saccharomonospora	0	2	2.50E-01
Salinicoccus	0	2	2.50E-01
Shimazuella	2	0	2.50E-01
Sphingosinicella	2	0	2.50E-01
Vibrio	0	2	2.50E-01
Virgibacillus	0	2	2.50E-01
Devosia	12	7	2.50E-01
Promicromonospora	22	15	2.50E-01
Rhizocola	21	29	2.58E-01
Brevundimonas	4	8	2.67E-01
Flavobacterium	8	4	2.67E-01
Microbacterium	18	12	2.71E-01
Craurococcus	2	5	2.89E-01
GpI	5	2	2.89E-01
Paenisporosarcina	5	2	2.89E-01
Armatimonas/Armatimonadetes_gp1	17	12	3.52E-01
Pedomicrobium	43	35	3.63E-01
Luteolibacter	8	12	3.73E-01
Actinomadura	3	1	3.75E-01
Aquisphaera	3	1	3.75E-01
Phaselicystis	1	3	3.75E-01
Roseimicrobium	3	1	3.75E-01
Sphingopyxis	3	1	3.75E-01
Glycomyces	4	7	3.88E-01
Gp18	7	4	3.88E-01
Kribbella	88	77	3.90E-01
Geminicoccus	60	69	4.30E-01
Gp5	34	28	4.47E-01
Peredibacter	24	19	4.47E-01
Rufibacter	16	12	4.47E-01
Nannocystis	2	4	4.53E-01
Rubrobacter	721	748	4.78E-01
Acetobacter	1	0	5.00E-01
Alterococcus	1	0	5.00E-01
Aminobacter	0	1	5.00E-01
Amphibacillus	0	1	5.00E-01
Anaerosalibacter	1	0	5.00E-01
Anoxybacillus	0	1	5.00E-01
Arcicella	1	0	5.00E-01
Bacteriovorax	1	0	5.00E-01

Bacteroides	0	1	5.00E-01
Bauldia	0	1	5.00E-01
Beijerinckia	0	1	5.00E-01
Blastocatella	1	0	5.00E-01
Brevibacterium	0	1	5.00E-01
Candidatus Hydrogenedens	1	0	5.00E-01
Candidatus Procabacter	0	1	5.00E-01
Candidatus Solibacter	1	0	5.00E-01
Capnocytophaga	0	1	5.00E-01
Catelliglobosispora	1	0	5.00E-01
Celerinatantimonas	0	1	5.00E-01
Compostibacillus	0	1	5.00E-01
Coxiella	1	0	5.00E-01
Enterococcus	0	1	5.00E-01
Fictibacillus	1	0	5.00E-01
Fluviicola	0	1	5.00E-01
Fonticella	1	0	5.00E-01
Fusobacterium	0	1	5.00E-01
Gardnerella	0	1	5.00E-01
Gracilibacillus	0	1	5.00E-01
Herbidospora	0	1	5.00E-01
Janibacter	1	0	5.00E-01
Janthinobacterium	1	0	5.00E-01
Lautropia	0	1	5.00E-01
Lechevalieria	0	1	5.00E-01
Leptotrichia	0	1	5.00E-01
Luteimonas	0	1	5.00E-01
Luteococcus	0	1	5.00E-01
Megamonas	0	1	5.00E-01
Melghirimyces	0	1	5.00E-01
Nevskia	1	0	5.00E-01
Nocardiopsis	0	1	5.00E-01
Noviherbaspirillum	0	1	5.00E-01
Olsenella	0	1	5.00E-01
Parachlamydia	0	1	5.00E-01
Peptoniphilus	0	1	5.00E-01
Pilimelia	0	1	5.00E-01
Planctomicrobium	0	1	5.00E-01
Porphyrobacter	0	1	5.00E-01
Porphyromonas	0	1	5.00E-01
Prosthecobacter	1	0	5.00E-01

Pseudoduganella	1	0	5.00E-01
Psychrobacter	0	1	5.00E-01
Rhodobacter	0	1	5.00E-01
Shewanella	1	0	5.00E-01
Sinibacillus	0	1	5.00E-01
Sneathia	0	1	5.00E-01
Solimonas	1	0	5.00E-01
Sphingobacterium	0	1	5.00E-01
Sphingorhabdus	1	0	5.00E-01
Sporobacter	1	0	5.00E-01
Sporosarcina	1	0	5.00E-01
Stackebrandtia	1	0	5.00E-01
Symbiobacterium	0	1	5.00E-01
Treponema	1	0	5.00E-01
Undibacterium	0	1	5.00E-01
Vampirovibrio	0	1	5.00E-01
Veillonella	0	1	5.00E-01
Verrucosispora	0	1	5.00E-01
Panacagrimonas	5	3	5.08E-01
Gp4	616	639	5.16E-01
Nibribacter	9	12	5.16E-01
Aciditerrimonas	4	6	5.49E-01
Gp22	6	4	5.49E-01
Iamia	6	4	5.49E-01
Sandaracinus	6	4	5.49E-01
Nocardia	12	15	5.62E-01
Segetibacter	17	14	5.89E-01
Pseudoxanthomonas	6	8	5.96E-01
Aeromonas	1	2	6.25E-01
Phycicoccus	1	2	6.25E-01
Sorangium	2	1	6.25E-01
Sphingobium	1	2	6.25E-01
Terrimicrobium	2	1	6.25E-01
Verrucomicrobium	1	2	6.25E-01
Cellulomonas	12	10	6.67E-01
Clostridium sensu stricto	3	2	6.88E-01
Deinococcus	2	3	6.88E-01
Kallotenue	2	3	6.88E-01
Oceanobacillus	2	3	6.88E-01
Oscillochloris	3	2	6.88E-01
Phenylobacterium	30	27	6.89E-01

Virgisporangium	33	30	7.04E-01
Anaeromyxobacter	4	3	7.27E-01
BRC1_genera_incertae_sedis	4	3	7.27E-01
Bdellovibrio	3	4	7.27E-01
Microgenomates_genera_incertae_sedis	4	3	7.27E-01
Variovorax	3	4	7.27E-01
Hymenobacter	17	19	7.41E-01
Reyranella	44	41	7.41E-01
Jiangella	5	4	7.54E-01
Labilithrix	5	4	7.54E-01
Actinocorallia	6	5	7.74E-01
Rhizobacter	5	6	7.74E-01
Actinomycetospora	6	7	7.79E-01
Polyangium	6	7	7.79E-01
Sphingomonas	747	757	7.95E-01
Ilumatobacter	646	637	8.03E-01
Bacillus	80	77	8.10E-01
Spartobacteria_genera_incertae_sedis	104	107	8.34E-01
Armatimonadetes_gp5	15	14	8.49E-01
Rhizobium	22	21	8.81E-01
Adhaeribacter	219	216	8.89E-01
Lysobacter	32	33	9.04E-01
Mycobacterium	147	145	9.04E-01
Gp11	3	3	1.00E+00
Agrococcus	1	1	1.00E+00
Campylobacter	1	1	1.00E+00
Caulobacter	5	5	1.00E+00
Cohnella	7	7	1.00E+00
Enhygromyxa	1	1	1.00E+00
Gimesia	1	1	1.00E+00
Gp2	1	1	1.00E+00
Inquilinus	1	1	1.00E+00
Intrasporangium	1	1	1.00E+00
Neisseria	1	1	1.00E+00
Pelosinus	1	1	1.00E+00
Roseomonas	2	2	1.00E+00
Sporacetigenium	2	2	1.00E+00
Sporomusa	1	1	1.00E+00
Streptosporangium	2	2	1.00E+00

Anexo 3. Ordenes identificados, y su número de secuencias determinadas en el suelo rizosférico y no rizosférico, de los suelos de alta fertilidad y degradado en el cultivo de quinua.

ORDEN	Cantidad de secuencias			
	Suelo de alta fertilidad		Suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Acidimicrobiales	17503	8349	22482	10342
Actinomycetales	6472	0	5312	3124
Aeromonadales	1670	0	2514	2108
Alphaproteobacteria_incertae_sedis	1906	0	2292	525
Alteromonadales	2201	1092	1971	523
Anaerolineales	2262	5710	1823	6389
Armatimonadales	1973	0	1348	362
Bacillales	1923	1123	1313	761
Bacteroidales	873	1813	1256	2589
Bdellovibrionales	1022	2549	1133	1917
Bifidobacteriales	1122	43	1099	16
Burkholderiales	907	0	931	634
Caldilineales	906	0	782	1262
Campylobacterales	815	2651	682	1383
Cardiobacteriales	602	0	612	867
Caulobacterales	961	1149	587	1228
Chlamydiales	640	595	567	460
Chloroflexales	957	1926	500	988
Chromatiales	335	0	475	94
Chthonomonadales	235	0	401	68
Clostridiales	475	190	355	101
Coriobacteriales	179	91	276	40
Cytophagales	83	0	174	5
Deinococcales	142	0	91	124
Desulfobacterales	126	229	86	62
Desulfovibrionales	82	19	76	11
Desulfuromonadales	48	0	69	39
Enterobacteriales	62	35	60	61
Erysipelotrichales	74	175	59	85
Euzebyales	57	619	47	56
Fimbriimonadales	42	0	47	40
Flavobacteriales	42	73	27	174
Fusobacteriales	24	0	27	29
Gaiellales	47	114	26	102
Gemmatimonadales	168	0	24	38

Halanaerobiales	75	31	24	21
Halobacteriales	27	175	23	44
Herpetosiphonales	16	17	23	1
Hydrogenophilales	3	3	20	191
Ignavibacteriales	14	5	19	7
Kallotenuales	12	149	17	4
Ktedonobacterales	10	37	16	31
Lactobacillales	1	10	11	85
Legionellales	5	0	9	1
Methanomicrobiales	11	10	6	3
Methylophilales	1	5	4	8
Myxococcales	0	0	4	0
Neisseriales	7	0	3	18
Nitrosomonadales	3	9	3	10
Nitrososphaerales	1	0	3	2
Nitrospirales	0	0	3	0
Oceanospirillales	0	0	3	0
Oligoflexales	3	0	2	8
Opitutales	2	0	2	5
Pasteurellales	0	0	2	3
Phycisphaerales	8	0	1	0
Planctomycetales	4	0	1	3
Procabacteriales	3	0	1	3
Pseudomonadales	1	0	1	0
Rhizobiales	0	0	1	0
Rhodobacterales	0	0	1	15
Rhodocyclales	4	0	0	0
Rhodospirillales	1	0	0	5
Rickettsiales	1	11	0	2
Rubrobacterales	1	0	0	1
Selenomonadales	1	7	0	0
Sneathiellales	1	0	0	0
Solirubrobacterales	1	0	0	0
Sphaerobacterales	1	0	0	0
Sphingobacteriales	0	1	0	19
Sphingomonadales	0	0	0	1
Spirochaetales	0	0	0	1
Synergistales	0	1	0	0
Syntrophobacterales	0	0	1	0
Tepidisphaerales	0	1	0	0
Thermales	0	0	0	2

Thermoleophilales	2	0	0	0
Thiotrichales	0	0	1	0
Verrucomicrobiales	0	1	0	0
Vibrionales	0	2	0	0
Xanthomonadales	0	99	0	0
Total	**63**	**35**	**60**	**61**

Anexo 4. Phylas y su número de secuencias, identificadas en los suelos rizosféricos y no rizosféricos de los suelos de alta fertilidad y degradado del cultivo de quinua.

	Cantidad de secuencias			
	Suelo de alta fertilidad		**Suelo degradado**	
PHYLA	**SRF**	**SNRF**	**SRD**	**SNRD**
Acidobacteria	5194	9451	3714	7734
Actinobacteria	25494	24481	30292	30683
Armatimonadetes	192	235	104	165
Bacteroidetes	5535	2390	4591	1407
BRC	8	10	5	4
candidate division WPS-	424	1436	371	586
Candidatus Saccharibacteria	726	377	579	154
Chlamydiae	10	37	16	31
Chloroflexi	863	1879	619	518
Cyanobacteria/Chloroplast	488	62	784	81
Deinococcus-Thermus	16	5	20	7
Elusimicrobia	0	0	0	0
Euryarchaeota	3	9	9	0
Fibrobacteres	0	2	0	0
Firmicutes	1011	2016	561	1390
Fusobacteria	1	0	0	5
Gemmatimonadetes	640	595	567	460
Hydrogenedentes	0	1	2	0
Ignavibacteriae	0	0	0	0
Latescibacteria	12	31	5	38
Microgenomates	5	11	0	3
Nitrospirae	74	175	59	85
Pacearchaeota	0	2	0	0
Parcubacteria	0	95	48	31
Planctomycetes	835	2712	707	1385
Proteobacteria	17076	0	16586	11539
Spirochaetes	1	7	0	0
Synergistetes	1	0	0	0

Thaumarchaeota	1	11	0	2
Verrucomicrobia	1496	1683	1386	797
Woesearchaeota	0	3	0	0
Total	**24**	**26**	**22**	**22**

Anexo 5. Clase y su número de secuencias, identificadas en los suelos rizosféricos y no rizosféricos de los suelos de alta fertilidad y degradado del cultivo de quinua.

	Cantidad de secuencias			
	Suelo de alata fertilidad		**Suelo degradado**	
CLASSE	**SRF**	**SNRF**	**SRD**	**SNRD**
Acidobacteria_Gp1	13	36	4	19
Acidobacteria_Gp10	252	670	307	378
Acidobacteria_Gp11	3	4	0	4
Acidobacteria_Gp15	0	0	0	7
Acidobacteria_Gp16	1449	0	1180	2154
Acidobacteria_Gp17	78	151	76	315
Acidobacteria_Gp18	14	13	0	7
Acidobacteria_Gp2	0	1	0	1
Acidobacteria_Gp22	0	12	0	7
Acidobacteria_Gp25	12	45	7	28
Acidobacteria_Gp3	288	437	178	264
Acidobacteria_Gp4	1125	1700	736	1379
Acidobacteria_Gp5	37	56	12	52
Acidobacteria_Gp6	1626	0	927	2623
Acidobacteria_Gp7	271	552	269	459
Acidobacteria_Gp9	0	0	0	0
Actinobacteria	23616	22094	28396	22094
Alphaproteobacteria	9678	0	9667	6877
Anaerolineae	27	175	23	44
Armatimonadia	75	31	24	21
Bacilli	964	1930	528	1183
Bacteroidia	0	1	0	19
Betaproteobacteria	2580	0	3149	1319
Caldilineae	126	229	86	62
Chlamydiia	10	37	16	31
Chloroflexia	109	185	104	21
Chloroplast	446	42	710	72
Chthonomonadetes	47	114	26	102
Clostridia	43	75	27	176
Cyanobacteria	36	19	51	5

Cytophagia	1923	1123	1313	761
Deinococci	16	5	20	7
Deltaproteobacteria	994	0	904	1367
Epsilonproteobacteria	0	0	0	1
Erysipelotrichia	0	0	1	15
Fimbriimonadia	0	0	0	0
Flavobacteriia	1122	43	1099	16
Fusobacteriia	1	0	0	0
Gammaproteobacteria	3534	0	2639	1726
Gemmatimonadetes	640	595	567	460
Halobacteria	2	0	5	0
Ignavibacteria	0	3	0	0
Ktedonobacteria	3	9	3	10
Methanomicrobia	0	0	1	0
Negativicutes	1	5	4	8
Nitrospira	74	175	59	85
Oligoflexia	8	0	1	0
Opitutae	476	192	355	103
Phycisphaerae	16	28	23	1
Planctomycetia	819	2658	684	1383
Spartobacteria	228	367	287	242
Sphingobacteriia	2201	1092	1971	523
Spirochaetia	1	7	0	0
Subdivision	372	1014	236	327
Synergistia	1	0	0	0
Thermoleophilia	0	99	0	0
Thermomicrobia	113	728	130	114
Thermoplasmata	0	6	0	0
Verrucomicrobiae	179	91	276	40
Total	**47**	**42**	**42**	**48**

Anexo 6. Familia y su número de secuencias determinadas en los suelos rizosféricos y no rizosféricpos de los suelos de alta fertilidad y degradado en el cultivo de quinua.

FAMILIA	cantidad de secuencias			
	suelo de alta fertilidad		suelo degradado	
	SRF	SNRF	SRD	SNRD
Acetobacteraceae	81	0	81	109
Acidimicrobiaceae	579	1149	467	1080
Acidimicrobineae_incertae_sedis	1	136	5	8
Actinomycetaceae	0	0	0	9
Aerococcaceae	0	0	0	3
Aeromonadaceae	4	0	1	3
Alcaligenaceae	11	0	11	13
Alteromonadaceae	1	0	0	0
Anaerolineaceae	27	175	23	44
Armatimonadaceae	75	31	24	21
Aurantimonadaceae	5	0	10	0
Bacillaceae	122	637	94	222
Bacillales_Incertae Sedis XII	30	0	118	0
Bacteriovoracaceae	35	0	48	28
Bacteroidaceae	0	0	0	1
Bdellovibrionaceae	13	0	21	11
Beijerinckiaceae	4	0	2	2
Bifidobacteriaceae	0	0	0	1
Bogoriellaceae	3	4	1	0
Bradyrhizobiaceae	98	0	146	97
Brevibacteriaceae	0	0	0	1
Brucellaceae	3	0	4	1
Burkholderiaceae	5	0	4	11
Burkholderiales_incertae_sedis	4	0	19	2
Caldilineaceae	126	229	86	62
Campylobacteraceae	0	0	0	1
Cardiobacteriaceae	0	0	1	0
Carnobacteriaceae	0	0	6	3
Caulobacteraceae	330	0	474	89
Celerinatantimonadaceae	0	0	0	2
Cellulomonadaceae	71	42	67	32
Chitinophagaceae	1671	989	1074	501
Chloroplast	446	42	710	72
Chromatiaceae	1	0	1	2

Chthonomonadaceae	47	114	26	102
Clostridiaceae	12	16	3	11
Clostridiales_Incertae Sedis XI	2	1	1	10
Clostridiales_Incertae Sedis XVIII	0	0	0	2
Comamonadaceae	563	475	927	165
Conexibacteraceae	85	264	147	171
Coriobacteriaceae	0	0	2	3
Corynebacteriaceae	2	0	0	26
Coxiellaceae	3	0	3	13
Cryomorphaceae	12	1	66	2
Cryptosporangiaceae	8	2	3	5
Cyclobacteriaceae	43	0	39	1
Cystobacteraceae	7	0	7	117
Cytophagaceae	1264	558	822	455
Deinococcaceae	14	5	11	4
Demequinaceae	1	1	0	0
Dermabacteraceae	2	0	0	1
Dietziaceae	0	0	1	0
Ectothiorhodospiraceae	0	0	0	1
Enterobacteriaceae	168	0	24	38
Enterococcaceae	2	0	0	1
Erysipelotrichaceae	0	0	1	15
Erythrobacteraceae	87	0	50	27
Euzebyaceae	1	10	11	85
Family I	6	15	2	3
Family IV	0	0	3	0
Flavobacteriaceae	1107	42	1027	14
Fusobacteriaceae	0	0	0	1
Gaiellaceae	2262	5710	1823	6389
Gemmatimonadaceae	640	595	567	460
Geobacteraceae	0	0	1	0
Geodermatophilaceae	973	501	1498	1871
Glycomycetaceae	3	12	8	13
Gracilibacteraceae	2	9	1	0
Halanaerobiaceae	0	0	3	2
Halomonadaceae	7	0	3	18
Heliobacteriaceae	0	1	1	0
Herpetosiphonaceae	82	19	76	11
Hydrogenophilaceae	1	0	1	0
Hyphomicrobiaceae	193	0	325	178
Iamiaceae	92	373	183	157

Intrasporangiaceae	860	364	523	194
Jiangellaceae	3	154	0	4
Kallotenuaceae	12	149	17	4
Kineosporiaceae	19	18	26	53
Kofleriaceae	10	0	7	41
Ktedonobacteraceae	0	6	1	1
Labilitrichaceae	15	0	9	8
Lachnospiraceae	0	2	0	9
Lactobacillaceae	1	1	7	149
Legionellaceae	21	0	24	16
Leptospiraceae	1	6	0	0
Leptotrichiaceae	1	0	0	4
Leuconostocaceae	0	0	0	10
Methylobacteriaceae	248	0	425	505
Methylocystaceae	1	0	2	1
Methylophilaceae	83	0	174	5
Microbacteriaceae	1251	495	1322	478
Micrococcaceae	7465	644	11094	873
Micromonosporaceae	416	469	318	707
Moraxellaceae	77	0	148	100
Mycobacteriaceae	160	335	158	247
Myxococcaceae	7	0	7	29
Nakamurellaceae	0	1	0	0
Nannocystaceae	60	0	46	70
Neisseriaceae	3	0	1	3
Nitrosomonadaceae	42	0	47	40
Nitrososphaeraceae	1	11	0	2
Nitrospiraceae	74	175	59	85
Nocardiaceae	207	32	297	39
Nocardioidaceae	4236	3213	5057	2785
Nocardiopsaceae	0	0	2	2
Oligoflexaceae	8	0	1	0
Opitutaceae	475	190	355	101
Oscillochloridaceae	10	5	4	2
Oxalobacteraceae	1032	0	1088	194
Paenibacillaceae	67	915	33	108
Parachlamydiaceae	8	16	7	18
Pasteurellaceae	0	0	5	0
Patulibacteraceae	0	1	3	0
Peptoniphilaceae	0	0	0	1
Peptostreptococcaceae	5	11	12	112

Phaselicystidaceae	4	0	3	5
Phyllobacteriaceae	71	0	78	62
Planctomycetaceae	815	2651	682	1383
Planococcaceae	203	102	80	70
Polyangiaceae	112	0	101	155
Porphyromonadaceae	0	0	0	7
Prevotellaceae	0	0	0	2
Procabacteriaceae	1	0	0	1
Promicromonosporaceae	65	39	109	34
Propionibacteriaceae	271	318	204	391
Pseudomonadaceae	1896	0	1200	262
Pseudonocardiaceae	512	735	540	585
Rhizobiaceae	219	0	509	82
Rhizobiales_incertae_sedis	2	0	3	4
Rhodobacteraceae	235	0	401	68
Rhodobiaceae	11	0	6	30
Rhodocyclaceae	5	0	9	1
Rhodospirillaceae	439	0	430	526
Rhodothermaceae	4	6	1	3
Rikenellaceae	0	0	0	4
Rubrobacteraceae	961	1149	587	1228
Ruminococcaceae	12	20	7	8
Sandaracinaceae	11	0	13	9
Sanguibacteraceae	20	1	9	0
Saprospiraceae	2	11	0	0
Shewanellaceae	0	0	3	0
Simkaniaceae	0	1	0	0
Sinobacteraceae	150	0	136	269
Sneathiellaceae	4	0	0	0
Solirubrobacteraceae	481	832	611	1501
Sphaerobacteraceae	57	619	47	56
Sphingobacteriaceae	523	57	895	19
Sphingomonadaceae	6073	0	4881	3014
Spirochaetaceae	0	1	0	0
Sporichthyaceae	23	27	31	8
Staphylococcaceae	3	4	3	48
Streptococcaceae	0	2	7	22
Streptomycetaceae	220	374	363	609
Streptosporangiaceae	8	25	8	27
Synergistaceae	1	0	0	0
Syntrophobacteraceae	1	0	0	0

Tepidisphaeraceae	16	17	23	1
Thermaceae	1	0	0	0
Thermoactinomycetaceae	6	5	6	29
Thermoleophilaceae	0	99	0	0
Thermomonosporaceae	9	10	10	17
Trueperaceae	0	0	6	1
Veillonellaceae	0	5	4	8
Verrucomicrobiaceae	179	91	276	40
Vibrionaceae	2	0	2	5
Xanthobacteraceae	17	0	24	41
Xanthomonadaceae	757	0	794	358
Total	**131**	**79**	**133**	**141**

Anexo 7. Análisis de suelos, caracterización del suelo de alta fertilidad

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : PNIA

Departamento : HUANCAVELICA
Distrito : HUANDO
Referencia : H.R. 58704-068SC-17

Fact.: Pendiente

Provincia : HUANCAVELICA
Predio :
Fecha : 02/06/17

Número de Muestra								Análisis Mecánico			Clase		Cationes Cambiables						Suma	Suma	%
Lab	Claves	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	$CaCO_3$ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Arena %	Limo %	Arcilla %	Textural	CIC	Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^{+}	Na^{+}	$Al^{+3} + H^{+}$		de Cationes	de Bases	Sat. De Bases
													meq/100g								
3948	F2	8.13	0.21	10.20	1.98	8.8	390	36	27	37	Fr.Ar.	31.20	28.08	1.97	0.94	0.21	0.00		31.20	31.20	100
3949	F3	8.21	0.16	10.30	1.58	8.8	371	38	27	35	Fr.Ar.	27.84	25.05	1.78	0.78	0.23	0.00		27.84	27.84	100
3950	FA1	7.93	0.55	9.10	1.72	53.2	227	40	27	33	Fr.Ar.	29.60	26.92	1.80	0.49	0.39	0.00		29.60	29.60	100
3951	FA2	7.83	0.78	9.10	1.77	61.5	182	44	25	31	Fr.Ar.	27.84	25.31	1.72	0.39	0.43	0.00		27.84	27.84	100
3952	FA3	7.76	0.76	9.70	1.72	40.6	261	40	25	35	Fr.Ar.	29.76	26.99	1.72	0.56	0.49	0.00		29.76	29.76	100
3953	FAS1	7.87	0.67	9.00	1.77	33.2	248	42	27	31	Fr.Ar.	27.20	24.37	1.92	0.54	0.37	0.00		27.20	27.20	100
3954	FAS2	8.07	0.32	9.50	1.97	18.5	303	38	29	33	Fr.Ar.	29.60	26.57	2.07	0.64	0.32	0.00		29.60	29.60	100
3955	FAS3	8.00	0.39	9.40	2.96	25.9	287	40	27	33	Fr.Ar.	29.44	26.46	1.98	0.64	0.36	0.00		29.44	29.44	100

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso;
Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso

Laboratorio de Suelos, Agua y Plantas LASPAF UNALM

Dr. Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 8. Análisis de suelos, caracterización del suelo degradado

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

ANALISIS DE SUELOS : CARACTERIZACION

Solicitante : PNIA

Departamento : HUANCAVELICA
Distrito : HUANDO
Referencia : H.R. 58704-068SC-17

Provincia : HUANCAVELICA
Predio :
Fecha : 02/06/17

Número de Muestra		pH	C.E.	$CaCO_3$	M.O.	P	K	Análisis Mecánico			Clase	CIC	Cationes Cambiables					Suma	Suma	%
Lab	Claves		(1:1)					Arena	Limo	Arcilla	Textural		Ca^{+2}	Mg^{+2}	K^{+}	Na^{+}	$Al^{+3} + H^{+}$	de Cationes	de Bases	Sat. De Bases
		(1:1)	dS/m	%	%	ppm	ppm	%	%	%		meq/100g								
3938	D1	7.80	0.57	14.30	1.08	33.4	148	42	31	27	Fr.Ar.	21.44	18.88	1.92	0.30	0.34	0.00	21.44	21.44	100
3939	D2	8.13	0.16	14.30	0.63	4.7	190	42	31	27	Fr.Ar.	21.60	19.09	1.82	0.47	0.23	0.00	21.60	21.60	100
3940	D3	8.27	0.12	16.80	0.17	3.4	165	38	35	27	Fr.Ar.	22.08	18.21	3.40	0.32	0.15	0.00	22.08	22.08	100
3941	DA1	7.67	1.28	14.00	0.92	77.6	193	42	31	27	Fr.Ar.	22.40	20.00	1.80	0.36	0.24	0.00	22.40	22.40	100
3942	DA2	7.84	0.87	13.90	0.86	59.9	106	42	29	29	Fr.Ar.	22.40	20.07	1.82	0.19	0.32	0.00	22.40	22.40	100
3943	DA3	8.24	0.13	17.30	1.02	6.3	177	44	29	27	Fr.Ar.	22.08	20.33	1.20	0.33	0.23	0.00	22.08	22.08	100
3944	DAS1	7.91	0.52	13.50	1.45	33.3	119	42	27	31	Fr.Ar.	23.52	21.28	1.77	0.22	0.25	0.00	23.52	23.52	100
3945	DAS2	7.89	0.47	13.50	1.60	26.2	108	40	31	29	Fr.Ar.	24.00	21.68	1.82	0.22	0.29	0.00	24.00	24.00	100
3946	DAS3	7.84	0.55	13.50	1.52	28.1	135	42	29	29	Fr.Ar.	25.28	23.03	1.75	0.25	0.25	0.00	25.28	25.28	100
3947	F1	8.16	0.19	10.10	2.07	8.0	439	40	27	33	Fr.Ar.	27.20	23.92	1.88	1.23	0.17	0.00	27.20	27.20	100

A = Arena ; A.Fr. = Arena Franca ; Fr.A. = Franco Arenoso ; Fr. = Franco ; Fr.L. = Franco Limoso ; L = Limoso ; Fr.Ar.A. = Franco Arcillo Arenoso ; Fr.Ar. = Franco Arcilloso; Fr.Ar.L. = Franco Arcillo Limoso ; Ar.A. = Arcillo Arenoso ; Ar.L. = Arcillo Limoso ; Ar. = Arcilloso

Sady García Bendezú
Jefe del Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 9. Analis foliar del cultivo de quinua del suelo de alta fertilidad

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANALISIS FOLIAR

SOLICITANTE : PNIA
PROCEDENCIA : HUANCAVELICA/ HUANCAVELICA/ HUANDO
MUESTRA DE : HOJAS DE QUINUA
REFERENCIA : H.R. 58705
FECHA : 02/06/2017

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	N %	P %	K %	Ca %	Mg %	S %	Na %	Zn ppm	Cu ppm	Mn ppm	Fe ppm	B ppm	M.S. %
3673	F1	3.40	0.31	3.75	2.09	0.70	0.36	0.02	48	5	244	109	40	21.89
3674	F2	3.90	0.33	4.15	2.48	0.89	0.32	0.02	49	5	235	117	50	20.90
3675	F3	3.40	0.27	3.80	2.17	0.71	0.30	0.03	37	5	239	87	35	22.48
3676	FA1	5.10	0.37	4.10	2.53	0.90	0.29	0.02	31	5	207	112	36	20.03
3677	FA2	6.00	0.35	4.20	2.65	1.00	0.27	0.03	31	4	194	81	35	19.92
3678	FA3	6.00	0.34	3.80	2.77	0.95	0.30	0.03	41	8	172	101	33	19.31
3679	FAS1	3.80	0.31	4.23	3.18	1.18	0.31	0.02	30	6	211	115	46	21.11
3680	FAS2	4.60	0.30	3.10	2.94	0.93	0.30	0.02	35	6	162	103	40	19.26
3681	FAS3	4.60	0.25	3.20	2.90	1.13	0.34	0.02	39	12	142	100	50	20.14

LASPAF UNALM
Dr. Sady García Bendezú
Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Anexo 10. Análisis foliar del cultivo de quinua del suelo degradado

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA LA MOLINA
FACULTAD DE AGRONOMIA - DEPARTAMENTO DE SUELOS
LABORATORIO DE ANALISIS DE SUELOS, PLANTAS, AGUAS Y FERTILIZANTES

INFORME DE ANALISIS FOLIAR

SOLICITANTE : PNIA
PROCEDENCIA : HUANCAVELICA/ HUANCAVELICA/ HUANDO
MUESTRA DE : HOJAS DE QUINUA
REFERENCIA : H.R. 58705
FECHA : 02/06/2017

N. Lab.	CLAVE DE CAMPO	N %	P %	K %	Ca %	Mg %	S %	Na %	Zn ppm	Cu ppm	Mn ppm	Fe ppm	B ppm	M.S. %
3664	D1	3.10	0.27	4.05	2.97	1.03	0.30	0.03	48	4	208	85	36	22.10
3665	D2	4.40	0.29	5.15	2.66	0.87	0.22	0.02	45	6	132	113	30	20.70
3666	D3	3.60	0.24	4.20	3.69	0.96	0.20	0.03	36	5	167	91	32	21.82
3667	DA1	4.80	0.39	4.58	2.87	1.00	0.25	0.02	44	8	118	110	19	21.01
3668	DA2	4.80	0.23	4.75	2.59	1.01	0.24	0.03	47	8	142	139	23	18.47
3669	DA3	4.80	0.36	4.10	2.48	1.01	0.26	0.03	47	8	114	104	16	20.00
3670	DAS1	5.00	0.34	5.20	2.67	1.15	0.28	0.03	32	6	109	134	20	20.67
3671	DAS2	5.40	0.28	4.78	3.03	1.10	0.28	0.02	29	6	120	122	22	20.76
3672	DAS3	5.40	0.35	4.80	2.86	1.15	0.30	0.02	37	7	162	124	22	20.13

LASPAF UNALM
Dr. Sady García Bendezu
Jefe de Laboratorio

Av. La Molina s/n Campus UNALM - Telf.: 614-7800 Anexo 222 Teléfono Directo: 349-5622 e-mail: labsuelo@lamolina.edu.pe

Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
General ¿Qué géneros bacterianos se hallan hospedadas en la rizósfera de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd*)* cultivada en suelo de alta fertilidad y degradado, en Huando – Huancavelica?	**General** Caracterizar poblaciones bacterianas asociadas a la rizósfera de quinua cultivada en suelo de alta fertilidad y suelo degradado, empleando el método independiente de cultivo celular, en Huando-Huancavelica.	**General** **Ho**: La población bacteriana asociada a la rizosfera de quinua, evaluada mediante el método independiente, no difieren en siembras realizadas en suelos de alta fertilidad y degradado, en Huando- Huancavelica. **Ha:** La población bacteriana asociada a la rizosfera de quinua, evaluada mediante el método independiente, difieren en siembras realizadas en suelos de alta fertilidad y degradado, en Huando- Huancavelica.	**Independiente** ✓ Suelo rizosferico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad ✓ Suelo rizosferico de quinua sembrada en suelo degradado ✓ Suelo no rizosferico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad ✓ Suelo no rizosferico de quinua sembrada en suelo degradado	**Extracción de ADN:** Descrito por power soild MOBIO espresa fabricante de este producto específico para la extracción de ADN de muestras de suelo. **Secuenciación:** La metodología empleada es Illumina Miseq, 2017. **Análisis bioinformático**: Se procesaran los datos con programas: FQ, RDP 11, SEED 2.01, Mothur y Excel.
	Específicos • Determinar los géneros bacterianos de		**Dependiente**	

	la rizósfera y suelo no rizosférico de quinua cultivada en suelo de alta fertilidad. • Determinar los géneros bacterianos de la rizósfera y suelo no rizosférico de quinua cultivada en suelo degradado.		✓ Géneros bacterianos en la rizosfera de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad ✓ Géneros bacterianos en el suelo no rizosferérico de quinua sembrada en suelo de alta fertilidad. ✓ Géneros bacterianos en la rizosfera de quinua sembrada en suelo degradado. ✓ Géneros bacterianos en el suelo no rizosferérico de quinua sembrada en suelo degradado.	