UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

COMPOSICIÓN MICROBIOLOGICA DE *Clitoria ternatea* EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ

TESIS DE GRADO

Trabajo de titulación presentado como requisito para la obtención del título de

MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA

AUTOR

CHAPMAN INTRIAGO JORGE LUIS

TUTOR

PhD. PAOLA LÓPEZ COLOM, MSc

GUAYAQUIL – ECUADOR

2021

UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL TUTOR

Yo, PAOLA LÓPEZ COLOM, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, en mi calidad de Tutor, certifico que el presente trabajo de titulación: **COMPOSICIÓN MICROBIOLOGICA DE *Clitoria ternatea* EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ**, realizado por el estudiante CHAPMAN INTRIAGO JORGE LUIS; con cédula de identidad N°1206012294 de la carrera MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, Unidad Académica Guayaquil, ha sido orientado y revisado durante su ejecución; y cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto, se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

……
PhD. PAOLA LÓPEZ COLOM, MSc.

Guayaquil, 27 de octubre del 2021

UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN

Los abajo firmantes, docentes designados por el H. Consejo Directivo como miembros del Tribunal de Sustentación, aprobamos la defensa del trabajo de titulación: "**COMPOSICIÓN MICROBIOLOGICA DE *Clitoria ternatea* EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ**", realizado por el estudiante CHAPMAN INTRIAGO JORGE LUIS, el mismo que cumple con los requisitos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador.

Atentamente,

_____

MVZ. Nahim Jorgge Barquet, MSc.
PRESIDENTE

_____ _____

Mvz. Washington Yoong Kuffo, MSc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Dr. Fabrizio Arcos Alcivar, MSc.
EXAMINADOR PRINCIPAL

Guayaquil,27 de octubre del 2021

Dedicatoria

A Dios que me brinda seguridad y guía en cada paso de mi vida.

Con profundo amor a mis Padres, quienes han contribuido para que culmine un sueño que a medida que transcurría el tiempo iba tomando forma, para finalmente hacerse realidad.

A mis queridas hermanas y demás familia en general por el constante apoyo y cariño que me brindaron para que yo alcance las metas propuestas.

Jorge

Agradecimiento

El autor deja constancia de su agradecimiento a:

La Universidad Agraria del Ecuador, Institución digna y grande que me acogió como estudiante.

Las Autoridades de la Universidad.

Ing. Msc. Martha Bucaram Leverone de Jorgge, PhD, Rectora de la Universidad por su gestión en beneficio de la Comunidad Universitaria.

Dr. Washington Yoong Kuffo, Decano de la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia por su gestión y apoyo a los estudiantes.

Finalmente, a la Dra. Paola López Coloma, Por sus recomendaciones, ayuda y constante motivación para la exitosa culminación de esta investigación de tesis.

Autorización de Autoría Intelectual

Yo CHAPMAN INTRIAGO JORGE LUIS, en calidad de autor(a) del proyecto realizado, sobre "**COMPOSICIÓN MICROBIOLOGICA DE *Clitoria ternatea* EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ**" para optar el título de **MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**, por la presente autorizo a la UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR, hacer uso de todos los contenidos que me pertenecen o parte de los que contienen esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autor(a) me correspondan, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a mi favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8; 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

Guayaquil, 27 de octubre del 2021

……..
CHAPMAN INTRIAGO JORGE LUIS
C.I. 1206012294

Índice general

APROBACIÓN DEL TUTOR 2

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE SUSTENTACIÓN 3

Dedicatoria 4

Agradecimiento 5

Autorización de Autoría Intelectual 6

Índice general 7

Índice de Tablas 10

Índice de Figuras 11

Resumen 12

Abstract 13

1. Introducción 15

1.1 Antecedentes del problema 15

1.2 Planteamiento y formulación del problema 16

1.2.1 Planteamiento del problema 16

1.2.2 Formulación del problema 16

1.3 Justificación de la investigación 16

1.4 Delimitación de la investigación. 17

1.5 Objetivo general 17

1.5.1. Objetivos específicos 18

1.6. Hipótesis 18

2. Marco teórico 19

2.1 Estado del arte 19

2.1.1. Leguminosas 19

2.1.2. Características botánicas de las leguminosas 20

2.1.3. El suelo y la rizosfera 21
2.1.4. Conchita azul *(Clitoria ternatea*) 22
2.1.4.1. Nombres comunes 22
2.1.4.3. Características 23
2.1.4.4. Utilización 24
2.1.4.5. Adaptación 25
2.1.5. La simbiosis rizobio-leguminosa 27
2.1.6. Microorganismos en la rizosfera 28
2.1.6.1. Solubilizadores de fosforo 29
2.1.6.2. Bacterias fijadoras de nitrógeno 29
2.1.6.3. Hongos 31
2.1.6.4. Actinomicetos 32
2.1.6.5. Nitrógeno en el crecimiento vegetal 33
2.1.6.6. Rhizobium 34
2.1.6.7. Pseudomonas 35
2.2. Investigaciones 35
2.3. Marco legal 38
3. Materiales y métodos 41
3.1. Enfoque de la investigación 41
3.1.1 Tipo de investigación 41
3.1.2 Diseño de investigación 41
3.2. Metodología 41
3.2.1. Variables 41
3.2.1.1. Variable independiente 41
3.2.1.2. Variable dependiente 41

3.2.2. Tratamientos 42
3.2.3. Diseño experimental 42
3.2.4. Recolección de datos 42
3.2.4.1. Recursos 43
3.2.4.2. Métodos y técnicas 44
3.2.5. Análisis estadístico 44
4. Resultados 45
4.1. Variables agronómicas de la *Clitoria ternatea* en cada uno de los estados de madurez. 45
4.1.1. Altura de planta (cm) 45
4.1.2. Longitud (cm) y peso de raíz (g) 46
4.1.3. Peso (g) de hojas y tallos 47
4.1.4. Número de ramas 48
4.2. Composición del suelo y microbiológica de la *Clitoria ternatea* en Unidades Formadoras de Colonia para bacterias y hongos. 49
4.2.1. Análisis de suelo 49
4.2.2. Análisis microbiológico 50
4.3. Composición bromatológica y foliar de *Clitoria ternatea* 50
4.3.1. Composición bromatológica 50
4.3.2. Composición de tejidos (foliar) 51
5. Discusión 52
6. Conclusiones 56
7. Recomendaciones 57
8. Bibliografía 58
9. Anexos 67

Índice de Tablas

.

Tabla 1. Tratamientos bajo estudio 42

Tabla 2. Análisis de varianza 42

Tabla 3. Esquema del experimento..... 43

Tabla 4. Recursos utilizados en la investigación..... 43

Tabla 5. Análisis de varianza de altura de planta..... 45

Tabla 6. Análisis de varianza de longitud de raíz 46

Tabla 7. Análisis de varianza de peso de raíz..... 46

Tabla 8. Longitud (cm) y peso de raíz (g) de *Clitoria ternatea* 47

Tabla 9. Análisis de varianza del peso de hojas 47

Tabla 10. Análisis de varianza del peso de tallos..... 47

Tabla 11. Peso (g) de hojas y tallos de *Clitoria Ternatea*..... 48

Tabla 12. Análisis de varianza del número de ramas..... 48

Tabla 13. Análisis de suelo para la siembra de *Clitoria ternatea*..... 49

Tabla 14. Análisis microbiológico de *Clitoria ternatea*..... 50

Tabla 15. Composición bromatológica de *Clitoria ternatea*..... 51

Tabla 16. Composición foliar de *Clitoria ternatea*..... 51

Índice de Figuras

Figura 1. Absorción, reducción y acumulación de nitrato en los diferentes tejidos de la planta. Ciclo de los aminoácidos 67

Figura 2. Diagrama de flujo de la investigación..... 67

Figura 3. Altura de planta (cm) de *Clitoria ternatea*..... 45

Figura 4. Número de ramas de *Clitoria ternatea* 48

Figura 5. Llenado de fundas para la investigación 68

Figura 6. Planta de Clitoria ternatea en sus primeros días..... 68

Figura 7. Toma de datos de altura de planta (cm)..... 69

Figura 8. Peso de raíz (g) de *Clitoria ternatea*..... 69

Figura 9. Presencia de nódulos en el sistema radicular de Clitoria ternatea.... 70

Figura 10. Preparación de muestra para envió a los laboratorios 70

Resumen

Las zonas tropicales poseen la mayor diversidad genética vegetal en el mundo, entre esta diversidad se encuentra la *Clitoria ternatea* que sobresale por su excelente adaptación a las condiciones tropicales y subtropicales por este motivo se planteó como objetivo determinar las variables agronómicas de la *Clitoria ternatea* en uno de los estados de madurez, evaluar la composición microbiológica en Unidades Formadoras de Colonia (UFC), para bacterias y hongos, se empleó un diseño completamente al azar (DCA) con repeticiones, tres tratamientos y cinco unidades experimentales, las variables evaluadas fueron altura de planta (cm), longitud de raíz (cm), peso de raíz (g), peso de hojas y tallo (g), número de ramas, análisis microbiológico, composición bromatológica y foliar (%). Los resultados agronómicos indicaron que a los 50 días se registró la mayor altura de planta con 61,63 cm; longitud de raíz con 38,75 cm; peso de raíz con 23,00 g; peso de hojas con 19,50 g; número de ramas con 4,63 en la parte microbiológica se observó bacterias con 4,10 x 10^4 UFC y menos de 10 UFC para hongos y levaduras, se reportó la presencia de *Rhizobium,* el nivel de proteína para hojas fue de 20,94% y para tallos 14,25%, en la parte foliar existe una alta concentración de nitrógeno, potasio y calcio en las hojas y de fósforo para los tallos. Se debe seguir realizando investigaciones para conocer a nivel de la rizosfera de *Clitoria ternatea* la presencia de otros microorganismos promotores de crecimiento vegetal.

Palabras clave: *Clitoria ternatea*; estado de madurez; microbiología; morfoagronomía

Abstract

The tropics have the greatest plant genetic diversity in the world, among this diversity is the *Clitoria ternatea* that stands out for its excellent adaptation to tropical and subtropical conditions, for this reason the objective was to determine the agronomic variables of the *Clitoria ternatea* in one of the maturity stages, evaluate the microbiological composition in Colony Forming Units (UFC), for bacteria and fungi, a completely randomized design (DCA) with repetitions, three treatments and five experimental units was used, the variables evaluated were plant height (cm) , root length (cm), root weight (g), leaf and stem weight (g), number of branches, microbiological analysis, bromatological and foliar composition (%). The agronomic results indicated that at 50 days the highest plant height was recorded with 61.63 cm; root length 38.75 cm; root weight with 23.00 g; weight of leaves with 19.50 g; number of branches with 4.63 in the microbiological part, bacteria with 4.10 x 10^4 UFC and less than 10 UFC for fungi and yeasts, the presence of *Rhizobium* was reported, the protein level for leaves was 20.94% and for stems 14.25%, in the foliar part there is a high concentration of nitrogen, potassium and calcium in the leaves and of phosphorus for the stems. Research should continue to determine the presence of other plant growth-promoting microorganisms at the level of the Clitoria ternatea rhizosphere.

Keywords: *Clitoria ternatea*; state of maturity; microbiology; morphoagronomy

UNIVERSIDAD AGRARIA DEL ECUADOR
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA
CARRERA DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

APROBACIÓN DEL ABSTRACT

Yo, PAOLA LÓPEZ COLOM, docente de la Universidad Agraria del Ecuador, **CERTIFICO** que he procedido a la **REVISIÓN DEL ABSTRACT** del presente trabajo de titulación: **COMPOSICIÓN MICROBIOLOGICA DE *Clitoria ternatea* EN DIFERENTES ESTADOS DE MADUREZ**, realizado por el estudiante CHAPMAN INTRIAGO JORGE LUIS; con cédula de identidad N°1206012294 de la carrera MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, Unidad Académica Guayaquil, el mismo que cumple con los requisitos técnicos exigidos por la Universidad Agraria del Ecuador; por lo tanto se aprueba la presentación del mismo.

Atentamente,

.....
PhD. PAOLA LÓPEZ COLOM, MSc.

Guayaquil, 27 de octubre del 2021

1. Introducción

1.1 Antecedentes del problema

Las leguminosas forrajeras son de gran importancia promisoria para el trópico entre ellas se encuentra *Clitoria ternatea* que es considerada como la alfalfa del trópico, el poco uso debe principalmente al desconocimiento existente por parte de los productores en cuanto a los beneficios que esta planta puede aportar a los sistemas agropecuarios como fuente de proteína y como fijador de nitrógeno en el suelo, lo cual con lleva a una disminución de gastos por fertilización (Ponce, 2014). Esta especie forrajera es de ciclo perenne, con buenas características agronómicas y zootécnicas, presenta altos rendimientos de materia (MS) (8 t ha^{-1} $año^{-1}$), buena calidad nutritiva (el contenido de proteína en la materia seca varía de 24-30%) (Bogdan, 1977; Skerman, 1977; Peralta, 1988; Córdoba y Peralta, 1988) citado por (Medel, 2008).

Las leguminosas se cultivan en aproximadamente 250 millones de ha en el mundo, con el fin principal de obtener granos y forrajes. En este marco, las mismas metabolizan unas 90 t de N_2, por año mediante el proceso de fijación biológica de nitrógeno (Divito & Sadras, 2014).

La leguminosa *Clitoria ternatea* a menudo se encuentra en tierras negras y arcillosas, crece naturalmente en pastizales y matorrales característicos de las regiones tropicales y subtropicales. Se han realizado trabajos de investigación a nivel del trópico y subtrópico ecuatoriano valorando su respuesta agronómica, microbiológica y fitoquímica (Luna, 2014)**.**

1.2 Planteamiento y formulación del problema

1.2.1 Planteamiento del problema

Las leguminosas son muy diversas en su morfología, hábitat y ecología, desde las plantas anuales del ártico, hasta los árboles tropicales. Sin embargo, la gran mayoría de ellas son infectadas por los rizobios, con aproximadamente 700 géneros y 18000 especies, la familia Leguminosae es la tercera familia más grande de las plantas con flores. La simbiosis leguminosa-rizobio es la relación recíproca entre las plantas y la bacteria (Bécquer, 2002).

Las leguminosas forrajeras son empleadas por los ganaderos de la región tropical, con esta práctica existe mayor ganancia de peso y producción de leche de los bovinos, cerdos y pollos, mejora la calidad nutricional del forraje, de igual manera aumenta la fertilidad del suelo al aportar nitrógeno atmosférico (Villanueva, 2000).

1.2.2 Formulación del problema

¿Conocer la composición microbiológica de *Clitoria ternatea* en sus diferentes estados de madurez permitirá identificar las colonias de bacterias y hongos en la rizosfera de esta leguminosa?

1.3 Justificación de la investigación

Clitoria ternatea es considera una alfalfa tropical con múltiples beneficios en medicina, gastronomía, agricultura y producción pecuaria, empleada en la dieta diaria de los animales con altos rendimientos y excelente palatabilidad en las

especies de interés económico como forraje. Adaptable a varios tipos de suelos fijando nitrógeno atmosférico.

Aunque la planta sea fijadora de nitrógeno atmosférico también es importante porque por su composición fitoquímica se la puede emplear como bioestimulante además de incrementar el contacto del sistema radicular de la planta con las bacterias nitrificantes y así haya una simbiosis adecuada permitiendo que la planta produzca más forraje.

El presente trabajo pretende generar información desde el punto de vista microbiológico para conocer la cantidad de microorganismos (bacterias, hongos, solubilizadores de fósforo, bacterias de vida libre, actinomicetos) que se encuentran actuando a nivel de la rizosfera en los diferentes estados de madurez de la planta.

1.4 Delimitación de la investigación.

- **Espacio:** Centro Experimental Sacha wiwa – Universidad Técnica de Cotopaxi Extensión La Maná
- **Tiempo:** 2 meses
- **Población:** Plantas de *Clitoria ternatea*

1.5 Objetivo general

Conocer la composición microbiológica de *Clitoria ternatea* en diferentes estados de madurez

1.5.1. Objetivos específicos

- Determinar las variables agronómicas de la *Clitoria ternatea* en cada uno de los estados de madurez.
- Evaluar la composición microbiológica de la *Clitoria ternatea* en Unidades Formadoras de Colonia para bacterias y hongos.

1.6. Hipótesis

El estado de madurez de 50 días presenta las mayores variables agronómicas. La mayor composición microbiológica de *Clitoria ternatea* se reportará en el estado de madurez de 50 días.

2. Marco teórico

2.1 Estado del arte

2.1.1. Leguminosas

Son el conjunto de mayor relevancia luego de las gramíneas. Esta postura de privilegio es dependiente, prácticamente de su costo forrajero, y de la función de enriquecimiento del suelo que casi cada una de ellas tienen al participar en la fijación de nitrógeno atmosférico (Estrada, 2002)**.**

Las leguminosas son plantas que pertenecen a la familia de las dicotiledóneas tienen la particularidad de formar en sus raíces unas estructuras llamadas nódulos, estos nacen como resultado de la interacción que existe entre estas plantas y las bacterias del género Rhizobium que son capaces de tomar y fijar nitrógeno atmosférico, al establecer una simbiosis con las plantas y almacenarlo en sus hojas en forma de proteína, Por esta razón las leguminosas ayudan a la fertilidad de los suelos, ya que este nitrógeno que captan de la atmósfera a la larga lo incorporan al suelo, otra característica es producir una legumbre (vaina) como fruto, en la que se alojan las semillas en su interior, y cuando se madura, se abre longitudinalmente en dos valvas lo que facilita que las semillas se dispersen (Martínez, 2021).

Las leguminosas son una familia de repartición cosmopolita con alrededor de 730 géneros y unas 19 400 especies. Son utilizadas para incrementar la porción

proteica y mineral, balanceando la dieta animal (alfalfa, trébol, vicia, centrosema, kudzú, maní forrajero, soya etc) (León, Bonifaz, & Gutiérrez, 2018).

Dentro de los conceptos de leguminosas se indica que son una fuente importante de proteínas de buena calidad, dado que poseen una amplia gama de aminoácidos esenciales que las hacen superiores a las gramíneas tropicales, presentan una concentración de nitrógeno en las hojas, superior al de las gramíneas, en lo referente con la edad de la planta, son plantas ricas en calcio y presentan bajos niveles de fibra, en comparación con las gramíneas tropicales (Acevedo, Martínez, & Pérez, 2018).

2.1.2. Características botánicas de las leguminosas

Las leguminosas se caracterizan por sus hojas anchas, constituidas por 3 o más folíolos más largos que los restantes. Por sus flores similares a mariposas "papilionáceas", y por tener vainas con una exclusiva fila de semillas. Ciertos géneros tienen una sola semilla por vaina (Estrada, 2002)**.**

En la morfología, las leguminosas son plantas herbáceas o leñosas, que consta de la raíz, la misma que es pivotante, casi siempre con nódulos radicales bajo tierra. Las hojas generalmente son compuestas, con pinnadas o bipinnadas, trifoliadas, digitadas o reemplazadas por filodios, sus flores están dispuestas en inflorescencias, es decir se encuentran en retoños o capullos cubiertos estas por lo común son hermafroditas a lo que respecta el fruto es típico

siendo una legumbre o una vaina y por último las semillas pueden ser exabulminadas o albuminadas (Vera & Brito, 2018).

2.1.3. El suelo y la rizosfera

El suelo es uno de los recursos más utilizados en la agricultura para satisfacer las necesidades de alimento de la población, además de su gran complejidad y debido a su estructura, función y a la forma en que sus componentes biológicos, y minerales se organizan, el suelo presenta diferentes regiones funcionales, una de estas regiones está dada por el área de influencia de la raíz conocida como rizosfera que a menudo se divide en dos áreas: la más interior localizada en la superficie de las raíces (rizoplano) y la rizosfera exterior que corresponde al suelo adyacente, las cuales constituyen de 2 a 3% del volumen total del suelo (Rivera M. , 2013).

La rizosfera un tipo de ecosistema (podríamos decir que un criptoecosistema), poco visible y bastante desconocido fuera del ámbito científico de la ecología microbiana edáfica, pero tremendamente importante para el funcionamiento de los ecosistemas terrestres y para la homeostasis de la biosfera en su conjunto. El término rizosfera fue por primera vez utilizado a finales del siglo XIX por Hiltner, agrónomo alemán que acuño el término para hacer referencia al efecto de las raíces de leguminosas sobre el suelo circundante, en términos de mayor actividad microbiana por la liberación de materia orgánica (exudados radicales) desde las raíces (Probanza, 2012).

Rizosfera se deriva de las palabras griega “rhiza” que significa raíz y de “sphere” que significa influencia. La primera definición fue por el científico German Hiltner en 1904 la cual la definió como “La zona del suelo inmediatamente adjuntas a las raíces de leguminosas que soportan elevados niveles de actividad microbiana”. La definición actual de rizosfera es una estrecha región en el suelo que está directamente influenciada por las secreciones de las raíces y actividad microbiana asociada. Se divide en tres partes: la endorizosfera, el rizoplano y la ectorizosfera (Bernabé, 2016).

2.1.4. . Conchita azul *(Clitoria ternatea*)

2.1.4.1. Nombres comunes

Conchita azul, campanilla, zapatillo de la reina, bandera, choreque, lupita, pito de parra, papito, bejuco de conchita (Peters, Franco, Shmidt, & Hincapié, 2003)**.**

Los nombres comunes son campanilla (Panamá), papito (Salvador), bejuco de conchitas o conchita azul (Puerto Rico, Cuba y México), zapatico de reina (Venezuela), clitoria (Colombia), campanita morada, entre otros (Bogdan, 1977; Humphreys, 1981) citados por (Bautista, 2015).

2.1.4.2. Origen

Es una leguminosa originaria de Asia, presenta características de crecimiento semi-arbustivo y semierecto de los 12 a 80 cm de altura y posteriormente se

comporta como planta de crecimiento enredador. Posee raíces profundas que le permiten tolerar las sequias; sus hojas son pinnadas, elípticas de 3 a 5 cm. de largo, las flores son de color azul o blancas y se presentan simples o apareadas, las vainas son lineares, plantas y ligeramente pubescentes de 8 a 12 cm de largo y de 0.7 a 1.2 cm de ancho con 6 a 10 semillas. Las semillas son de color negro de 4.5 a 6 mm de longitud y 3.4 mm de ancho (Yanes & Ramón, 2005)**.**

La distribución natural de Clitoria ternatea no se ha establecido con certeza varios autores consideran originaria del Asia Tropical, otros de pantropical y también nativa de áfrica tropical, Madagascar, Arabia, China, Islas del Pacifico, Indias Occidentales y Norte, Centro y Sur de América. Algunos autores la ubican desde cerca de los 20°N hasta los 24°S en el distrito de Salta en la Argentina y que ha sido naturalizada en los trópicos semiáridos y subhúmedos del África occidental, oriental y del sur (Vallejo y Zapata 2019) citado por (López & Sandoval, 2020).

2.1.4.3. Características

Leguminosa herbácea perenne, erecta y voluble, con altura entre 20 – 70 cm. raíces pivotantes, tallos delgados pubescentes, hojas de forma elíptica a lanceolada y estrechas de 3 – 5 cm largo, poco pubescente en el envés de la hoja. Flores azul profundo, algunas veces de color blanco, de 4 – 5 cm de largo; vaina lineal dehiscente, de 5 – 10 cm de largo elípticas de tegumento pegajoso (Peters, Franco, Shmidt, & Hincapié, 2003)**.**

Clitoria ternatea es una planta perenne, semiarbustiva y voluble, de tallos lisos, de 0.5 - 3 m de longitud. Hojas pinnadas con 5 - 7 foliolos, los cuales son oblongo-lanceolados a casi orbiculares de 1.5 - 7.0 cm de longitud y 0.3 - 4.0 cm de ancho, glabros en la parte superior y pubescentes abajo. Flores únicas o en pares de color azul de cáliz tubular, con el pedicelo inclinado a 180º, de tal manera que el estandarte está hacia abajo. Las vainas son lineales, planas de 6 - 12 cm de longitud y 0.7 - 1.2 cm de ancho, con más de 10 semillas las cuales son de color verde, café o negro, frecuentemente moteadas o jaspeadas de 4.5 - 7.0 mm de longitud y 3 - 4 mm de ancho.

Clitoria o Campanita morada, es una leguminosa de áreas tropicales y subtropicales, originaria de Asía, leguminosa semi-arbustiva y trepadora, alcanza una altura de 60 a 70 cm, de tallos delgados pubescentes, hojas de forma elíptica a lanceolada y estrechas de tres a cinco centímetros de largo. Flores azules, algunas veces de color blanco, de cuatro a cinco centímetros de largo; vainas alargadas y planas. Sus raíces son fuertes y profundas. Crece en matorrales y pastizales, a menudo en suelos arcillosos temporalmente inundados o encharcados (Castrejón & Corona, 2017).

2.1.4.4. Utilización

Esta planta puede utilizarse como forraje para ganado, debido a que su producción de materia seca en condiciones de temporal fluctúa entre las 9 y 12 ton/ha por año. En sistemas agroforestales, se pueden utilizar como cobertura,

para control de malezas, donde el manejo puede ser para producción de semilla, para venta a ganado o usarla allí mismo como pastura (Yanes & Ramón, 2005).

Una de las leguminosas más precoz y productiva es la Clitoria (*Clitoria ternatea* L), originaria de América tropical que, en México, se adapta bien en suelos fértiles, profundos y húmedos, y con riego es posible obtener rendimientos anuales de 20 a 25 t MS/ha. En pastoreo soporta de cuatro a seis cabezas/ha asociada con zacate pangola, y se reportan ganancias de peso de 680 g/día, asociada con pasto Pará. En condiciones de corte, la Clitoria produce 18,4 t/ha de materia seca en siete meses. Por su crecimiento inicial rápido, se llegan a obtener hasta 24 t/ha de forraje verde después de dos meses de sembrada. Además, se presentan características nutricionales equiparables a la alfalfa, a una edad de 42 días tiene un contenido de proteína cruda que fluctúa de 18 a 23% y 28% de fibra cruda en base seca (Bustamante, *et al*, 2002).

2.1.4.5. Adaptación

Esta leguminosa puede crecer hasta 2000 m.s.n.m., pero su crecimiento óptimo se da a 1600 m.s.n.m. precipitación de 400 – 2500 mm/año. Tolera temperaturas bajas hasta 15 °C, sequía y sombra, pero no tolera inundaciones ni encharcamiento. Se ajusta a una gama amplia de condiciones de suelo desde arenoso a franco-arcilloso con pH de 4.5 – 8.7 y tiene cierta tolerancia a salinidad (Peters, Franco, Shmidt, & Hincapié, 2003).

También puede tolerar la salinidad, cultivándose en suelos de pH alto (Skerman, 1977), dando buenos resultados en suelos pobres y mejores en suelos arcillosos (Garza *et al*., 1972), además es tolerante a la sequía (Flores, 1983).

Clitoria ternatea se ajusta a una gama amplia de condiciones de suelo arenosos a franco arcilloso con un pH de 4,5 a 8,7 y tiene cierta tolerancia a la salinidad crece a una altitud de hasta 180 msnm, con una precipitación de 800 a 4000 mm y a temperaturas de 19 a 32°C. La semilla fresca no germina, pero almacenada por seis meses mejora la tasa de germinación (Castrejón & Corona, 2017).

2.1.4.6. Composición química

El contenido de proteína cruda es de 23%, el contenido de fibra 25%, la humedad 11%; el contenido de cenizas del 4% y una digestibilidad del 75%. La aceptabilidad y consumo de esta leguminosa por bovinos, ovinos y caprinos es alta, especialmente en época seca, cuando la calidad de las gramíneas es baja en términos de digestibilidad, proteína cruda y fósforo (Yanes & Ramón, 2005)**.**

Al realizar el análisis proximal en base seca g (100) se obtuvo para Clitoria ternatea 22,70 de proteína cruda, 6,80 ceniza, 40,30 de fibra cruda, 3,10 de extracto étero (grasa), 93,20 de materia orgánica y 26,90 de Extracto libre de nitrógeno, en el análisis de Van Soest reportaron 46,50 de Fibra Detergente Neutra, 38,70 de Fibra Detergente Ácida, 8,80 de Lignina, 7,80 Hemicelulosa, 38,90 Celulosa y 53,40 de Contenido celular (Sosa, *et al* 2020).

2.1.4.7. Producción de forraje

La producción de forraje que produce la leguminosa Clitoria alcanza 24 toneladas fresco máximo por hectárea (Medel, 2008). En asociación con pasto guinea (*Panicum maximum*), o con pasto jaragua *(Hyparrhenia rufa)* produjo hasta 18 toneladas de forraje seco por hectárea por año (Flores, 1983).

Dentro de la productividad, calidad de suelo y animal Clitoria produce entre 3-10 t de MS ha^{-1}, dependiendo de las gramíneas asociadas se puede obtener ganancias de peso hasta 700 g $animal^{-1}$ $día^{-1}$, en cuanto a producción de semilla se ha alcanzado rendimientos hasta de 600 kg ha^{-1} (González & Chown, 2008).

2.1.5. La simbiosis rizobio-leguminosa

La simbiosis leguminosa-rizobio relación recíproca entre las plantas y la bacteria fue reconocida por primera vez hace más de 100 años, y su valor agrícola se ha demostrado a través de las investigaciones científicas. La importancia de la fijación biológica del nitrógeno para la seguridad de los alimentos en el mundo entero es realmente incuestionable, y el uso de cultivos capaces de efectuar una fijación simbiótica del N es el componente primario en una agricultura sostenible (Bécquer & Nápoles, 2012).

El nitrógeno es bastante exuberante en la atmósfera, no obstante. Las plantas no tienen la posibilidad de utilizarlo en su forma elemental y deben obtenerlo del suelo primordialmente a modo de nitrato o amonio. La fijación biológica de

nitrógeno es un proceso clave en la biosfera, por el que microorganismos portadores de la enzima nitrogenasas, transforman el nitrógeno gaseoso en nitrógeno combinado. El grupo bacterias al que se conoce colectivamente como rizobios, inducen en las raíces (o en el tallo) de las leguminosas la formación de estructuras especializadas, los nódulos, dentro de los cuales el nitrógeno gaseoso es reducido a amonio. En esta simbiosis en los nódulos, la planta huésped recibe nutrientes nitrogenados de la bacteria (rizobios) y da ésta una fuente de carbono y un ambiente conveniente para fijar nitrógeno (Wang, Martínez, & López, 2020).

La naturaleza guarda una relación profunda entre pequeñas bacterias que viven de manera natural en el suelo llamadas rizobacterias y plantas pertenecientes al grupo de las leguminosas, es decir todas aquellas cuyas semillas crecen en el interior de una vaina. Existen mecanismos especializados por el cual las rizobacterias son atraídas hacia los pelos radiculares de las leguminosas y es formada una puerta por la que accederán al interior de la raíz, no cualquier bacteria entrará al interior de la raíz, el paso en general está restringido solo a una determinada especie, esta relación entre rizobacterias y leguminosas se conoce como “simbiosis” (Elizalde & Ruy, 2021).

2.1.6. Microorganismos en la rizosfera

Las poblaciones microbianas del suelo están inmersas en un marco de interacción que afecta al desarrollo de las plantas y calidad del suelo. Ellas están involucradas asegurando la estabilidad y productividad, tanto de los

agroecosistemas como de los ecosistemas naturales, investigaciones estratégicas y aplicadas han demostrado el interés de ciertas actividades de cooperación microbiana para ser explotadas como una biotecnología de bajo impacto y costo para contribuir con prácticas agro-tecnológicas sustentables y amigables con el ambiente (Pedraza R. , et al 2010).

2.1.6.1. Solubilizadores de fosforo

La solubilización del P del suelo es el proceso por el cual las reacciones de precipitación se revierten, liberando P en la solución del suelo, mediado generalmente por la acción metabólica de los microorganismos y las raíces de las plantas. La solubilización del P como una capacidad bacteriana se reconoció ya hace más de un siglo. Durante las décadas siguientes varios estudios pusieron en evidencia la capacidad solubilizadora de fosfatos de: *Erwinia, Pseudomonas, Bacillus, Rhizobium, Klebsiella, Burkholderia, Serratia, Achromobacter, Agrobacterium, Micrococcus, Aereobacter, Rhodobacter, Pantolea y Klebsiella* entre las bacterias y, *Aspergillus, Penicillium, Trichoderma* y *Fusarium* entre los hongos (Patiño-Torres & Sanclemente- Reyes, 2014).

2.1.6.2. Bacterias fijadoras de nitrógeno

El nitrógeno molecular (N_2) existente en la atmósfera no es de forma asimilable por los vegetales ya que el triple enlace que junta los átomos que conforman la molécula es complicado de romper; la exclusiva forma de aprovechar el nitrógeno atmosférico es por medio del proceso metabólico

conocido como Fijación Biológica de Nitrógeno (FBN). Los microorganismos fijadores de nitrógeno incluyen dos variantes: los fijadores simbióticos que fijan nitrógeno en asociación con plantas y los no simbióticos (asimbióticos) o de vida libre que proporcionan al medio compuestos nitrogenados como amonio, aprovechados por los vegetales, numerosas bacterias de los géneros *Azotobacter sp, Azospirillum sp, Pseudomonas sp, Enterobacter sp y Klebsiella sp* son eficientes fijadoras asimbióticas de nitrógeno contribuyendo sustancialmente a que los agricultores, economicen en fertilizantes nitrogenados conservando el ambiente (Lara, Villalba, & Oviedo, 2007).

Dentro de las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno encontramos dos grupos de organismos. Al primer grupo pertenecen bacterias móviles del suelo que son atraídas hacia la raíz por compuestos que ésta libera. Pertenecen al grupo de quimiorganotrofos aerobios. Se denominan Rizobios. A este grupo pertenecen *Rhizobium* (nodulan las raíces de leguminosas de climas templados y subtropicales) *Azorhizobium* (nódulos en tallos y raíces) Bradyrhizobium (nodulan raíces de soja) Existen otros formadores de nódulos de fijación dudosa de nitrógeno como son: *Phyllobacterium* (forma nódulos en tallos y hojas de mirsináceas y rubiáceas) y *Agrobacterium.* El segundo grupo está formado por Actinomicetos (bacterias Gram positivas) que nodulan raíces de muchos árboles y arbustos. Son aquellas bacterias filamentosas que viven en simbiosis con plantas actinoricicas (angiospermas capaces de formar nódulos) y son pertenecientes al género *Frankia* (Calvo, 2011).

2.1.6.3. Hongos

Los hongos han desempeñado una importante función en el establecimiento y mantenimientos de los ecosistemas. Cerca del 80% de las especies vegetales y el 92% de las familias de plantas terrestres son micorrízicas, mientras que el tipo arbuscular es el más común y ancestral de estas asociaciones. Se conoce que la presencia o no de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) puede afectar la productividad, la diversidad y la dinámica de las plantas; específicamente, se han identificado mecanismos de retroalimentación entre estas y dichos microorganismos, los cuales controlan la composición de las comunidades de plantas (Ojeda, Furrazola, & Hernández, 2014).

La población de hongos se estima de 5×10^3 a 9×10^5 por gramo de suelo seco. Actúan degradando la celulosa, o como depredadores de otros organismos (nematodos, bacterias, protozoos y otros hongos), incluyen una amplia gama de organismos que comprende desde los mohos a los grandes hongos carnosos, como las setas. Aunque generalmente oculto bajo la superficie, producen un amplio micelio en abonos y suelos que contienen grandes cantidades de materia orgánica (Walter 1965), (Arias 2007) citados por (Troya, 2011).

Los hongos se agrupan o se reproducen, forma los micelios o hilos que se extienden a través de los espacios porosos, que perforan el suelo, estos organismos excretan enzimas que descomponen las materias vegetales frescas las convierte en humus. Los hongos del suelo, mediante los micelios, tienden a juntar las diversas partículas y a mejorar, por tanto, la estructura porosa,

aumentando el tamaño y la estabilidad de los agregados del suelo (López A. , 1998).

La composición genérica y el tamaño de la flora fúngica de un suelo varía con el tipo de suelo y con sus características físicas y químicas. Las clases imperfectas constituyen los géneros más numerosos de hongos en el suelo. Estos géneros comúnmente incluyen a Aspergillus, Trichoderma y Penicillium, además se menciona que en la rizosfera también se han descritos como frecuentes los géneros *Fusarium, Mucor, Rhizopus, Rhizoctonia* (Fernández & Novo, 2003).

2.1.6.4. Actinomicetos

Los actinomicetos son bacterias filamentosas, Gram positivas que se encuentran ampliamente distribuidas en el medio ambiente, son microorganismos con propiedades quitinolíticas, alto contenido de guanina y citosina en su DNA, características que los hace morfológicamente diversos entre sí y ayuda a diferenciarlos de otras bacterias Gram positivas. Diversos estudios afirman que factores importantes para estimular el crecimiento de estos microorganismos son la humedad relativa, pH, disponibilidad de nutrientes en el suelo, abundancia de materia orgánica, mesofauna y temperatura, son aspectos que controlan la densidad de estos microorganismos, que se han encontrado de manera abundante (alrededor de 10^4-10^6 esporas/gramo) (González, 2010).

Este orden pertenece a la Clase Actinobacteria, siendo uno de los más importantes por su utilización en la industria. Los actinomicetos forman un grupo de microorganismos morfológicamente muy heterogéneo, desde bacilos hasta filamentos ramificados, pertenecientes al dominio Bacteria, formado por bacterias generalmente aerobias, Gram positivas, con un alto contenido en G+C. Dos de las propiedades más significativas de los actinomicetos son su capacidad para desarrollarse sobre sustratos muy diversos, como la quitina, celulosa y su aptitud para sintetizar numerosos metabolitos bioactivos. La fácil segmentación de los filamentos conlleva a la producción de bacilos y cocos. Las colonias pueden presentar filamentos, pero sin que exista un micelio verdadero. Las colonias pueden ser blancas, grises, pero también hay rojas y amarillas. Los actynomicetales son anaerobios facultativos y quimiorganotrofos en su mayoría y los productos finales de la fermentación de la glucosa pueden ser ácido acético, succínico y láctico, que varían de acuerdo a la cantidad producida (Chumpitaz, 2019).

2.1.6.5. Nitrógeno en el crecimiento vegetal

El nitrógeno cumple funciones vitales dentro de los seres vivos encontrándose dentro de las plantas tanto en formas orgánicas como inorgánicas. Estas últimas son en realidad de escasa magnitud, estando la mayoría como NO_3, única forma inorgánica. Este nutriente juega un rol esencial en el crecimiento del vegetal, ya que es constituyente de moléculas como: clorofila; aminoácidos esenciales, proteínas, enzimas, nucleoproteínas, hormonas, trifosfato de adenosina.

Además, el N es esencial en muchos procesos metabólicos, como, por ejemplo, la utilización de los carbohidratos (Perdomo, Barbazán, & Durán, 2015).

2.1.6.6. Rhizobium

Beijerinck en 1888, obtuvo el primer cultivo bacteriano puro de nódulo de raíz de leguminosa y lo llamó *Bacillus radicícola*. Luego Frank planteó el nombre *Rhizobium* para estos aislados. Basada en la especificidad de los huéspedes para 1929 ya se habían reconocido seis especies: *R. leguminosarum, R. trifolii, R. phaseoli, R. meliloti, R. japonicum y R lupini.* En esta categorización, cada especie se componía de cepas que compartían un conjunto de leguminosas huésped (Carranza, 2004).

Para 1974, Jordan y Allen dividieron estas especies en dos grupos de acuerdo con sus tasas de crecimiento, flagelos y reacciones ácido/alcalinas en medio manitol levadura estos dos grupos son: Grupo I: de crecimiento rápido, productoras de ácido, con dos a seis flagelos, las colonias miden de 2-4 mm a los 3-5 días de incubación en agar manitol levadura, y son aislados de leguminosas de regiones templadas. A este grupo pertenecen *Rhizobium leguminosarum*, *Rhizobium phaseoli*, *R. trifolii*, *R. melitoti* Grupo II: de crecimiento lento, productores de bases, con flagelos. Las colonias miden 1 mm a los 5-7 días de incubación en agar manitol levadura, y son aislados de leguminosas tropicales. Aquí se encuentra *R. japonicum y R. lupini* (Carranza, 2004).

2.1.6.7. Pseudomonas

Los miembros del género Pseudomonas son bacterias gram negativas en forma de bastones. Se caracterizan por una amplia flexibilidad metabólica y respiración aeróbica, aunque algunas cepas pueden respirar anaeróbicamente fermentando arginina y utilizando al nitrato como aceptor final de electrones (P. aeruginosa). Posee uno o varios flagelos, polares, lo que les confiere movilidad. Su genoma tiene un alto contenido de GC, entre el 59-68% del mismo. Dentro de este género, el grupo de las *Pseudomonas fluorescentes* es el más estudiado, ya que está ampliamente distribuido en la rizosfera y comúnmente ayuda a suprimir o evitar el esparcimiento de enfermedades causadas por fitopatógenos (Braga, 2019).

La bacteria del género *Pseudomonas* muestran gran capacidad para usar pluralidad de nutrientes, razón por la que se explica su ubicuidad. Su actividad enzimática las convierte en un conjunto de microorganismos fundamentales, ya que son causantes de la degradación aeróbica de varios compuestos en diferentes ecosistemas (Pérez, *et al* 2015).

2.2. Investigaciones

Al evaluar la rizosfera de las asociaciones de gramíneas y leguminosas de interés ganadero en la finca La María se encontraron los siguientes resultados 45,71 cm de longitud de raíz, 10,08 g peso de raíz, 18,80 g de biomasa forrajera y 6,42 nódulos, en la asociación de la clitoria con pasto saboya y *B. decumbens*

se reportó 9,50 x 10^6 y 1,87 x 10^7 UFC para bacteria respectivamente, para hongos se registró 7,68 x 10^5 y 9,44 x 10^5 (Luna, 2014)**.**

En la investigación realizada en el laboratorio de Microbiología de la UTEQ para establecer la población de bacterias y hongos en raíces de leguminosas rastreras se reporta que Clitoria recibe 16,80 y 4,42 Unidades Formadoras de Colonia (UFC) para bacterias y hongos respectivamente (Castillo & Romero, 2011)**.**

Al evaluar el comportamiento agronómico y valoración nutricional de Clitoria a los 80,110 y 140 días se registró 37,53 g para peso de raíz; 40,12 g peso de forraje; 14,10 g peso de hojas, 16,00 g peso de tallo, con niveles de proteína a los 80 días con 19,50%; 110 días con 16,25% y 140 días con 13,82%, dentro de la parte microbiológica se reportó poblaciones de bacterias de 9,5 x 10^5 y 1,6 x10^6 UFC, para hongos 2,1 x 10^4 y 2,5 x 10^4 a los 80 y 140 días respectivamente (Ludeña & Álvarez, 2011)**.**

En la investigación de comportamiento agronómico de *Clitoria ternatea* se obtuvieron peso de raíz 12,14 g; peso de forraje 39,31 g, longitud de raíz 34,00 cm, en la parte microbiológica reporta 9,5 x 10^5 para bacterias (5,98) y 8,3 x 10^6 (6,92) para hongos, en la composición química a los 45 días reporta 5,73% y a los 75 días 19,50 % (Briones, 2012).

Al evaluar el comportamiento agronómico, estructura química y microbiológica de *Clitoria ternatea* en diferentes estados de madurez en los resultados se

observó que la leguminosa *Clitoria ternatea* se desarrolló en suelos desde medianamente ácidos hasta llegar a prácticamente neutro y permitiendo mejorar macro y micronutrientes, dentro del comportamiento agronómico a los 90 días se logró el mayor largo de raíz (36,50 cm); peso de raíz (23,00 g); producción de forraje (86,50 g). La mayor concentración de aerobios totales se reportó a los 105 días con 7,01 UFC y para hongos y levaduras a los 75 días con 5,80 UFC, en la composición bromatológica se presentó que a mayor edad mayor nivel de proteína ya que a los 45 días se obtuvo 16,31% y a los 105 días 22,50% (Bautista, 2015).

Al evaluar el comportamiento agronómico de zapatillo de la Reina (*Clitoria ternatea)* se reportaron altura de planta a los 30 días de 12,36 cm y a los 90 días 68,74 cm, número de ramas secundarias de 16,43 ramas a los 75 días y 15,14 a los 105 días, los niveles de proteína oscilaron de 26,18% a los 75 días, 22,17 y 20,62% a los 90 y 105 días, la presencia de bacterias fue 7,70 x 10^6 UFC y hongos 2,40 x 10^5 UFC (Rivera, 2017).

En la emergencia de semillas de *Clitoria ternatea* con procedimientos naturales y químicos a los 30 días se reportaron alturas de 13,25 a 22,31; a los 45 días a partir de 23,58 hasta 32,01; el mayor largo de raíz a los 75 días ha sido 33,75 cm con un peso de 4,50 g. El análisis foliar a los 30 días presentó concentraciones altas de nitrógeno con 6,00%, fósforo 0,32%, potasio 2,93%, a los 75 días se reportaron para nitrógeno a 5,40%, fósforo 0,41% y potasio 3,32% (Condoy, 2020).

En la investigación sobre el crecimiento y rendimiento de *Clitoria ternatea* con la aplicación de fertilizantes biológicos (Ecorhiza, biol, y lixilom) se reportan para la parte foliar valores de nitrógeno de 3,00 a 4,40%; fósforo 0,35 a 0,53%, potasio 0,69 a 0,88%, calcio 1,17 a 1,31% y magnesio 0,37 a 0,44%, en la parte microbiológica se registró 73 x 10^4 UFC para bacterias y 29 x 10^4 UFC para hongos (Espinoza, *et al* 2020).

Al evaluar los inoculantes bacterianos del género *Azotobacter* en la asociación del pasto Andropogon gayanus con *Clitoria ternatea* y *Pueraria phaseoloide*, se utilizó *A. chroococum, A. vinelandii, A. beijerinckii, l*a *Clitoria* mostro a los 45 días niveles de proteína 8,80 a 16,30% y a los 60 días niveles de proteína de 6,87 a 10,62%, la composición microbiologica a los 45 días fue en bacterias de 6,7 x 10^4 UFC – 2,7 x 10^5; hongos 1,4 x 10^5 – 3,5 x 10^5 (Pincay- *et al* 2020).

2.3. Marco legal

El artículo 385 de la Constitución de la República del Ecuador, menciona que: “El sistema nacional de ciencia, tecnología, innovación y saberes ancestrales, en el marco del respeto al ambiente, la naturaleza, la vida, las culturas y la soberanía, tendrá como finalidad: 1. Generar, adaptar y difundir conocimientos científicos y tecnológicos. 2. Recuperar, fortalecer y potenciar los saberes ancestrales 3. Desarrollar tecnologías e innovaciones que impulsen la producción nacional, eleven la eficiencia y productividad, mejoren la calidad de vida y contribuyan a la realización del buen vivir.

El artículo 41 del Código Orgánico de la Economía Social de los Conocimientos, Creatividad e Innovación, menciona, respecto a la libertad de investigación: “Se garantiza la libertad de investigación en el marco del respeto a la ética, la naturaleza, el ambiente y el rescate aprovechamiento y potenciación de los conocimientos tradicionales”.

El artículo 21 del Reglamento del Régimen Académico (RRA) indica “ El trabajo es el resultado investigativo, académico o artístico, en el cual el estudiante demuestra el manejo integral de los conocimientos adquiridos a lo largo de su formación profesional; deberá ser entregado y evaluado cuando se haya completado la totalidad de horas establecidas en el currículo de la carrera, incluidas las prácticas pre profesionales. **El proceso de investigación acción**. “El trabajo de titulación debe implicar un proceso de investigación acción, desarrollando capacidades para la indagación, exploración, distinción, organización, explicación e implicación con la resolución de los problemas de la profesión que han sido seleccionados para el estudio e intervención” (Larrea de Granados, 2020).

Dentro de los objetivos del Sistema de Investigación de la Universidad Técnica de Cotopaxi se mencionen **numeral 3**: Fomentar programas de cooperación científica, basados en actividades de investigación interdisciplinaria, con estrategias de capacitación, redes y colectivos de investigación nacional e internacionales que incentiven la circulación y transferencia nacional y regional de los conocimientos y tecnologías disponibles, **numeral 7** Promover y fortalecer la investigación formativa, para alcanzar perfiles profesionales con capacidades

y habilidades que le permitan generar conocimientos y lograr aprendizaje integral.

Con todos estos antecedentes legales la presente investigación tendrá como aspecto ético preservar el medio ambiente y demostrar que la leguminosa *Clitoria ternatea* contribuyen al mejoramiento productivo y del suelo y por ende establece una buena relación suelo-planta-animal en beneficio del hombre.

Desde el punto de vista legal del presente estudio cuenta con la debida autorización del Laboratorio de Microbiología y Bromatología de AGROLAB, Analytical Laboratories y Nueva Gestión (Servicios y Asesorías Acuícolas) que facilitó los implementos de laboratorio.

La Universidad Técnica de Cotopaxi Extensión La Maná con su Centro Experimental Sacha wiwa y el Área de Pastos y Forrajes facilitó las semillas para realizar la investigación.

3. Materiales y métodos

3.1. Enfoque de la investigación

3.1.1 Tipo de investigación

La investigación que se planteó fue de carácter cuantitativa y explicativa ya que establece la relación entre los estados de madurez a los 30,40 y 50 días (causa - variable independiente) y la respuesta agronómica, microbiológica y química de *Clitoria ternatea* (efecto - variable dependiente)

3.1.2 Diseño de investigación

La investigación es de carácter experimental para lo cual se utilizó un Diseño Completamente al Azar, que consistía en manipular las variables para medir el efecto durante un tiempo determinado.

3.2. Metodología

3.2.1. Variables

3.2.1.1. Variable independiente

Estados de madurez a los 30, 40 y 50 días

3.2.1.2. Variable dependiente

Comportamiento agronómico:

Altura de planta (cm)

Número de ramas

Peso de forraje hojas y tallos (g)

Largo de raíz (cm)

Peso de raíz (g)

Comportamiento microbiológico

Unidades Formadoras de Colonias de Bacterias

3.2.2. Tratamientos

Los tratamientos estudiados fueron tres estados de madurez de *Clitoria ternatea,* Tabla 1.

Tabla 1. Tratamientos bajo estudio

T1 = *Clitoria ternatea* de 30 días
T2 = *Clitoria ternatea* de 40 días
T3 = *Clitoria ternatea* de 50 días

Fuente: Chapman Jorge 2021

3.2.3. Diseño experimental

Se utilizó un Diseño Completamente al Azar (DCA) con ocho repeticiones, tres tratamientos y cinco unidades experimentales. Tabla 2

Tabla 2. Análisis de varianza

Fuente de variación		**Grados de Libertad**
Tratamientos	t-1	2
Error	t(r-1)	21
Total	**(t.r – 1)**	**23**

Fuente: Chapman Jorge 2021

3.2.4. Recolección de datos

Para tomar los datos experimentales se contó con un total de 120 plantas que se describen en la Tabla 3.

Tabla 3. Esquema del experimento

Tratamientos	UE	Repetición	Total
Clitoria ternatea a los 30 días	5	8	40
Clitoria ternatea a los 40 días	5	8	40
Clitoria ternatea a los 50 días	5	8	40
Total			120

UE = Unidad Experimental
Fuente: Chapman Jorge 2021

3.2.4.1. Recursos

Dentro de los recursos empleados tenemos los que se detallan en la tabla 4

Tabla 4. Recursos utilizados en la investigación

Descripción	Cantidad
Sustrato kg (tierra)	500
Semilla de *Clitoria ternatea* (g)	200
Fundas plásticas de 10 x 12	200
Fundas ziploc	100
Machetes	1
Balanza 5 kg con 1 g de precisión	1
Flexómetro de 50 m	1
Análisis de suelo	1
Análisis microbiológicos	2
Análisis foliares	2
Análisis bromatológicos	3
Recipiente para transporte de muestras	1
Libreta de campo	1
Regadera cap 10 litros	1

3.2.4.2. Métodos y técnicas

Al iniciar la investigación se realizó un análisis de suelo para conocer la composición del macro y micro nutrientes, luego de eso se procedió al llenado de fundas y la respectiva siembra empleando dos semillas por funda.

Luego de la siembra y emergencia de las plantas de *Clitoria ternatea* se procedió a la toma de datos como altura de planta y largo de raíz los datos se expresaron en cm se utilizó para ello un flexómetro. Además, se cortó el forraje y empleando el método destructivo se separó hojas y tallos para pesar de forma independiente cada uno para ello se empleó una balanza de 5 kg con 1 g de precisión.

Las muestras fueron enviadas a los diferentes laboratorios AGROLAB, Analytical Laboratories y Nueva Gestión (Servicios y Asesorías Acuícolas) para realizar los análisis microbiológicos, tejidos y bromatológicos.

3.2.5. Análisis estadístico

Una vez recolectados los datos de campo se los revisó y se ingresaron a una hoja electrónica de Excel para luego llevarlos al programa estadístico INFOSTAT en donde se aplicó la prueba de rangos de Tukey al 5% de probabilidad

4. Resultados

4.1. Variables agronómicas de la *Clitoria ternatea* en cada uno de los estados de madurez.

4.1.1. Altura de planta (cm)

Al evaluar la variable altura de planta en *Clitoria ternatea* se pudo identificar que en la variable la mayor altura se presenta a los 50 días con 61,63 cm y la menor altura a los treinta días con 8,13 cm presentándose diferencias estadísticas según la prueba de Tukey p≥0,05 con un coeficiente de variación de 25,90% Tabla 5 Figura 3

Tabla 5. Análisis de varianza de altura de planta

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	11924,02	2	5962,01	88,27	0,00
Error	1418,47	21	67,55		
Total	13342,49	23			

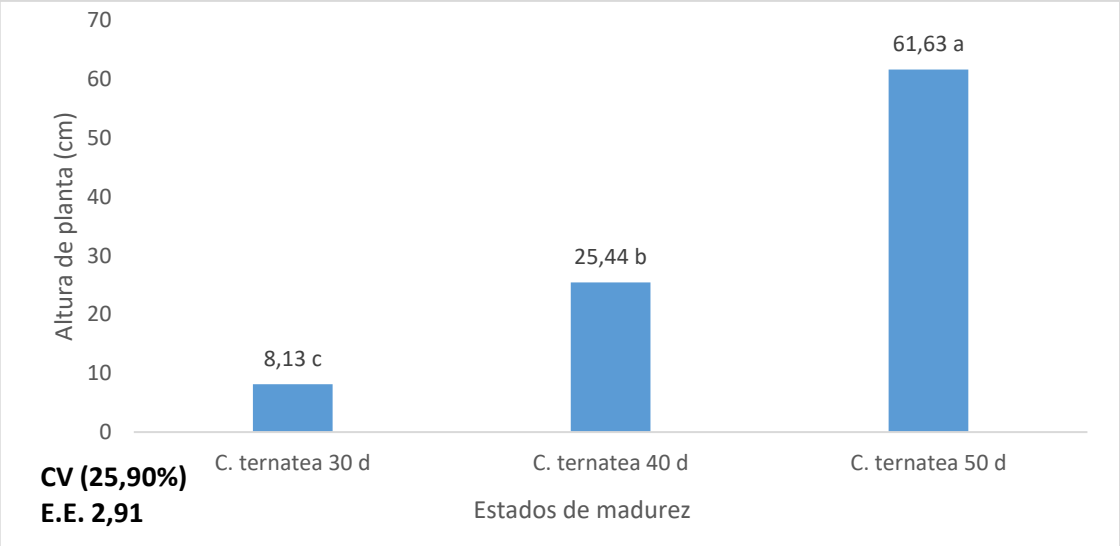


Figura 3. Altura de planta (cm) de *Clitoria ternatea*
Chapman Jorge 2021

4.1.2. Longitud (cm) y peso de raíz (g)

La mayor longitud de raíz se registró en *Clitoria ternatea* a los 50 días con 38,75 cm, los menores valores se reportaron a los 30 y 40 días con 10,50 y 13,91 cm respectivamente presentándose diferencias estadísticas entre los tratamientos según la prueba de Tukey p≥0,05, se registró un coeficiente de variación de 16,73%

A los 50 días del estado de madurez se reporta el mayor peso de raíz con 23,00 g, seguido del valor de 12,75 g a los 40 días y el menor peso a los 30 días con 7,38 g, se registró un coeficiente de variación de 21,86% presentándose diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo estudio, según la prueba de Tukey p≥0,05. Tabla 6, 7 y 8.

Tabla 6. Análisis de varianza de longitud de raíz

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	3804,29	2	1902,15	153,32	0,00
Error	260,53	21	12,41		
Total	4064,82	23			

Tabla 7. Análisis de varianza de peso de raíz

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1008,25	2	504,13	51,05	0,00
Error	207,38	21	9,88		
Total	1215,63	23			

Tabla 8. Longitud (cm) y peso de raíz (g) de *Clitoria ternatea*

Estados de madurez	Longitud raíz (cm)	Peso raíz (g)
Clitoria ternatea 30 d	10,50 b	7,38 c
Clitoria ternatea 40 d	13,91 b	12,75 b
Clitoria ternatea 50 d	38,75 a	23,00 a
CV (%)	**16,73**	**21,86**
E.E.	**1,25**	**1,11**

Medias con letras iguales no presentan diferencias estadísticas según la prueba de Tukey (p ≥0,05)
Chapman Jorge 2021

4.1.3. Peso (g) de hojas y tallos

El mayor peso de hojas de *Clitoria ternatea* se registró en el estado de madurez de 50 días con 19,50 g y el menor valor a los 30 días con 3,25 g, presentándose diferencias estadísticas entre los tratamientos según la prueba de Tukey p≥0,05 con un coeficiente de variación de 36,03%

En el peso de tallo el mayor valor se registró a los 40 días del estado de madurez con 9,25 g y el menor valor a los 30 días con 1,63 g, presentándose diferencias estadísticas según la prueba de Tukey p≥0,05, con un coeficiente de variación de 30,30% Tabla 9, 10 y 11

Tabla 9. Análisis de varianza del peso de hojas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	1089,58	2	544,79	28,15	0,00
Error	406,38	21	19,35		
Total	1495,96	23			

Tabla 10. Análisis de varianza del peso de tallos

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	274,75	2	137,38	36,81	0,00
Error	78,38	21	3,73		
Total	353,13	23			

Tabla 11. Peso (g) de hojas y tallos de *Clitoria Ternatea*

Estados de madurez	Pesos (g)	
	Hojas	Tallos
Clitoria ternatea 30 d	3,25 c	1,63 b
Clitoria ternatea 40 d	13,88 b	9,25 a
Clitoria ternatea 50 d	19,50 a	8,25 a
CV (%)	**36,03**	**30,30**
E.E.	**1,56**	**0,68**

Medias con letras iguales no presentan diferencias estadísticas según la prueba de Tukey (p ≥0,05)

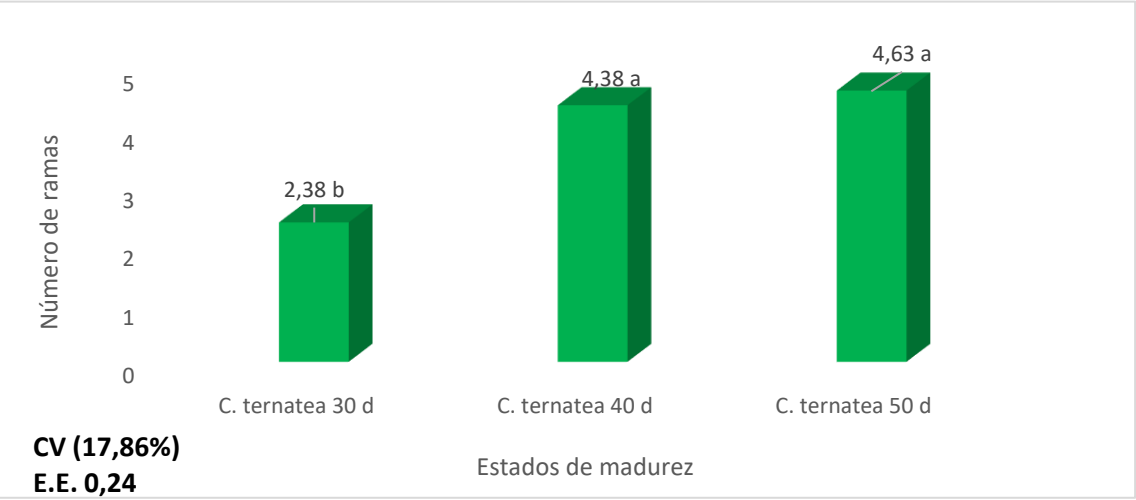
Chapman Jorge 2021

4.1.4. Número de ramas

En la figura 3 se presenta el mayor número de ramas a los 50 días con 4,63 ramas y el menor número a los 30 días con 2,38 ramas registrándose diferencias estadísticas según la prueba de Tukey p≥0,05 con un coeficiente de variación de 17,86% Tabla 12. Figura 4

Tabla 12. Análisis de varianza del número de ramas

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Tratamiento	24,33	2	12,17	26,55	0,00
Error	9,63	21	0,46		
Total	33,96	23			



CV (17,86%)
E.E. 0,24

Figura 4. Número de ramas de *Clitoria ternatea*
Chapman Jorge 2021

4.2. Composición del suelo y microbiológica de la *Clitoria ternatea* en Unidades Formadoras de Colonia para bacterias y hongos.

4.2.1. Análisis de suelo

El análisis de suelo reportó un pH de 5,60 medianamente ácido, materia orgánica de 4,60 considerada en el rango medio, los elementos como nitrógeno (13,00 ppm), fósforo (6,00 ppm), potasio (0,13 meq/100 g) y calcio (3,00 meq/100 g) están en rangos bajos. El suelo está constituido por el 52% de arena lo que lo lleva a una clase textural franco – arenoso. Tabla 13

Tabla 13. Análisis de suelo para la siembra de *Clitoria ternatea*

Parámetro	Valor	Interpretación
p H	5,60	Medianamente ácido
MO (%)	4,60	Medio
NH4 ppm	13,00	Bajo
P ppm	6,00	Bajo
K meq/100 g	0,13	Bajo
Ca meq/100 g	3,00	Bajo
Mg meq/100 g	0,90	Bajo
S ppm	8,00	Bajo
Zn ppm	0,50	Bajo
Cu ppm	8,30	Bajo
Fe ppm	316,00	Alto
Mn ppm	1,50	Bajo
B ppm	0,40	Bajo
Ca/Mg	3,30	
Mg/K	6,92	
(Ca+Mg)/K	30,00	
Textura (%)		
Arena	52,00	
Limo	44,00	
Arcilla	4,00	
Clase Textural	Franco Arenoso	

Fuente: Laboratorios Suelos, Tejidos vegetales y Aguas INIAP- Pichilingue 2021
Chapman Jorge 2021

4.2.2. Análisis microbiológico

En el análisis microbiológico se registró que existe un total de bacterias de 4,10 x 10^4 UFC por gramo de suelo seco, mientras que el número de hongos y levaduras es menor a 10,00 UFC/g, los análisis demostraron la presencia de bacterias de *Rhizobium* y ausencia de *Pseudomonas.* Tabla 14

Tabla 14. Análisis microbiológico de *Clitoria ternatea*

Parámetros		Valores
Bacterias grandes	UFC /g	8,00 x 10^3
Bacterias pequeñas	UFC /g	3,30 x 10^4
Conteo total	UFC /g	4,10 x 10^4
Hongos y Levaduras	UFC /ml	≤ 10,00
Presencia		*Rhizobium*
Ausencia		*Pseudomonas A.*

Fuente: Analytical Laboratories 2021
Nueva gestión Servicios y Asesorías Acuícolas 2021
Chapman Jorge 2021

4.3. Composición bromatológica y foliar de *Clitoria ternatea*

4.3.1. Composición bromatológica

El análisis bromatológico se lo efectuó a los 50 días y se obtuvo niveles de proteína bruta de 20,94% en hojas y 14,25% en tallos, mientras que para fibra bruta las hojas registraron 18,22% y los tallos 30,10% Tabla 15.

Tabla 15. Composición bromatológica de *Clitoria ternatea*

Parámetros	Hojas	Tallos
Humedad (%)	77,73	67,12
Materia seca (%)	22,27	32,88
Proteína (%)	20,94	14,25
Ext. etéreo Grasa (%)	5,71	4,12
Ceniza (%)	7,17	6,02
Fibra (%)	18,22	30,01
E.L.N.N (%)	47,96	45,60

Fuente: Laboratorio de Análisis Químico Agropecuario 2021
Chapman Jorge 2021

4.3.2. Composición de tejidos (foliar)

Al analizar la composición de los tejidos de las hojas y tallos se pudo observar que el nitrógeno, potasio, calcio son altos en hojas, en los tallos los mayores valores son para fósforo, magnesio y cobre. Tabla 16

Tabla 16. Composición foliar de *Clitoria ternatea*

Parámetros	Hojas	Tallos
Nitrógeno (%)	3,35	2,28
Fósforo (%)	0,07	0,20
Potasio (%)	2,89	1,87
Calcio (%)	0,90	0,66
Magnesio (%)	0,21	0,28
Azufre (%)	0,18	0,14
Cobre (%)	8,00	9,00
Boro (%)	24,43	22,25
Hierro (%)	26,00	115,00
Zinc (%)	21,00	16,00
Manganeso (%)	18,00	11,00

Fuente: Laboratorio de Análisis Químico Agropecuario 2021
Chapman Jorge 2021

5. Discusión

La presente investigación fue realizada con la finalidad de obtener información sobre la respuesta agronómica y composición microbiológica de *Clitoria ternatea* en diferentes estados de madurez, y para aclarar estas interrogantes se tomaron datos agronómicos y microbiológicos a los 30, 40 y 50 días.

En relación a la altura de planta el mayor valor se presenta a los 50 días con 61,63 cm valor inferior al reportado por (Rivera, 2017) quien a los 90 días obtiene 68,74 cm en el comportamiento agronómico de zapatillo de la reina (*Clitoria ternatea)* y superior a los indicados por (Condoy, 2020) quien dentro de los 45 días obtiene de 23,58 a 32,01 cm, en la emergencia de semillas de *Clitoria ternatea* con procedimientos naturales y químicos, es necesario indicar que los anteriores autores realizaron su investigación a 197,00 msnm a diferencia de la investigación a 500,00 msnm en ambos casos se utilizó un tipo de suelo franco arenoso. La diferencia se debe a las condiciones edafoclimáticas donde se desarrollaron las investigaciones

La mayor longitud de raíz se registró en *Clitoria ternatea* a los 50 días con 38,75 cm, valor inferior al reportado por (Luna, 2014) quien obtiene 45,71cm al evaluar la rizosfera de las asociaciones de gramíneas y leguminosas de interés ganadero. y similar a (Briones, 2012) quien reporto 34,00 cm al evaluar el comportamiento agronómico y valor nutricional de seis leguminosas rastreras en el cantón Quevedo, de la misma forma a (Bautista, 2015) quien al estudiar el comportamiento agronómico, composición química y microbiológica de *Clitoria ternatea* presenta un largo de 36,50 cm, los autores (Luna 2014) y (Briones 2012)

realizaron sus investigaciones a nivel de trópico a 73 msnm, mientras que Bautista lo realizó a 197 msnm, las condiciones de los macro y micronutrientes del suelo fueron superiores en las otras investigaciones con niveles de NH_4 de 29,00 - 47,00 ppm; fósforo con 8,00 - 38,00 ppm y potasio 0,24 – 0,47 meq/100 g, esto tiene relación ya que las propiedades del suelo juegan un papel importante dentro de los factores ecológicos de la producción de forrajes.

A los 50 días del estado de madurez se reporta el mayor peso de raíz con 23,00 g valor superior al encontrado por (Luna, 2014) con 18,80 g; inferior al reportado por (Ludeña & Álvarez, 2011) con 37,53 g e igual a (Bautista, 2015) con 23,00 g

El mayor peso de hojas de *Clitoria ternatea* se registró en el estado de madurez de 50 días con 19,50 g y el mayor peso de tallos se registró a los 40 días del estado de madurez con 9,25 valor superior para hojas en relación a lo reportado por (Ludeña & Álvarez, 2011) quien obtiene 14,10 g para el peso de hojas e inferior en tallo ya que estos autores obtuvieron 16 g para el tallo. Las investigaciones citadas se realizaron en una época seca en el trópico ecuatoriano mientras que la presente investigación se efectuó en una zona subtropical en la transición de la época lluviosa y seca a 500 msnm.

El mayor número de ramas fue a los 50 días con un promedio 4,63 ramas por planta valor inferior al reportado por (Rivera, 2017) quien obtiene 16,43 ramas a los 75 días.

La Unidades Formadoras de Colonia (UFC) de bacterias fueron de 4,10 x 10^4 y para hongos y levaduras menor a 10,00 UFC, existiendo presencia de la bacteria *Rhizobium* valores inferiores a los reportados por (Luna, 2014) quien obtiene 9,50 x 10^6 y 7,68 x 10^5; (Briones, 2012) quien presenta 9,5 x 10^5 para bacterias y 8,3 x 10^6 para hongos; (Espinoza, *et al* 2020) que registró 73 x 10^4 UFC para bacterias y 29 x 10^4 UFC para hongos, Los autores de las investigaciones (Luna, 2014) y (Briones, 2012) indican que realizaron su trabajo en fundas de 45 kg con tierra del lugar experimental sin desinfectar, (Espinoza, *et al* 2020) lo efectúo directamente en parcelas, en el presente estudio se utilizó fundas de 5 kg y como sustrato el suelo del lugar sin efectuar ningún tratamiento de desinfección, cabe indicar que los microorganismos benéficos juegan un rol fundamental en los agroecosistemas naturalmente sustentables. Algunos de ellos pueden ser utilizados como inoculantes para beneficiar a las plantas, ya que desarrollan actividades que involucran una promoción de su crecimiento y su protección. La asociación de *Rhizobium*-micorrizas arbusculares actúan sinérgicamente en los niveles de infección, nutrición mineral y crecimiento de las plantas (Spagnoletti, *et al* 2013).

El nivel de proteína a los 50 días fue de 20,94 para hojas y 14,25 para tallos valores inferiores a los reporta por (Rivera, 2017) quien obtiene 26,18% a los 75 días, superior a (Bautista, 2015) y (Briones, 2012) quienes a los 45 días obtuvieron 16,31 y 5,73% de proteína, también superior a (Ludeña & Álvarez, 2011) quien a los 80 días tiene 19,50% de proteína. Los cambios en los niveles de proteína son la respuesta fisiológica de la planta en los diferentes estados de madurez y por las épocas en que se desarrollaron los experimentos.

La mayor concentración de nitrógeno y potasio se encuentra en hojas con 3,35 y 2,89% y el fósforo para tallos con 0,20% valores inferiores a los reportados por (Condoy, 2020) quien obtiene en valores de 6,00% para nitrógeno, fósforo 0,32 y potasio 2,93, además ciertos valores discrepan con (Espinoza, *et al* 2020).

6. Conclusiones

Dentro de la composición microbiológica de *Clitoria ternatea* se observó una gran cantidad de bacterias teniendo la presencia de la bacteria *Rhizobium*, con ausencia de *Pseudomonas*.

El estado de madurez a los 50 días presentó los mayores resultados en las variables altura de planta, longitud de raíz, peso de raíz, peso de hojas y número de ramas.

La presencia de bacterias fue en un número aceptable en relación a otras investigaciones, en el caso de hongos la investigación presentó valores inferiores a 10 lo que sí existe una diferencia con los otros trabajos ya que ellos reportaron valores superiores.

Con estos antecedentes planteados se aceptan las hipótesis El estado de madurez de 50 días presenta las mayores variables agronómicas y la mayor composición microbiológica de *Clitoria ternatea* se reportará en el estado de madurez de 50 días.

7. Recomendaciones

Identificar otro tipo de microorganismo en la rizosfera de *Clitoria ternatea* que actúen como promotor del crecimiento vegetal.

Evaluar el comportamiento agronómico de *Clitoria ternatea* en parcelas para observar su crecimiento, desarrollo y producción forrajera.

8. Bibliografía

Acevedo, G., Martínez, E., & Pérez, E. (2018). *Evalaución de la calidad nutricional y rendimiento de leguminosas tropicales, Vigna (Vigna sinensis L.), Lablab (Dolichos lablab L.) y Canavalia (Canavalia ensiformis L).* Tesis para Ingeniero Agónomo, Universidad de El Salvador , Facultad de Ciencias Agronómicas Departamento de Zootecnia. Obtenido de http://ri.ues.edu.sv/id/eprint/18578/1/13101677.pdf

Bautista, P. (2015). *Comportamiento Agronómico, Composición Químca y Microbiológica de Clitoria ternatea en diferentes estados de madurez.* Tesis de Grado Ingeniera Agropecuaria, Universidad Técnica Estatal de Quevedo , Unidad de Estudios a Distancia, Quevedo.

Bécquer, C. (2002). La simbiosis leguminosa-rizobio: características generales e importancia productiva. *Pastos y Forrajes, Vol 44* .

Bécquer, C., & Nápoles, J. Á. (2012). Comportamiento de la simbiosis leguminosa-rizobioen Centrosema plumieri con Bradyrhizobium sp. *Pastos y Forrajes, Vol 35*(No. 2), 175-186. Obtenido de cielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942012000200005

Bernabé, L. (2016). *Identificación molecular de bacterias cultivadas y no cultivadas asociadas a la rizósfera de Opuntia ficus-indica L mill (Cactaceae) en ecosistemas áridos.* Tesis de maestro en Ciencias Mención Biotecnología Molecular , Universidad Nacional de Tumbes , Escuela de Posgrado , Tumbes. Obtenido de http://repositorio.concytec.gob.pe/bitstream/20.500.12390/210/3/2016_Bernabe_Identificacion-molecular-bacterias.pdf

Braga, L. (2019). *Evaluación de la capacidad promotora del crecimiento vegetal de una cepa de Pseudomonas fluorescens y la influencia de su inoculación sobre la comunidad microbiana de la rizósfera de alfalfa.* Tesis de Licenciatura en Biología- Orientación Microbiología . Obtenido de https://www.colibri.udelar.edu.uy/jspui/bitstream/20.500.12008/8456/1/uy24-17746.pdf

Briones, C. (2012). *Comportamiento agronómico y valor nutricional de seis leguminosas rastreras en el cantón Quevedo .* Quevedo : Universidad Técnica Estatal de Quevedo Unidad de Estudios a Distancia .

Bustamante, J., Villanueva, J., Bonilla, J., & Vidal, J. (2002). Utilizacióm del heno de clitoria (Clitoria ternatea L) en alimentación de vacas Suizo pardo en lactación. *Téc. Pecuaria México, Vol 42* (No. 3), 477-487. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/26478385_Utilizacion_del_heno_de_clitoria_Clitoria_ternatea_L_en_la_alimentacion_de_vacas_Suizo_pardo_en_lactacion

Calvo, S. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno. *Dialnet*, 173-186.

Carranza, C. (2004). *Aislamiento e Identificación de cepas nativas de Rhizobium leguminosarum biovar phaseoli, de frijol común (Phaseolus vulgaris) cultivado en los departamentos de Jutiapa y Chimaltenango.* Informe de Tesis Qumíca Biológica, Universidad de San Carlos de Guatemala , Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Guatemala . Obtenido de http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2236.pdf

Castillo, E., & Romero, D. (2011). *Población de bacterias y hongos en raices de leguminosas arbustivas y rastreras.* Quevedo - Ecuador : Universidad

Técnica Estatal de Quevedo Unidad de Estudios a Distancia Carrera Agropecuaria .

Castrejón, F., & Corona, L. (2017). *Caracter´siticas nutrimentales de gramíneas, leguminosas y algunas arbóreas forrajeras del trópico mexicano* (Vol. No. 1). Ciudad de México, México. Obtenido de https://papimes.fmvz.unam.mx/proyectos/manuales_nutricion/Manual_Fracciones.pdf

Chumpitaz, A. (2019). *Caracterización de actinomicetos rizosféricos aislados de cultivos orgánicos de papa nativa Solanum tuberosum, L y evaluación de su actividad antonista a Phytophtora infestans (Mont) de Bary.* Tesis de Biologa Microbióloga- Parasitóloga , Universidad Nacional Mayor de San Marcos , Facultad de Ciencias Biológicas, Escuela Profesional de Microbiología y Parasitología , Lima, Perú. Obtenido de https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/10751/Chumpitaz_ba.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Condoy, B. (2020). *Emergencia de semillas de Clitoria ternatea con métodos naturales y químicos.* Proyecto de Investigación , Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales - Carrera Ingeniería Agronómica , La Maná .

Divito, G., & Sadras, V. (2014). *Cómo afecta el fósforo, el potasio y el azufre al crecimiento de las leguminosas y la fijación biológica de nitrógeno.* Facultad de Ciencias Agrarias UNMdP - Coonsejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Argentina .

Elizalde, J. M., & Ruy, E. (2021). *Instituto de Ecología.* Obtenido de Bacterias que nutren: https://www.inecol.mx/inecol/index.php/es/ct-menu-item-25/ct-menu-item-27/17-ciencia-hoy/1036-bacterias-que-nutren

Espinoza, A., Franco, D., Fajardo, P., & Real, G. (2020). Crecimiento y rendimiento de Clitoria ternatea con la aplicación de fertilizantes biológicos. *Nexo Agropecuario, Vol 8*(No.2). Obtenido de https://revistas.unc.edu.ar/index.php/nexoagro/issue/view/2211

Estrada, J. (2002). *Pastos y forrajes para el trópico Colombiano* (Primera ed.). (L. Escobar, Ed.) Manizales, Colombia: Universidad de Caldas.

Fernández, C., & Novo, R. (2003). *Vida microbiana en el suelo.* Universidad Agraria de la Habana, Facultad de Agronomía , Cuba.

Flores, M. (1983). *Bromatología animal.* México D F., Méxixo: Lumisa.

González, J., & Chown, L. (2008). *Comportamiento agronómico y productivo de nueve leguminosas herbáceas forrajeras, en el municipio de Muy Muy, Matagalpa.* Trabajo de Graduación , Universidad Nacional Agraria , Facultad de Agronomía , Managua, Nicaragua. Obtenido de https://cenida.una.edu.ni/Tesis/tnf01g643c.pdf

González, Y. (2010). *Los actinomicetos: una visión como promotores de crecimiento vegetal.* Trabajo de grado , Pontificia Universidad Javeriana , Facultad de Ciencias Agrícola y Veterinaria , Bogotá D.C. Obtenido de https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8665/tesis618.pdf;sequence=1

Lara, C., Villalba, M., & Oviedo, L. (2007). Bacterias fijadoras asimbióticas de nitrógeno de la zona agrícola de San Carlos, Córdoba. *Revista Colombiana*

de Biotecnología, Vol. IX(No.2), 6-14. Obtenido de https://www.redalyc.org/pdf/776/77690202.pdf

Larrea de Granados, E. (2020). *Unidad Curricular de Titulación.* Quito, Ecuador : Consejo de Educación Superior . Obtenido de https://www.ces.gob.ec/doc/2-seminario/unidad-de-titulacion.pdf

León, R., Bonifaz, N., & Gutiérrez, F. (2018). *Pastos y forrajes del Ecuador Siembra y producción de pasturas* (Vol. Primera edicción). Cuenca , Ecuador : Universidad Politécnica Salesiana .

López, A. (1998). *El mejoramiento de la agricultura mediante la biodegradación controlada de los residuos orgánicos.* Instituto Interamericano para la Agricultura , San José - Costa Rica.

López, K., & Sandoval, K. (2020). *Extracción de un bioestimulante a partir de Clitoria ternatea para mejorar el crecimiento de la planta de pimiento (Capsicum annuum) durante sus etapas iniciales en la zona de Quevedo, provincia de Los Ríos.* Trabajo de Investigación , Universidad de Guayaquil, Facultad de Ingeniería Química , Guayaquil.

Ludeña, C., & Álvarez, G. (2011). *Comportamiento agronómico y valoración nutricional de kudzu tropical (Pueraria phaseloides) y Clitoria (Clitoria ternatea).* Quevedo: Universidad Tècnica Estatal de Quevedo Unidad de Estudios a Distancia Carrera Ingenieria Agropecuaria.

Luna, R. (2014). *Rizosfera de las asociaciones de gramíneas y leguminosas de interés ganadero. Finca La María.* Guayaquil- Ecuador: Universidad de Guayaquil Facultad de Ciencias Médicas Maestría en Microbiología Avanzada.

Martínez, F. (05 de octubre de 2021). *Info Pastos y Forrajes*. Obtenido de https://infopastosyforrajes.com/las-leguminosas/

Medel, C. (2008). *Evaluación de la densidad de plantas en el rendimiento y calidad de semilla de Clitoria ternatea CV. Tehuana.* Universidad del Papaloapan. Loma Bonita: Universidad del Papaloapan.

Ojeda, L., Furrazola, E., & Hernández, C. (2014). Micorrizas arbusculares en leguminosas de la empresa pecuaria El Tablón, Cuba. *Pastos y Forrajes, Vol 37* (No. 4), 392-398. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03942014000400002

Patiño-Torres, C., & Sanclemente- Reyes, O. (2014). Los microorganismos solubilizadores de fósforo (MSF): una alternativa biotecnológica para una agricultura sostenible. *Entramado, Vol 10*(No. 2), 288-297. Obtenido de https://www.redalyc.org/pdf/2654/265433711018.pdf

Pedraza, R., Teixeira, K., Fernández, A., García, I., Baca, B., Azcón, R., . . . Bonilla, R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. *Revista Corpoica- Ciencia y Tecnología, Vol 11* (No.2), 155-164.

Perdomo, C., Barbazán, M., & Durán, J. (2015). *Nitrógeno.* Montevideo, Uruguay: Facultad de Agronomía Universidad de la Republica . Obtenido de http://www.fagro.edu.uy/~fertilidad/publica/Tomo%20N.pdf

Pereyra, M. (2001). *Asimilación del nitrógeno en plantas.* Espana: Universidad de la Pampa Facultad de Agronomía . Obtenido de http://exa.unne.edu.ar/biologia/fisiologia.vegetal/Asimilacion%20del%20nitrogeno.pdf

Pérez, S., Coto, O., Echemendia, M., & Graciela, Á. (2015). Pseudomonas fluorescens Migula, ¿control biológico o patógeno? *Revista de Protección Vegetal, Vol 30* (No 3), 225-234. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522015000300008

Peters, M., Franco, L., Shmidt, A., & Hincapié, B. (2003). *Especies forrajeras Multipropósito.* Cali, Colombia: Centro internacional de agricultura Tropical (CIAT).

Pincay- Ganchozo, R., Luna- Murillo, R., Espinoza.Coronel, A., & medina-Villacis, M. (2020). Inoculantes bacterianos del género Azotobacter en la asociación del pasto Andropogon gayanus con clitoria y kudzú (Pueraria phaseoloides). *Nexo Agropecuario, Vol 8*(No. 2), 27-35 .

Ponce, F. (2014). Conchita azul, potencial forrajero. *La Ciencia y el Hombre, Vol 27*(No 2). Obtenido de https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol27num2/articulos/conchita-azul.html

Probanza, L. (2012). *La rizósfera: un criptoecosistema vita, Aspectos básicos y aplicados*. Recuperado el 06 de octubre de 2021, de Infoagrónomo : https://infoagronomo.net/que-es-la-rizosfera/

Rivera, E. (2017). *Comportaiento agronómico de zapatillo de la reina (Clitoria ternatea).* Proyecto de Investigación, Universidad Técnica de Cotopaxi, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales Carrera Ingeniería Agronómica, La Maná.

Rivera, M. (2013). *Evaluación a la respuesta del pimiento (Capsicum annuum L) variedad canon y del pepino (Cucumis sativa L) variedad primavera a la*

inoculación con rizobacterias. Tesis , Universidad Autónoma de Querétaro , Facultad d eQuímica , Querétaro.

Sosa, E., Alejos de la Fuente, J., Pro- Martínez, A., Gonzaález, F., Enríquez, J., & Torres, M. (2020). Composición química y digestibilidad de cuatro leguminosas tropicales mexicanas. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, Vol 24*, Pp 211-220. doi:10.29312/remexca.v0i24.2371

Spagnoletti, F., Fernández, A., Tobar, N., & Chiocchio, V. (2013). Las micorrizas arbusculares y Rhizobium: una simbiosis dual de interés. *Revista Argentina de Microbiología, Vol 45* (No. 2), 131-132. Obtenido de www.elsevier.es/ram

Troya, S. (2011). *Población de bacterias y Hongos en la asociación de leguminosas rastreras y arbustivas con dos variedades de pastos.* Tesis de grado, Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Unidad de Estudios a Distancia Carrera Ingeniería Agropecuaria , Quevedo. Obtenido de https://repositorio.uteq.edu.ec/bitstream/43000/2220/1/T-UTEQ-0260.pdf

Vera, J., & Brito, F. (2018). *Digestibilidad in situ y valor nutricional del pasto saboya asociadas a tres leguminosas forrajeras nativas en la zona norte de Manabí.* Trabajo de Titulación Maestría en Nutrición y Producción Animal, Universidad de las Fuerzas Armadas , Centro de Posgrados Maestría en Nutrición y Producción Animal, Sangolqui- Ecuador . Obtenido de http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/14750/1/T-ESPE-057928.pdf

Villanueva, J. (2000). *Clitoria leguminosa forrajera de excelencia para el trópico mexicano.* Folleto técnico No. 1, Instituto Nacional de Investigaciones

Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Centro de Investigación Regional del Pacífico Centro Campo Experimental El Verdineño.

Wang, T., Martínez, J., & López, I. (2020). Rhizobium y su destacada simbiosis con plantas. México. Recuperado el 06 de octubre de 2021, de http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap8/

Yanes, M., & Ramón, T. (2005). *Memorias de la semana de divulgación y video científico UJAT.* Villahermosa, Tabasco, México: Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

9. Anexos

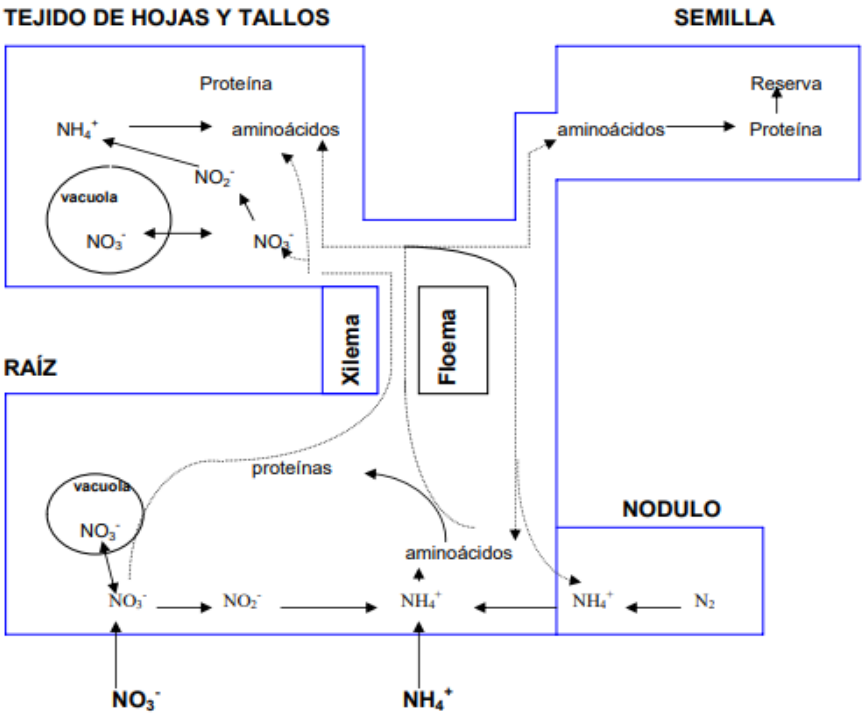


Figura 1. Absorción, reducción y acumulación de nitrato en los diferentes tejidos de la planta. Ciclo de los aminoácidos
Fuente: (Pereyra, 2001)

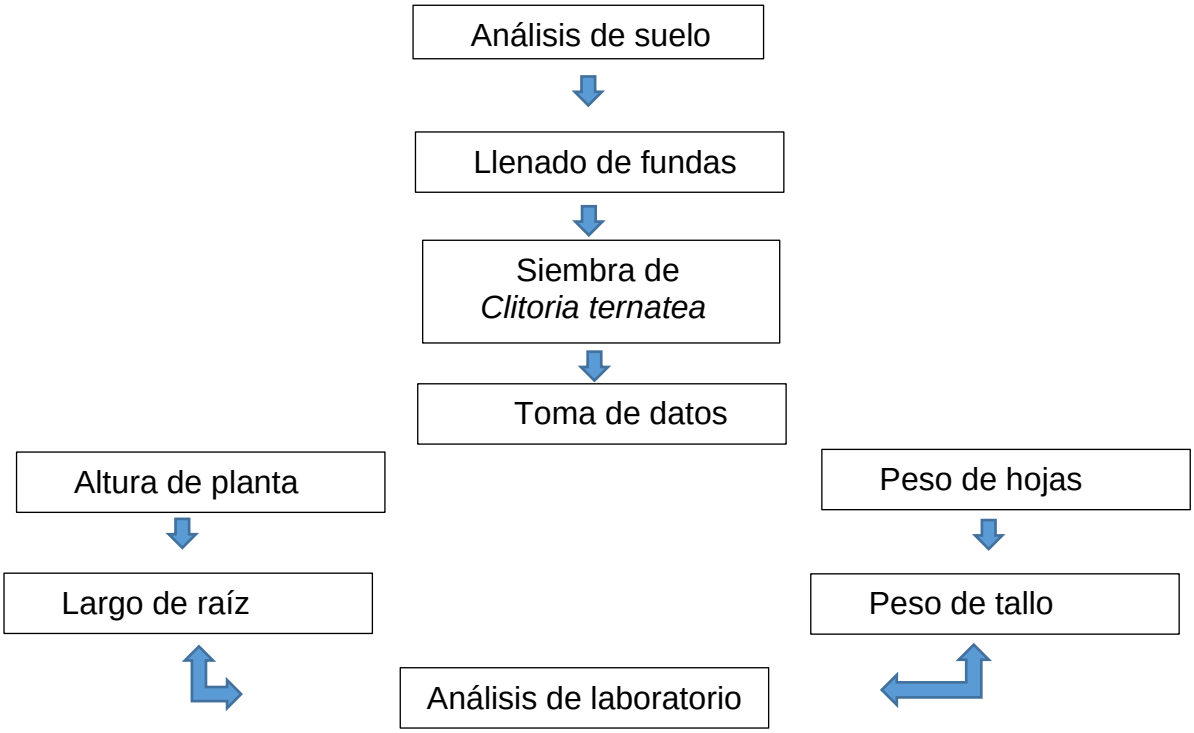


Figura 2. Diagrama de flujo de la investigación

Figura 5. Llenado de fundas para la investigación

Figura 6. Planta de Clitoria ternatea en sus primeros días

Figura 7. Toma de datos de altura de planta (cm)

Figura 8. Peso de raíz (g) de *Clitoria ternatea*

Figura 9. Presencia de nódulos en el sistema radicular de Clitoria ternatea

Figura 10. Preparación de muestra para envio a los laboratorios