



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

Tesis de Grado

**“Identificación de microorganismos edáficos asociados a
cuatro diferentes plantaciones forestales en la zona central del
Litoral Ecuatoriano”**

**Previo a la obtención del título de:
Ingeniero Forestal**

Autor:

Adrián Alfredo Cruz Cruz

Director:

Ing. MSc. Oscar Prieto Benavides

Los Ríos - Ecuador

2015

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Adrián Alfredo Cruz Cruz**, declaro que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentado para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, y por la normatividad institucional vigente.

Adrián Alfredo Cruz Cruz

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

El suscrito, **Ing. MSc. Oscar Prieto Benavides**, Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica:

Que el señor egresado **Adrián Alfredo Cruz Cruz**, autor de la tesis de grado **“Identificación de microorganismos edáficos asociados a cuatro diferentes plantaciones forestales en la zona central del Litoral Ecuatoriano”** ha cumplido con todas las disposiciones respectivas.

Ing. MSc. Oscar Prieto Benavides
Director de Tesis



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES
CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

Tesis presentada al Comité Técnico Académico Administrativo de la Facultad de Ciencias Ambientales como requisito previo a la obtención del título de;

INGENIERO FORESTAL

“Identificación de microorganismos edáficos asociados a cuatro diferentes plantaciones forestales en la zona central del Litoral Ecuatoriano”

Aprobado:

Ing. Darwin Salvatierra Piloza
PRESIDENTE DEL TRIBUNAL

Ing. Guillermo Law Blanco
INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Ing. Nicolás Cruz Rosero
INTEGRANTE DEL TRIBUNAL

Quevedo – Los Ríos - Ecuador
2015

DEDICATORIA

A mi hijo y esposa, por ser las personas que más amo, aprecio y estimo en esta vida, por todo el valor moral y apoyo incondicional que he recibido de ellos.

A mi madre y abuela, pilar fundamental, persona que siempre han velado por mí con su valiosa ayuda y apoyo a lo largo de mi carrera estudiantil, por haber inculcado valores éticos y morales con respecto y honestidad.

A mis catedráticos, guías constantes, quienes brindaron sus conocimientos, sabiduría y sus experiencias dentro y fuera de las aulas de clases.

Adrián Alfredo Cruz Cruz

AGRADECIMIENTO

A toda mi familia, porque siempre he contado con ellos para todo y gracias por la confianza, el apoyo y amistad que siempre nos hemos tenido.

A la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por permitirme ser parte de una generación de triunfadores y gente productiva para el país.

A todo el Personal Académico y Administrativo de la Facultad de Ciencias Ambientales, que aportaron en mi formación profesional.

Por último, quiero agradecer a todas aquellas personas que sin esperar nada a cambio compartieron sus conocimientos adquiridos, a todos aquellos que durante los cinco años que duró este sueño lograron convertirlo en una realidad.

Adrián Alfredo Cruz Cruz

INDICE

	Pág.
PORTADA	i
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS	ii
CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS	iii
CERTIFICADO DEL TRIBUNAL DE TESIS	iv
DEDICATORIA	v
AGRADECIMIENTO	vi
RESUMEN	xii
ABSTRAC	xiii

CAPÍTULO I MARCO CONTEXTUAL DE INVESTIGACIÓN

1.1.	INTRODUCCIÓN	2
1.2.	OBJETIVOS	4
1.2.1.	Objetivo General	4
1.2.2.	Objetivos Específicos	4
1.3.	HIPÓTESIS	4

CAPÍTULO II MARCO TEORICO

2.1.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	6
2.1.1.	El suelo	6
2.1.2.	Microorganismos edáficos del suelo	7
2.1.2.1.	<i>Hongos</i>	7
2.1.2.2.	<i>Bacterias</i>	8
2.1.3.	Grupos funcionales de microorganismos de suelo	10
2.1.3.1.	Proteolíticos	10
2.1.3.2.	Amonificantes	10

2.1.3.3.	Amilolíticos	10
2.1.3.4.	Ureolíticos	11
2.1.4.	Características de las especies forestales	12
2.1.4.1.	<i>Tabebuia donnell-smithii</i> rose (Guayacán Blanco)	12
2.1.4.2.	<i>Terminalia ivorensis</i>	13
2.1.4.3.	<i>Schizolobium parahybum</i> (pachaco)	13
2.1.4.4.	<i>Cordia alliodora</i> (laurel)	14

CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.	MATERIALES y MÉTODOS	17
3.1.1.	Localización y características edafoclimáticas del área de estudio	17
3.1.2.	Materiales	18
3.2.	METODOLOGÍA	20
3.2.1.	Medios de cultivos	20
3.2.2.	Poblaciones microbianas estudiadas	20
3.2.2.1.	Recuento de bacterias y hongos	20
3.2.2.2.	Bacterias	21
3.2.2.3.	Hongos	21
3.2.3.	Evaluación de grupos funcionales bacterianos y fúngicos	21
3.2.3.1.	Grupos funcionales microbianos que participan en el ciclo del nitrógeno.	22
3.2.3.2.	Grupos funcionales microbianos que participan en el ciclo del carbono.	23
3.2.4.	Identificación de Microorganismos aislados del Suelo	23
3.3.	Tratamiento y diseño experimental	24
3.3.1.	Tratamientos	25

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.	RESULTADOS	27
4.1.1.	Poblaciones bacterianas y de hongos viables presentes en el suelo	27
4.1.1.1.	Población de bacterias	27
4.1.1.2.	Identificación bioquímica de colonias de bacterias	28
4.1.1.3.	Población de hongos	29
4.1.1.4.	Identificación fúngica presentes en el suelo	30
4.1.2.	Grupos funcionales bacterianos y fúngicos de las plantaciones forestales	31
4.1.2.1.	Bacterias proteolíticas	31
4.1.2.2.	Bacterias amilolíticas	32
4.1.2.3.	Bacterias amonificantes	33
4.1.2.4.	Población fúngica proteolítica	34
4.1.2.5.	Población fúngica amilolítica	35
4.1.2.6.	Población fúngica amonificante	36
4.2.	DISCUSIÓN	37

CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1.	Conclusiones	42
5.2.	Recomendaciones	43

CAPÍTULO VI BIBLIOGRAFIA

6.1.	Literatura Citada	45
------	-------------------	----

CAPÍTULO VII ANEXOS

7.1.	Anexos	50
------	--------	----

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Principales variables edafoclimáticas del área de estudio	17
2	Género de hongos aislados e identificados en suelos bajo diferentes plantaciones forestales comerciales, UTEQ 2015.	30

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Población bacteriana (Log_{10} UFC) en suelos bajo diferentes plantaciones forestales, a las 48 horas después de la inoculación. UTEQ 2015.	27
2	Porcentaje de colonias bacterianas, aisladas desde suelos bajo cuatro plantaciones forestales comerciales, sometidas a análisis bioquímicos de tinción de Gram y Catalasa. UTEQ 2015.	28
3	Población de hongos (Log_{10}) en suelos bajo diferentes plantaciones forestales comerciales, a las 96 y 120 horas de incubación. UTEQ 2015.	29
4	Recuento de Bacterias proteolíticas originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.	31
5	Recuento de Bacterias amilolíticas originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.	32
6	Recuento de Bacterias amonificantes originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.	33

7	Recuento de la población fúngica proteolítica originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.	34
8	Recuento de la población fúngica amilolítica originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.	35
9	Recuento de la población fúngica amonificante originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.	36

RESUMEN

En la presente investigación se realizó la identificación de microorganismos edáficos asociados a cuatro diferentes plantaciones forestales en la zona central del Litoral Ecuatoriano, el trabajo consto de 4 tratamientos y 3 repeticiones, los tratamientos en estudio fueron los siguientes: **T1:** Plantación forestal de *Cybistax donnel-smithii* (Guayacán blanco), **T2:** Plantación forestal de *Schizolobium parahybum* (Pachaco), **T3:** Plantación forestal de *Terminalia ivorensis* (Terminalia), **T4:** Plantación forestal de *Cordia alliodora* (Laurel). Se utilizaron diferentes metodologías para la identificación de los grupos funcionales (bacterias y hongos). En cuanto al análisis bioquímico de tinción de Gram realizado a los cuatro tratamientos en estudio, se encontró una mayor cantidad de bacterias gram positiva y catalasa positiva en las cuatro plantaciones forestales comerciales. Respecto al recuento de poblaciones de hongos a las 96 horas como a las 120 horas de inoculación se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos donde el T1 *Cybistax donnel-smithii* se mostró superior a los demás tratamientos. Las poblaciones de bacterias proteolíticas del suelo proveniente de *Cordia alliodora* fueron mayores que los otros tratamientos con un valor de Log_{10} 4,916. Se acepto la hipótesis planteada al inicio de la presente investigación, en la cual se deja por sentado que las poblaciones bacterianas y fúngicas al igual que los grupos funcionales de las cuatro plantaciones forestales comerciales, cumplen un papel fundamental en el suelo.

ABSTRAC

In this research the identification of soil microorganisms associated with four different forest plantations in the central area of the Ecuadorian coast was made, the work I consist of 4 treatments and 3 repetitions, the treatments studied were: T1: Forest Plantation *Cybistax donnel-smithii* (white Guayacán), T2: Forest Plantation *Schizolobium parahybum* (Pachaco), T3: forest plantation *Terminalia ivorensis* (Terminalia), T4: forest plantation *Cordia alliodora* (Laurel). Different methodologies for the identification of functional groups (bacteria and fungi) were used. Regarding the biochemical analysis Gram stain performed on all four study treatments, a greater number of gram positive and catalase positive four found commercial forest plantations. Regarding fungal populations count at 96 hours and 120 hours of inoculation statistically significant differences between treatments where T1 *Cybistax donnel-smithii* was superior to other treatments were presented. The populations of proteolytic bacteria from soil *Cordia alliodora* were higher than the other treatments with a value of 4,916 log₁₀. The hypothesis at the beginning of this investigation, which is left for granted that bacterial and fungal as well as the functional groups of four commercial forest plantations, populations play a key role in soil was accepted.

CAPÍTULO I
MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. INTRODUCCIÓN

El suelo es un sistema complejo, heterogéneo y dinámico capaz de sostener el crecimiento de un gran número de organismos y microorganismos. Un gramo de suelo puede albergar más de 10⁸ microorganismos que son responsables de la mineralización de compuestos orgánicos, formación de humus, ciclaje de nutrientes y muchos otros aspectos importantes en el funcionamiento y en la salud del ecosistema.

El conteo de microorganismos totales puede indicar la calidad, fertilidad y salud del suelo y, además, proporcionar información sobre los efectos de las intervenciones antropogénicas. El componente heterótrofo edáfico cumple un papel muy importante en el ciclo de carbono, en procesos de mineralización de compuestos orgánicos y producción de CO₂, el cual puede ser usado como fuente de carbono por organismos y microorganismos autótrofos. Los heterótrofos son los microorganismos más numerosos en el suelo y su conteo es muy importante ya que permite conocer la calidad y productividad del suelo, así como también la disponibilidad de nutrientes y materia orgánica.

Los microorganismos del suelo son los seres más numerosos que existen en el planeta, pertenecen a diferentes dominios: Archea, Bacteria y Eukaria y estas a su vez se agrupan en los reinos Chromistas, Protozoa, Fungí, Plantae y Animalia (Carillo, 2003). Comprenden a las bacterias, actinomicetos, hongos, algas, protozoarios, virus y bacteriófagos (Nogales, 2005).

Constituyen uno de los principales agentes que causan los fenómenos bioquímicos y determinan el patrón y la proporción de la descomposición de materia orgánica, reciclaje, liberación e inmovilización de nutrientes (Olalde y Aguilera, 1998) además, realizan actividades indispensables para las especies vegetales.

Los microorganismos del suelo se utilizan como bioindicadores de la salud del suelo, debido a la importancia de su función en los ciclos biogeoquímicos de la

materia, de este modo se han constituido en una importante herramienta para monitorear alteraciones en los ecosistemas, ya que responden rápidamente a cambios físicos o químicos. Algunos indicadores ecológicos que muestran el dinamismo de los procesos en el suelo son: el número y diversidad de microorganismos y sus productos enzimáticos (Peacock *et al.*, 2001).

1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo General

Determinar que microorganismos edáficos se encuentran asociados a cuatro plantaciones forestales de la zona central del Litoral Ecuatoriano.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Establecer la diversidad y densidad poblacional de hongos y bacterias que están asociados a cuatro plantaciones forestales.
- Identificar cualitativa y cuantitativamente los principales grupos funcionales que están asociados a cuatro plantaciones forestales.

1.3. HIPÓTESIS

H₁ En las plantaciones forestales existen simbiosis de hongos y bacterias como organismos edáficos.

H₀ En las plantaciones forestales no se asocian ningún tipo de microorganismos edáficos.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1.1. El suelo

El suelo es un sistema estructurado, heterogéneo y discontinuo, fundamental e irremplazable, desarrollado a partir de una mezcla de materia orgánica, minerales y nutrientes capaces de sostener el crecimiento de organismos y microorganismos (Nannipieri *et al.*, 2003).

La formación del suelo es un proceso complejo que involucra cambios físicos, químicos y biológicos de la roca originaria. Los cambios físicos implican la reducción de tamaño de las partículas sin ninguna alteración en su composición y son causados por ciclos de hielo-deshielo, lluvia y otros efectos ambientales. Los cambios químicos son originados por la separación de partículas minerales de las rocas, su alteración o destrucción y resíntesis a compuestos sólidos estables, se debe principalmente a la acción del agua, el oxígeno, el dióxido de carbono y compuestos orgánicos (Budhu, 2007).

Los cambios biológicos son realizados por la comunidad que habita el suelo: flora (plantas), macrofauna (vertebrados), mesofauna (artrópodos, anélidos, nemátodos y moluscos), microfauna (protozoos y algunos nemátodos) y microbiota (bacterias, actinomicetes, hongos, y algas), donde el 80 al 90% de los procesos en el suelo son reacciones mediadas por la microbiota (Porta *et al.*, 2003). Estos cambios biológicos son: degradación y aporte de materia orgánica, producción de CO₂ en la respiración, intervención en la movilidad de los ciclos biogeoquímicos de los elementos y efectos mecánicos de animales y plantas como fraccionamiento de las rocas por las raíces, entre otros.

El suelo presenta propiedades físicas y químicas que le confieren características particulares y su descripción tanto en campo como en el laboratorio es muy importante, ya que tienen gran influencia en el componente microbiano edáfico (Porta *et al.*, 2003).

2.1.2. Microorganismos edáficos

2.1.2.1. Hongos

Los hongos son un grupo de seres vivos diferentes de las plantas y de los animales, razón por la cual se clasifican en un reino aparte llamado Fungi. La ciencia que los estudia se llama Micología (Mykes=Hongo y Logos=Estudio). Poseen gran capacidad de adaptación y pueden desarrollarse sobre cualquier medio o superficie, tanto en los bosques como en las ciudades. Se reproducen por medio de esporas, las cuales son diseminadas principalmente por el viento y por el agua (Gaxiola, y Madinaveitia, 2007).

Juegan un papel descomponedor, ya que transforman la materia orgánica en sustancias más simples y asimilables por otros seres vivos. Pero también pueden desarrollarse formando asociaciones de beneficio mutuo con raíces de plantas (micorrizas) y con algas dando origen a los líquenes --que son organismos totalmente diferentes a las plantas y a los mismos hongos--, mientras que algunos crecen sobre otros seres vivos produciéndoles enfermedad o incluso la muerte.

Los hongos han jugado y juegan un papel muy importante en la medicina, la industria y la alimentación. La era de los antibióticos se inicia con el descubrimiento de la penicilina, obtenida a partir del hongo *Penicillium notatum*; asimismo algunos hongos son importantes en la industria de quesos, cerveza, vinos y otros; además de la excelente fuente de vitaminas, proteínas, fibra y minerales que constituyen los hongos comestibles (Gaxiola, y Madinaveitia, 2007).

Aunque no se conoce con exactitud el número de especies, hasta ahora se han descrito aproximadamente 80.000 en todo el mundo. En Costa Rica se conocen alrededor de unas 2.000 especies, pero se calcula que en su territorio podrían habitar entre 40.000 y 70.000 (Gaxiola, y Madinaveitia, 2007).

2.1.2.2. Bacterias

Son seres generalmente unicelulares que pertenecen al grupo de los protistos inferiores. Son células de tamaño variable cuyo límite inferior está en las 0,2m y el superior en las 50 m; sus dimensiones medias oscilan entre 0,5 y 1m. Las bacterias tienen una estructura menos compleja que la de las células de los organismos superiores: son células procariotas (su núcleo está formado por un único cromosoma y carecen de membrana nuclear). Igualmente son muy diferentes a los virus, que no pueden desarrollarse más dentro de las células y que sólo contienen un ácido nucleico (Glick *et al.*, 1999).

Las bacterias juegan un papel fundamental en la naturaleza y en el hombre: la presencia de una flora bacteriana normal es indispensable, aunque gérmenes son patógenos. Análogamente tienen un papel importante en la industria y permiten desarrollar importantes progresos en la investigación, concretamente en fisiología celular y en genética. El examen microscópico de las bacterias no permite identificarlas, ya que existen pocos tipos morfológicos, cocos (esféricos), bacilos (bastón), espirilos (espiras) y es necesario por lo tanto recurrir a técnicas que se detallarán más adelante. El estudio mediante la microscopia óptica y electrónica de las bacterias revela la estructura de éstas.

En la microflora del suelo conviven distintos géneros bacterianos. Estos se encuentran preferentemente interactuando con las raíces de las plantas. Dicha acción puede ser benéfica, perjudicial o neutral desde el punto de vista del desarrollo y crecimiento vegetal. Aquellas bacterias rizosféricas capaces de impactar positivamente sobre el crecimiento de cualquier especie vegetal, son comúnmente conocidas como PGPR (Glick *et al.*, 1999).

Se distinguen distintos tipos nutricionales según la fuente de energía utilizada: las bacterias que utilizan la luz son fotótrofas y las que utilizan los procesos de oxirreducción son quimiótrofas. Las bacterias pueden utilizar un sustrato mineral (litótrofas) u orgánico (organótrofas). Las bacterias patógenas que viven a expensas de la materia orgánica son quimioorganótrofas.

La energía en un sustrato orgánico es liberada en la oxidación del mismo mediante sucesivas deshidrogenaciones. El aceptor final del hidrógeno puede ser el oxígeno: se trata entonces de una respiración. Cuando el aceptor de hidrógeno es una sustancia

orgánica (fermentación) o una sustancia inorgánica, estamos frente a una anaerobiosis.

Además de los elementos indispensables para la síntesis de sus constituyentes y de una fuente de energía, ciertas bacterias precisan de unas sustancias específicas: los factores de crecimiento. Son éstos unos elementos indispensables para el crecimiento de un organismo incapaz de llevar a cabo su síntesis. Las bacterias que precisan de factores de crecimiento se llaman "autótrofas". Las que pueden sintetizar todos sus metabolitos se llaman "protótrofas". Ciertos factores son específicos, tal como la nicotinamida (vitamina B₃) en *Proteus*. Existen unos niveles en la exigencia de las bacterias. Según André Lwoff, se pueden distinguir verdaderos factores de crecimiento, absolutamente indispensables, factores de partida, necesarios al principio del crecimiento y factores estimulantes. El crecimiento bacteriano es proporcional a la concentración de los factores de crecimiento. Así, las vitaminas, que constituyen factores de crecimiento para ciertas bacterias, pueden ser dosificadas por métodos microbiológicos (B12 y *Lactobacillus lactis Doraren*). (Sánchez y Corrales, 2005).

Se puede medir el crecimiento de las bacterias siguiendo la evolución a lo largo del tiempo del número de bacterias por unidad de volumen. Se utilizan métodos directos como pueden ser el conteo de gérmenes mediante el microscopio o el conteo de colonias presentes después de un cultivo de una dilución de una muestra dada en un intervalo de tiempo determinado. Igualmente se utilizan métodos indirectos (densidad óptica más que técnicas bioquímicas) (Sánchez y Corrales, 2005).

Existen seis fases en las curvas de crecimiento. Las más importantes son la fase de latencia (que depende del estado fisiológico de los gérmenes estudiados) y la fase exponencial, en la que la tasa de crecimiento es máxima. El crecimiento se para como consecuencia del agotamiento de uno o varios alimentos, de la acumulación de sustancias nocivas, o de la evolución hacia un pH desfavorable: se puede obtener una sincronización en la división de todas las células de la población, lo que permite estudiar ciertas propiedades fisiológicas de los gérmenes (Sánchez y Corrales, 2005).

2.1.3. Grupos funcionales de microorganismos del suelo

2.1.3.1. *Proteolíticos*

Para que el nitrógeno orgánico unido quede libre y pueda ser rehusado, el primer proceso que debe ocurrir es la hidrólisis enzimática de las proteínas (proteólisis). Esta las efectúan los microorganismos extracelulares que transforman las proteínas a unidades más pequeñas (péptidos).

Algunas especies de bacterias elaboran grandes cantidades de enzimas proteolíticas entre las más activas están las clostridia, como ***Clostridium histolyticum***. Muchos hongos y actinomicetos del suelo son muy proteolíticos (Pelczar *et al.*, 1990).

2.1.3.2. *Amonificantes*

Aunque los microorganismos presentan muchas variaciones en la desaminación, es decir la eliminación de grupos amino, uno de los productos finales es el amoníaco (NH_3). Esta reacción se la clasifica como desaminación oxidativa. La producción de amoníaco se conoce como amonificación (Pelczar *et al.*, 1990).

2.1.3.3. *Amilolíticos*

El almidón es el material de reserva que predomina en las plantas y comúnmente se presenta en gránulos con una típica estructura en capas. Está compuesto de dos glucanos: amilosa y amilopectina. La amilosa es soluble en agua caliente y se tiñe de azul con una solución acuosa de yodo. Consiste de una cadena helicoidal no ramificada de unas 200 - 500 unidades de D α glucosa con enlaces 1,4- α -glicosídicos. La amilopectina se hincha en agua caliente dando una pasta y toma un color pardo violáceo con yodo.

La viscosidad de la solución de almidón y el color de su reacción con yodo se reducen rápidamente durante la hidrólisis (Carrillo, 2003). Producen amilasas muchos hongos del suelo así como bacterias de los géneros *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* entre otras.

La actividad amilolítica varía a veces con el tipo de vegetación, la humedad y las características del suelo. El almidón es degradado por clostridios fijadores de nitrógeno en los suelos anegados, a los que recientemente se incorporó material vegetal rico en polisacáridos.

2.1.3.4. Ureolíticos

La urea añadida a los sustratos en procesos de fermentación de sustratos sólidos (FSS), es transformada a amoníaco (NH_3) por efecto de especies microbianas Ureolíticas (Valiño *et al.*, 2002; Calderón *et al.*, 2005), si el sustrato tiene un aporte energético bajo, los microorganismos no pueden incorporarlo en la formación de aminoácidos para su crecimiento o lo hacen en una proporción baja. Cuando se tiene un pH bajo, el NH_3 producido es retenido en el sustrato (Rodríguez *et al.*, 2001). El NH_3 también puede producirse por actividad desaminativa (Calderón *et al.*, 2005). El NH_3 como compuesto puede ser utilizado por ciertos microorganismos que no hidrolizan la urea agregada, como resultado de esto la cantidad de algunos microorganismos presentes en los sustratos fermentados se puede incrementar (Valiño *et al.*, 2002).

2.1.4. Características de las especies forestales

2.1.4.1. *Tabebuia donnell-smithii* rose (Guayacán Blanco)

Tabebuia donnell-smithii (guayacán blanco), es conocido comúnmente como primavera, posee una gran distribución y abundancia natural, la cual se ha visto reducida debido a la tala excesiva, provocada por la gran demanda de madera existente en el mercado, donde alcanza un gran precio debido a la calidad de su madera, reportando innumerables usos entre ellos muebles, molduras y chapa decorativa. Este árbol de gran tamaño además de cultivarse para la producción de madera, cuyo grado de rendimiento es extremadamente bueno, se lo hace también como un árbol de ornamento, en parte debido a su impresionante despliegue estacional de flores amarillas. El rango nativo de esta especie se extiende desde México a través de Guatemala, El Salvador y el norte y centro de Honduras. Fuera de este rango ha sido evaluada como árbol maderable en Costa Rica, Hawai, Puerto Rico y Ecuador (Vozzo, 2010).

Se propaga por semilla con un porcentaje de germinación promedio de 47% Vozzo (2010). Este tipo de propagación en función de la recombinación genética no garantiza un individuo con las mismas características seleccionadas de las plantas matrices (Wendling, 2004). Diferentes estrategias de propagación permiten la obtención y multiplicación clonal, entre ellos la micropropagación in vitro, el desarrollo de semillas artificiales que implica el empleo de embriones somáticos encapsulados en una testa sintética protectora, obtención de embriones somáticos, las mismas que requieren de mano de obra calificada, alta inversión en las instalaciones especializadas, encareciendo el costo de la planta.

La principal ventaja asociada a la utilización de la propagación vegetativa se encuentra en el campo del mejoramiento genético, debido a que permite transferir aquellas características que por su baja heredabilidad no se traspasan eficientemente a la descendencia por vía sexual, mientras no se

utilicen técnicas especiales como polinizaciones controladas o huertos biclonales (Gutiérrez y Chung, 1994).

2.1.4.2. *Terminalia ivorensis*

Terminalia ivorensis (A. Chev.), conocido como idigbo, es un árbol de tamaño grande de los bosques naturales y las plantaciones en África Occidental, con un fuste recto y con poco ahusamiento. Su madera se usa para muebles, molduras, vigas estructurales, tejados y chapa decorativa y en África la especie se usa como un árbol de sombra en cafetales y plantaciones de cacao (Francis, s.f).

El *idigbo* o *terminalia* es una especie de crecimiento rápido. De acuerdo a reportes, su crecimiento promedia de 1.8 a 2.1 m por año hasta que alcanza 15 m de altura. En Uganda, las tasas iniciales de crecimiento pueden variar de 1.2 a 4.9 m, mientras que de 2 a 3 m son comunes en los buenos sitios en Sierra León. Los árboles dominantes pueden alcanzar alturas de 46 m y unos d.a.p. de 1.5 m. Sin embargo, los árboles de idigbo no son de vida larga. Se pueden producir árboles cosechables con unos d.a.p. de aproximadamente 1 m en plantaciones con una rotación de 40 a 50 años. La madera de mejor calidad se obtiene de los árboles con un d.a.p. de 0.6 a 0.9 m. Los maderos procedentes de árboles de mayor tamaño tienen un duramen quebradizo, mientras que los maderos más pequeños tienen un porcentaje de albura mayor. Los árboles cosechables en tres reservas en Ghana con unos d.a.p. de 13 a 23 cm promediaron 2.5 cm por año en el incremento en el DAP (Francis, s.f).

2.1.4.3. *Schizolobium parahybum* (Pachaco)

El pachaco o guarapuvú es un árbol de crecimiento sumamente rápido de la zona intertropical americana. Su nombre científico es *Schizolobium parahyba* y es originario de las selvas del Brasil, donde también es conocido como ficheira, garapuvú, e inclusive guarapuvú. Asimismo se encuentra en otros países también americanos, aunque lo más frecuente es su introducción

como árbol de cultivo ornamental. Puede alcanzar en pocos años una altura de unos 40 m. La imagen muestra un ejemplar de guapuruvú en los Jardines Botánicos y Zoológico de Hong Kong (Hong Kong Zoological and Botanical Gardens) (Hoyos, 2008).

Este árbol parece ser una especie de eslabón entre las plantas primitivas, como el helecho arborescente del período carbonífero (cuando no existían insectos y otros animales que se encargaran de la polinización) y las plantas con flores, mucho más recientes: de hecho, el guapuruvú tiene en su juventud un aspecto muy similar al de un helecho, y es una de las plantas típicas de la selva de la zona intertropical, que suelen crecer en un ambiente muy oscuro. Estas ideas están ampliadas en los artículos sobre Magnoliopsida y parafilético. En cambio, cuando crecen y acceden directamente a la luz solar gracias a la gran altura que alcanzan en poco tiempo, cambian completamente de aspecto, ramificándose y desarrollando hojas más grandes así como flores de color amarillo, que en Brasil, aparecen en noviembre, es decir, a fines de la primavera austral, mientras que en Venezuela y Colombia, ya en el hemisferio norte aparecen en mayo. Los frutos son en forma de vaina como sucede con las demás leguminosas y se desarrollan de marzo a mayo (otoño). La absorción de luz para la función de la fotosíntesis es muy eficiente: hasta el tronco tiene color verde, con la excepción de la especie de cicatrices dejadas por las hojas caídas. La longitud del fruto o legumbre es de unos 10 cm y contiene una sola semilla. El botánico Jesús F. Hoyos señala su nombre científico como *Schizolobium parahybum*. Su rápido crecimiento se potencia por el hecho de que todo el árbol (tronco, ramas y hojas) es verde por lo que puede desarrollar la fotosíntesis y por ende, la producción de biomasa (Hoyos, 2008).

2.1.4.4. *Cordia alliodora* (Laurel)

El laurel es un árbol de 8 a 30 m de altura. Hojas simples, alternas, de 8 a 18 cm de largo por 3 a 8 cm de ancho, ovado-lanceoladas o elípticas. Inflorescencias panículadas axilares o terminales, de 5 a 15 y hasta

30 cm de largo. Flores blancas tornándose pardo-oscurecidas, cuando secas. Frutos nueces cilíndricas de 5 mm de largo, con la corola persistente con una sola semilla (Pérez *et al.*, 2005).

Presenta ramitas verticiladas con nudos engrosados donde habitan hormigas (formicarios). Además es la única especie del género en el país que tiene una pubescencia con tricomas estrellados más densos por el envés. En Ecuador a esta especie se le usa en el tratamiento de enfermedades de los pulmones. Las hojas son la parte de la planta más empleada. Su cocimiento se usa para curar enfermedades pulmonares. Se usan calentadas y puestas como emplasto en las rodillas en caso de tindayo. Su cocción se administra por vía oral como antipalúdico y para el latido. Tostadas y molidas, se aplican de forma externa como antiséptico. En Yucatán se toma la miel dos o tres veces por semana, para los nervios. Aunque también se usa la planta como cicatrizante de heridas (Yucatán). En Quintana Roo se usan las semillas molidas para las afecciones cutáneas. En Guerrero para el ombligo salido, se hacen con el látex dos o tres curaciones (Pérez *et al.*, 2005).

En el duramen del tallo de *Cordia alliodora*, se han detectado los componentes quinoideos cordiaacromos A, B y C; policíclicos alioquinol C, cordiaaquinol C y cordiol A; bencenoides aliodorol y cordallinol; el monoterpeno aliodorín, y el componente heterocíclico de oxígeno cordiacromeno A. De las hojas se han aislado varios derivados oxo-hidroxilados del ácido oleanenoico (Pérez *et al.*, 2005).

CAPITULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. MATERIALES y METODOS

3.1.1. Localización y características edafoclimáticas del área de estudio

La investigación a nivel de campo se realizó en cuatro plantaciones forestales comerciales de la zona central del Litoral ecuatoriano. Las muestras de suelo recolectadas en el campo fueron analizadas en el laboratorio de Microbiología Ambiental y Vegetal de la UTEQ, ubicado en el Km 1.5 vía Quevedo - Santo Domingo de los Colorados. Las características edafoclimáticas del área de estudio se presentan en el cuadro 1.

Cuadro 1. Principales variables edafoclimáticas del área de estudio²

Variables Climáticas	Valores
Altitud	75 msnm
Precipitación	1623.8 mm
Temperatura promedio anual	24.6 ° C
Humedad relativa media anual	85.07 %
Heliofanía	788.96 horas luz.
Evaporación	929.84 mm
Zona de vida	bh-T
Topografía	Ligeramente Irregular
Tipo de suelo	Franco arcilloso – limoso
pH	6.5 - 7.0

¹ Según el mapa de suelos disponible en la Unidad INFOTERRA de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo.

² Datos registrados en la Estación Meteorológica del Instituto Nacional de Meteorología en Hidrología (INAMHI) ubicada en la Estación Experimental Tropical Pichilingue (EETP). Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias del Ecuador (INIAP). Datos promedios de 5 años (2012 – 2014).

3.1.2. Materiales

De campo

- Borrador
- Etiquetas
- Fundas plásticas
- Lápiz
- Libro de campo
- Machete
- Sustrato (muestras de suelo)
- Sacapuntas
- Pala de desfonde

De oficina

- Cartuchos de tinta
- Computadora
- Hojas de papel bond A4
- Impresora
- Internet
- Libros especializados
- Memoria externa
- Programas estadísticos

De laboratorio

- Acido láctico
- Agar – Agar
- Agar malta
- Agar nutriente
- Agar peptona

- Agua destilada
- Alcohol antiséptico
- Asparragina
- Cloruro de sodio
- Destroza
- Estreptomicina
- Etanol
- Extracto de carne
- Extracto de malta

Equipos y materiales de laboratorio

- Balanza
- Balanza electrónica
- Caja petri
- Cajas petril plástico
- Elenmeyer 1000 ml
- Elenmeyer 125ml
- Espátula
- Estufa
- Frascos de vidrio de 500 mL
- Gasa
- Gradilla para tubos
- Aza bacteriológica y micológica
- Mascarilla

3.2. METODOLOGÍA

Se evaluó cuatro plantaciones forestales de *Tabebuia donnel-smithii* (Guayacán blanco), *Schizolobium parahybum* (Pachaco), *Terminalia ivorensis* (Terminalia) y *Cordia alliodora* (Laurel). Las muestras se recolectarán utilizando una pala de desfonde, a una profundidad comprendida entre 0 - 20 cm. El estudio se realizó durante la época seca entre los meses de octubre del año 2014 a Diciembre del 2014. En cada lugar de muestreo se recolectaron 10 muestras, cada una estará compuesta por tres submuestras. Las muestras recolectadas desde el campo se almacenaron en refrigeración (5 °C) por un tiempo no mayor a 96 horas, antes de su respectivo análisis.

3.2.1. Medios de cultivos

Los medios de cultivos utilizados fueron Agar Extracto de Malta (AEM) para los hongos y Agar Peptona (AP) para las bacterias. Para los grupos funcionales proteolíticos se empleó el medio de cultivo de gelatina, medio amilólisis para los amilolíticos, medio amonificación para los amonificantes, y medio ureolisis para los ureolíticos (ver anexo).

3.2.2. Poblaciones microbianas estudiadas

3.2.2.1. Recuento de bacterias y hongos

Cada muestra de suelo fue procesada en forma independiente, para ello se pesaron 10 g de suelo que fueron depositados en 100 mL⁻¹ de agua destilada estéril, después de agitar por aproximadamente 5 minutos se tomó 1 mL⁻¹ y se depositó en un tubo que contenía 9 mL⁻¹ de agua destilada estéril, luego de ese tubo se tomo 1 mL⁻¹ y se depositó en otro tubo que también contenía 9 mL⁻¹ de agua destilada estéril, esta metódica se realizó hasta la dilución 10⁻⁷ (diluciones seriadas).

3.2.2.2. Bacterias

Se realizó de acuerdo al método descrito por Zuberer (1994). Para el recuento de bacterias, a partir de la dilución de suelo respectiva, se tomó con una micro pipeta $0,1 \text{ mL}^{-1}$ de la suspensión y se depositó en la superficie de una caja petri que contenía agar peptona, las cajas sembradas se incubaron por 24 y 48 horas, a una temperatura de 24°C . Cada dilución fue sembrada por triplicado (tres cajas).

3.2.2.3. Hongos

Se realizó de acuerdo al método descrito por Parkinson *et al.* (1971). Para hacer el recuento y aislar los hongos se depositó en una caja petri 1 mL^{-1} de la dilución respectiva, y se le adiciono 2 mL^{-1} de una mezcla de antibióticos (50 ug/mL^{-1} de estreptomicina y 50 ug/mL^{-1} de penicilina) y 10 mL^{-1} de agar extracto de malta (AEM) al 2%, las cajas fueron incubadas durante 5 y 6 días, tiempo al que se efectuaron los recuentos y aislamiento de los hongos. El recuento fue expresado como el número de propágulos fúngicos por gramo de suelo seco (PF gss^{-1}). Cada dilución fue sembrada por triplicado.

3.2.3. Evaluación de grupos funcionales bacterianos y fúngicos

Se realizó de acuerdo al método del Número Más Probable por gramo de suelo seco (NMP gss^{-1}) que aparece descrito por Pochon y Tardieux (1965) y Woormer (1994). Las poblaciones microbianas para cada grupo funcional se determinaron por el método del número más probable de microorganismos por gramo de suelo seco, para lo cual se consultó la tabla McCrady para tres repeticiones (3 tubos) por dilución. Se procedió a contar por cada dilución, el número de tubos positivos. De este modo se obtuvo un número característico de tres dígitos, con el que se buscó en la tabla de McCrady el NMP de microorganismos.

3.2.3.1. Grupos funcionales microbianos que participan en el ciclo del nitrógeno.

Proteolíticos. Se realizó de acuerdo al método señalado por Pochon y Tardieux (1965). De las respectivas diluciones de suelo se tomó 1 mL⁻¹ con una micropipeta y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 4 mL⁻¹ de medio de gelatina. Se sembraron 6 tubos por cada dilución, 3 acondicionadas con la mezcla de antibióticos (50 ug/mL⁻¹ de estreptomicina y 50 ug/mL⁻¹ de penicilina), a razón de 2 mL⁻¹ por tubo con la ayuda de una micropipeta, para determinar las poblaciones de hongos proteolíticos y 3 sin antibióticos para determinar las poblaciones de bacterias proteolíticas. El periodo de incubación fue de 7 días para las bacterias y 14 días para los hongos. Los tubos positivos contenían gelatina licuada (licuefacción), esto indicó la degradación de la proteína.

Ureolíticos. Se realizó de acuerdo al método señalado por Pochon y Tardieux (1965). De las respectivas diluciones de suelo se tomó 1 mL⁻¹ con una micropipeta y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 5 mL⁻¹ de caldo de Urea. Se sembraron 6 tubos por cada dilución, 3 acondicionadas con la mezcla de antibióticos (50 ug/mL⁻¹ de estreptomicina y 50 ug/mL⁻¹ de penicilina), a razón de 2 mL⁻¹ por tubo con la ayuda de una micropipeta, para determinar las poblaciones de hongos ureolíticos y 3 sin antibióticos para determinar las poblaciones de bacterias ureolíticas. El periodo de incubación de 7 días para las bacterias y 14 días para los hongos. Los tubos positivos dieron coloración rosado, indicando la alcalinización del medio lo que provocó el viraje de color.

Amonificantes. Se realizó de acuerdo al método señalado por Pochon y Tardieux (1965). De las respectivas diluciones de suelo se tomó 1 mL⁻¹ con una micropipeta y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 5 mL⁻¹ de caldo de asparagina como fuente de carbono y nitrógeno. Se sembraron 6 tubos por cada dilución, 3 acondicionadas con la mezcla de antibióticos (50 ug/mL⁻¹ de estreptomicina y 50 ug/mL⁻¹ de penicilina), a razón de 2 mL⁻¹ por tubo con la ayuda de una micropipeta, para determinar las poblaciones de hongos amonificantes y 3 sin antibióticos para determinar las poblaciones de bacterias amonificantes. El periodo de incubación fue de 20 días tanto para las bacterias como para los hongos. Los tubos positivos dieron coloración amarillo-naranja al reaccionar el amonio con el reactivo Nessler.

3.2.3.2. Grupos funcionales microbianos que participan en el ciclo del carbono.

Amilolíticos. Se realizó de acuerdo al método señalado por Pochon y Tardieux (1965). De las respectivas diluciones de suelo se tomó 1 mL⁻¹ con una micropipeta y se depositó en un tubo de ensayo que contenía 5 mL⁻¹ de medio de Amilólisis (almidón) como única fuente de carbono, haciendo visible su degradación por el reactivo yodo-yodurado (Lugol). Se sembraron 6 tubos por cada dilución, 3 acondicionadas con la mezcla de antibióticos (50 ug/mL⁻¹ de estreptomycin y 50 ug/mL⁻¹ de penicilina), a razón de 2 mL⁻¹ por tubo con la ayuda de una micropipeta, para determinar las poblaciones de hongos amilolíticos y 3 sin antibióticos para determinar las poblaciones de bacterias Amilolíticas. El periodo de incubación fue de 10 días para las bacterias y 15 días para los hongos. Los tubos negativos dieron una coloración azul o caoba al reaccionar el almidón con el Lugol, y los positivos dieron una coloración con un ligero tinte amarillo.

3.2.4. Identificación de Microorganismos aislados del Suelo.

3.2.4.1. Bacterias

En primer lugar se procedió a obtener cultivos puros, seleccionándose colonias bacterianas con las que se realizó un estriado hasta obtener cultivos puros e iniciar los procedimientos bacteriológicos diferenciales. Las colonias puras permitieron llegar a una primera aproximación de la diferenciación bacteriana como son la tinción Gram y la prueba de catalasa.

3.2.4.2. Hongos

Las cepas fúngicas en estudio se sembraron en agar extracto de malta (AEM) al 2% e incubaron a 26 °C por 5 días. Para determinar las características microscópicas, se realizaron montajes en agua destilada, KOH al 10% y azul de metileno en agua. Se observaron las estructuras vegetativas y reproductivas (micelio, conidióforos, y tipos de esporas). Para la identificación se utilizaron

claves de textos especializados (Von Arx, 1981; Barnett y Hunter, 1987; Menezes y Olivera, 1993).

3.3. Tratamiento y Diseño Experimental

3.3.1. Tratamientos

Para fines de análisis se consideraron cuatro sistemas de producción, de las cuales se tomó 3 muestras de suelo por cada uno, cada muestra de suelo estuvo comprendida por 5 submuestras. Los parámetros que se evaluaron fueron: recuento de poblaciones bacterianas y fúngicas, grupos funcionales de microorganismos edáficos, e identificación de hongos a nivel de género mediante por su morfología y crecimientos en medios diferenciados.

La investigación estuvo estructurada por cuatro tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos estuvieron constituidos por los suelos de cuatro sistemas de producción y por cada tratamiento se recolectaron 3 muestras de suelo (repeticiones).

T1: Plantación forestal de *Tabebuia donnel-smithii* (Guayacán blanco)

T2: Plantación forestal de *Schizolobium parahybum* (Pachaco)

T3: Plantación forestal de *Terminalia ivorensis* (Terminalia)

T4: Plantación forestal de *Cordia alliodora* (Laurel)

Los datos de poblaciones microbianas obtenidas a nivel del laboratorio se transformaron a $\log_{10}$ y se sometieron al análisis ANOVA mediante el programa estadístico SYSTAT versión 11 para Windows. Cuando se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, se aplicó la separación de medias mediante la prueba de Tukey ($< 0,05$).

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. Poblaciones bacterianas y de hongos viables presentes en el suelo

4.1.1.1. Población de bacterias

En relación a la población de bacterias existentes en las plantaciones forestales estudiadas, el análisis ANOVA reportó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Donde las poblaciones bacterianas a las 48 horas después de las inoculaciones del suelo procedente de la plantación de *Terminalia ivorensis* con un valor de (5,6) fue la más alta en relación a los datos obtenidos de los otros suelos, seguido por las poblaciones de bacterias suelos procedentes de *Schizolobium parahybum* (5,1) y *Tabebuia donnel-smithii* (4,2), mientras que la menor se encontró en la plantación de *Cordia alliodora* con un valor de 4,2. Cabe mencionar que estos valores están considerados en función de Unidades formadores de colonias (UFC) en Log₁₀.

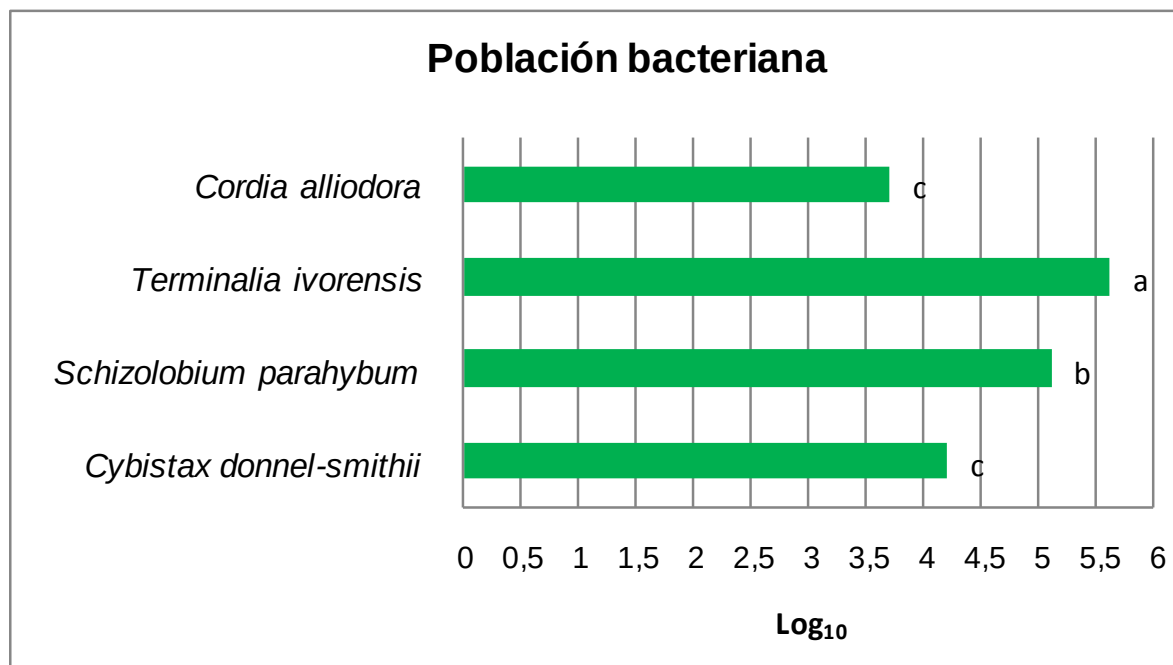


Figura 1. Población bacteriana (Log₁₀ UFC) en suelos bajo diferentes plantaciones forestales, a las 48 horas después de la inoculación. UTEQ 2015.

4.1.1.2. Identificación bioquímica de colonias de bacterias

En la figura 2 se observa el porcentaje de colonias aisladas y estudiadas, mediante el análisis bioquímico de tinción Gram, que permitió notar que en todos los suelos bajo las diferentes plantaciones forestales tanto de *Tabebuia donnel-smithii*, *Schizolobium parahybum*, *Terminalia ivorensis*, *Cordia alliodora* habitan mayor cantidad de bacterias Gram (+) con el 52, 61, 48 y 58 % respectivamente, en comparación con la presencia de las bacterias Gram (-), con el 46, 38, 41 y 43% de representatividad.

En este mismo contexto, en lo que se refiere al análisis bioquímico de la catalasa, el mayor porcentaje de colonias aisladas tuvo una reacción positiva en todos los tratamientos estudiados; *Tabebuia donnel-smithii* (78 %), *Schizolobium parahybum* (82 %), *Terminalia ivorensis* (77 %) y *Cordia alliodora* (69 %).

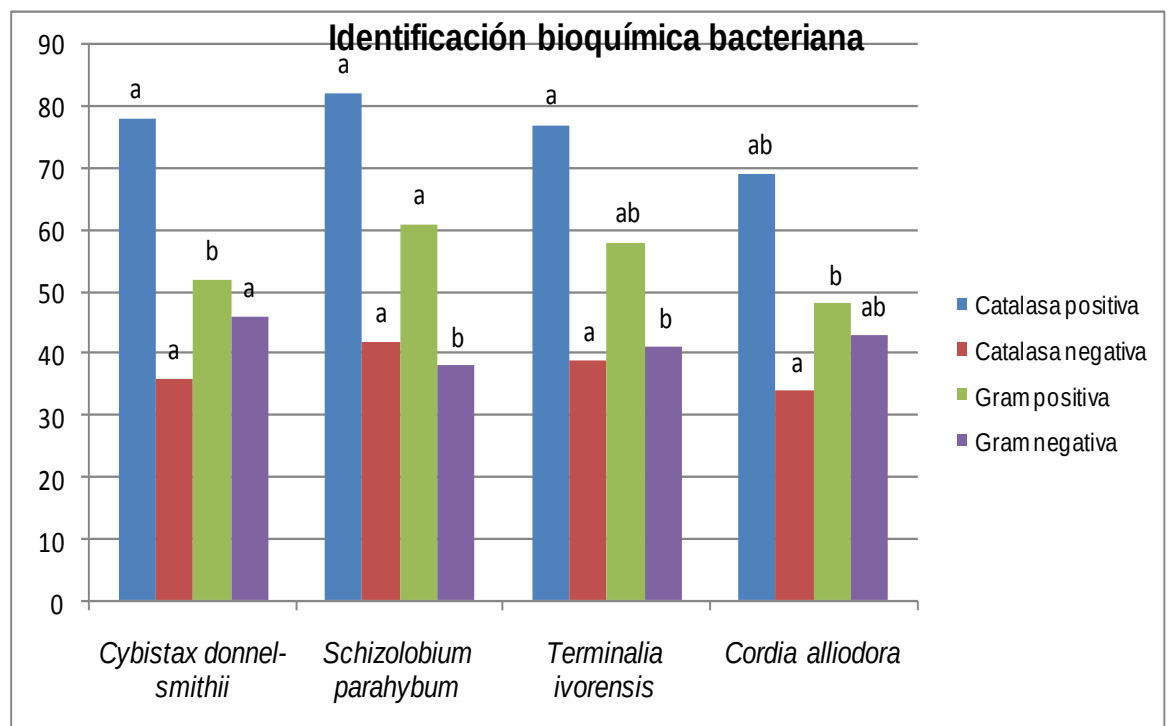


Figura 2. Porcentaje de colonias bacterianas, aisladas desde suelos bajo cuatro plantaciones forestales comerciales, sometidas a análisis bioquímicos de tinción de Gram y Catalasa. UTEQ 2015.

4.1.1.3. Población de hongos

En cuanto a la población de hongos encontrada en los suelos de las diferentes plantaciones forestales comerciales muestreadas, El análisis ANOVA (datos transformados a Log_{10}) a las 96 horas de incubación permite observar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, donde el número de propágulos fúngicos del T1 *Tabebuia donnel-smithii* resultó ser el más alto con (4,67), seguido de T3 y T2 con valores de 4,12 y 3,85 respectivamente estadísticamente similares entre sí, finalmente el T4 fue el que menor valor mostró de población fúngica a los 90 días con un valor de 3,43.

No obstante, a las 120 horas de incubación, el comportamiento de la población fúngica mantuvo la misma tendencia que a las 96 horas, encontrándose diferencia estadísticas significativas entre los tratamientos, estos valores están considerados en función de la población de hongos en Log_{10} . (figura 3).

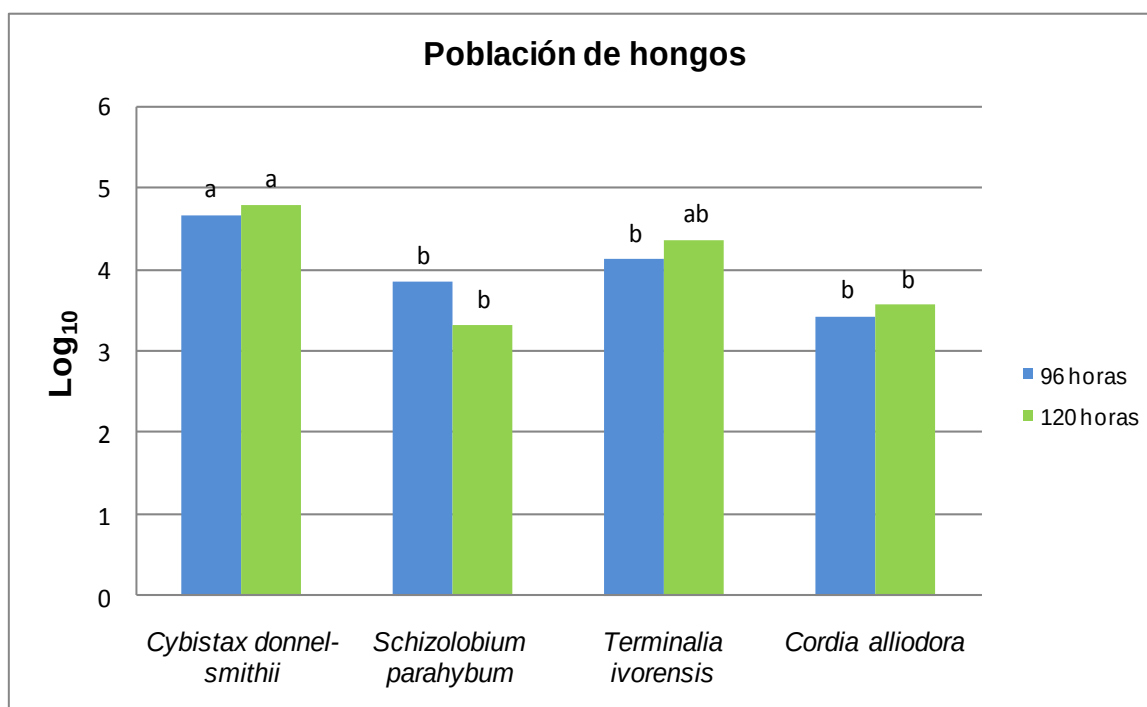


Figura 3. Población de hongos (Log_{10}) en suelos bajo diferentes plantaciones forestales comerciales, a las 96 y 120 horas de incubación. UTEQ 2015.

4.1.1.4. Identificación fúngica presentes en el suelo

En el cuadro 2, se presenta el listado de géneros de hongos aislados e identificados en los suelos de cada de las plantaciones forestales comerciales estudiadas. El suelo muestreado bajo la plantación de *Cordia alliodora* fue aquel que reportó la mayor cantidad de géneros de hongos con un total de 11, seguido del suelo procedente de la plantación forestal de *Terminalia ivorensis* con 9 géneros, mientras que los tratamientos que menor cantidad de géneros de hongos reportaron fueron los de las plantaciones forestales de *Tabebuia donnel-smithii* y *Schizolobium parahybum* con 7 y 6 géneros respectivamente.

En este mismo contexto, dentro de los hongos presentes en los suelos, el género *Phialophora* fue el único que se encontró en todos los suelos muestreados.

Cuadro 2. Género de hongos aislados e identificados en suelos bajo diferentes plantaciones

Plantaciones forestales comerciales	<i>Aspergillus</i>	<i>Cephalosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Diplosporium</i>	<i>Epicocum</i>	<i>Monilia</i>	<i>Paecilomyces</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Rizopus</i>	<i>Stachybotris</i>	<i>Trichoderma</i>	<i>Ureobasidium</i>	<i>Verticillium</i>
<i>Tabebuia donnel-smithii</i>	x		x				x	x	x			x	x	
<i>Schizolobium parahybum</i>				x		x			x		x	x		x
<i>Terminalia ivorensis</i>	x	x	x		x	x		x	x	x	x			
<i>Cordia alliodora</i>	x	x	x		x	x	x	x	x			x	x	x

forestales comerciales, UTEQ 2015.

4.1.2. Grupos funcionales bacterianos y fúngicos de las plantaciones forestales

4.1.2.1. Bacterias proteolíticas

En cuanto a esta variable evaluada en las diferentes plantaciones forestales, el análisis ANOVA permitió determinar que hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Los tratamientos *Tabebuia donnel-smithii* y *Schizolobium parahybum* se comportaron estadísticamente iguales con valores de 4,63 y 4,79; seguido del tratamiento 4 *Cordia alliodora* con un valor de 4,10 y finalmente el tratamiento 3 fue el que menor valor mostró respecto a esta variable estudiada con un valor de 3,56 (figura 4), valores están considerados en función de las unidades formadoras de colonias en Log₁₀.

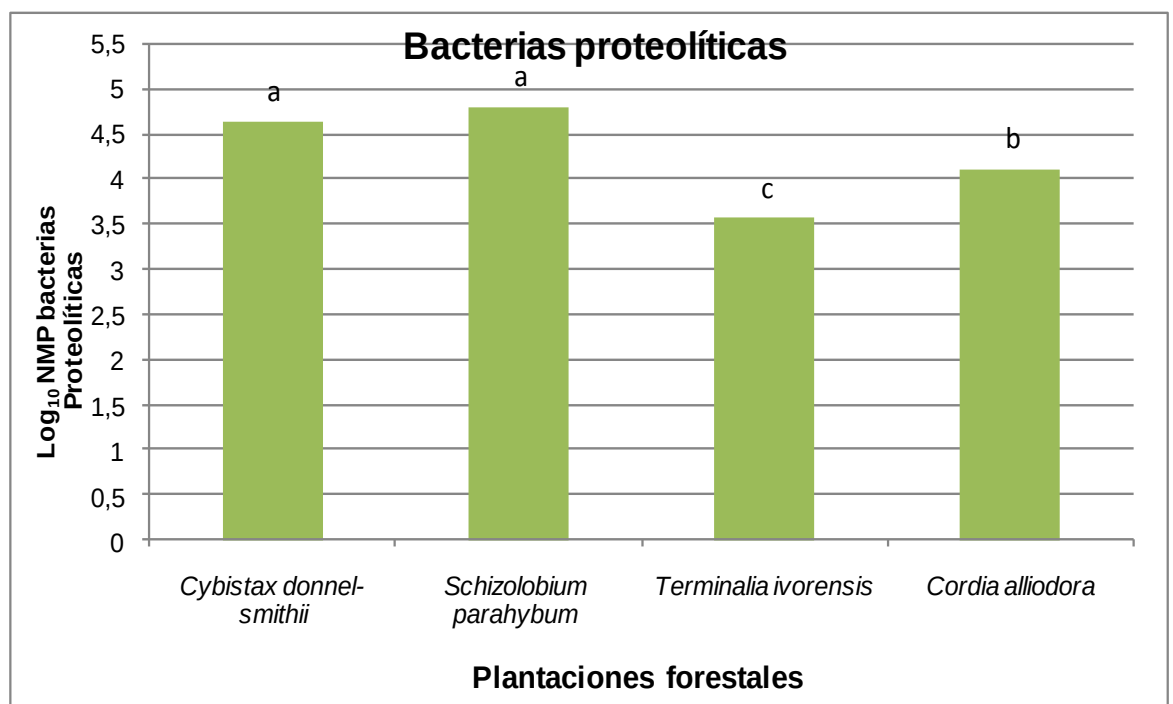


Figura 4. Recuento de Bacterias proteolíticas originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.

4.1.2.2. Bacterias amilolíticas

Respecto a los análisis realizados para la determinación de bacterias amilolíticas en las diferentes plantaciones forestales estudiadas, el análisis ANOVA determinó que hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Donde el tratamiento 3 (*Terminalia ivorensis*) con un valor de 4,79 reportó el valor más alto para esta variable, aunque no difiriendo estadísticamente de los tratamientos (1 y 4) *Tabebuia donnel-smithii* y *Cordia alliodora* con valores de 4,18 y 4,35 respectivamente. Mientras que el tratamiento 2 *Schizolobium parahybum* con un valor de 3,72 fue el que menor valor mostró de todos los tratamientos estudiados, los presentes valores están considerados en función de las unidades formadoras de colonias en Log₁₀. (figura 5).

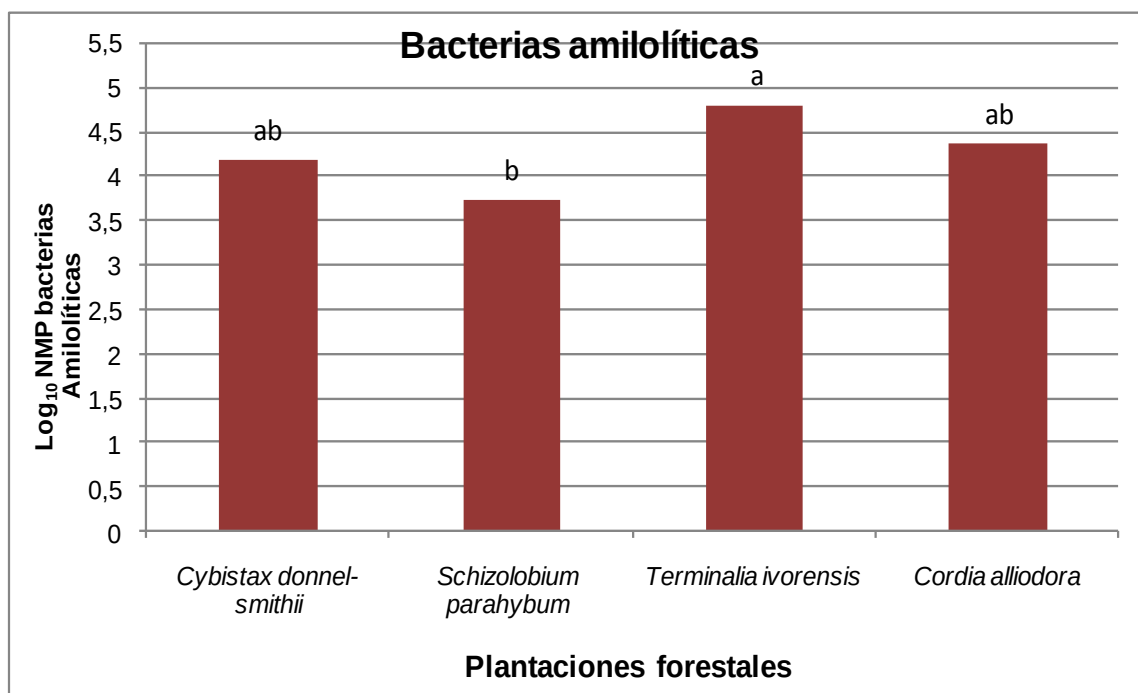


Figura 5. Recuento de Bacterias amilolíticas originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.

4.1.2.3. Bacterias amonificantes

En la figura 6, se puede observar las poblaciones bacterianas amonificantes encontradas en suelos plantaciones forestales comerciales de la zona central del Litoral ecuatoriano. El análisis de varianza permitió determinar la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p = 0,001$), donde el suelo procedente de una plantación de *Schizolobium parahybum* mostró la mayor población bacteriana (Log_{10} 6,98), seguido de los tratamientos 1 y 4 *Tabebuia donnel-smithii* y *Cordia alliodora* con valores de 5,35 y 5,38 respectivamente quienes estadísticamente se comportaron idénticos. Por otra parte, la menor población bacteriana amonificante se encontró en el tratamiento 3 (*Terminalia ivorensis*) (Log_{10} 4,17).

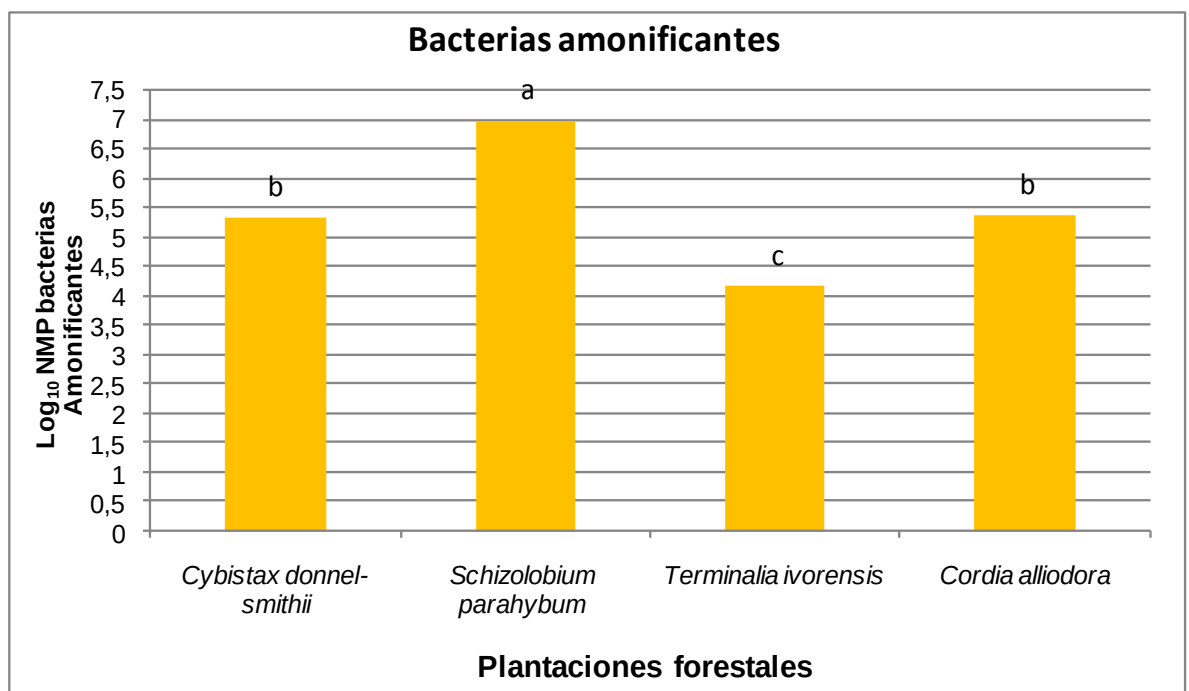


Figura 6. Recuento de Bacterias amonificantes originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.

4.1.2.4. Población fúngica proteolítica

Los datos obtenidos de la población fúngica proteolítica encontrada en suelos de los sistemas de producción muestreados y analizados mediante el ANOVA demostraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. El tratamiento 3 (*Terminalia ivorensis*) (Log_{10} 5,28) resultó ser superior estadísticamente frente a los demás tratamientos, mientras que estadísticamente similares entre sí se mostraron los tratamientos 1 y 4 *Tabebuia donnel-smithii* y *Cordia alliodora* con valores de 4,69 y 4,39 respectivamente. En este mismo contexto y al igual que la variable anterior estudiada la menor población fúngica (Log_{10} 3,28) se obtuvo en el tratamiento 2, es decir, del suelo procedente de de una plantación de *Schizolobium parahybum* (figura 7).

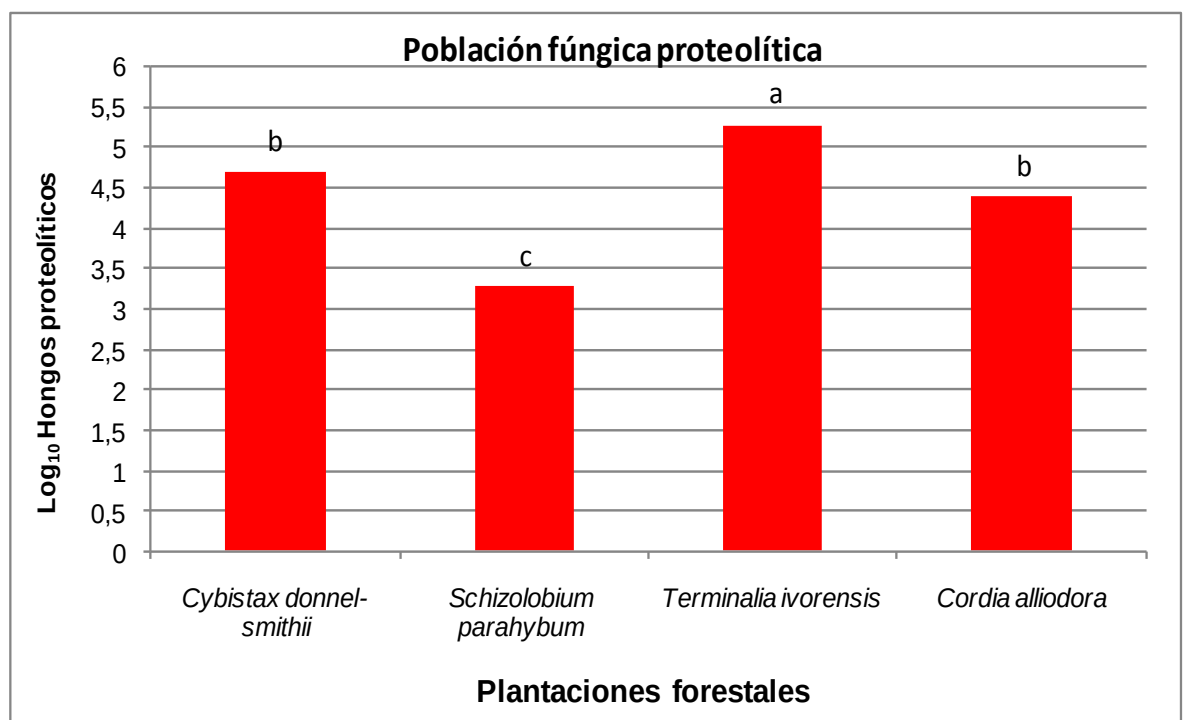


Figura 7. Recuento de la población fúngica proteolítica originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.

4.1.2.5. Población fúngica amilolítica

En cuanto a los análisis realizados para la determinación de la población fúngica amilolítica en las diferentes plantaciones forestales estudiadas, el análisis ANOVA determinó que hubo diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. Donde los tratamientos (1) *Tabebuia donnel-smithii*, (2) *Schizolobium parahybum* y (3) *Terminalia ivorensis* con valores de 5,29; 5,231 y 5,432 respectivamente se comportaron iguales estadísticamente entre sí, aunque difirieron con el (T4) *Cordia alliodora* que se comporto como el más bajo para esta variable con un valor de 4,232. Los presentes valores están considerados en función de las unidades formadoras de colonias en Log₁₀. (figura 8).

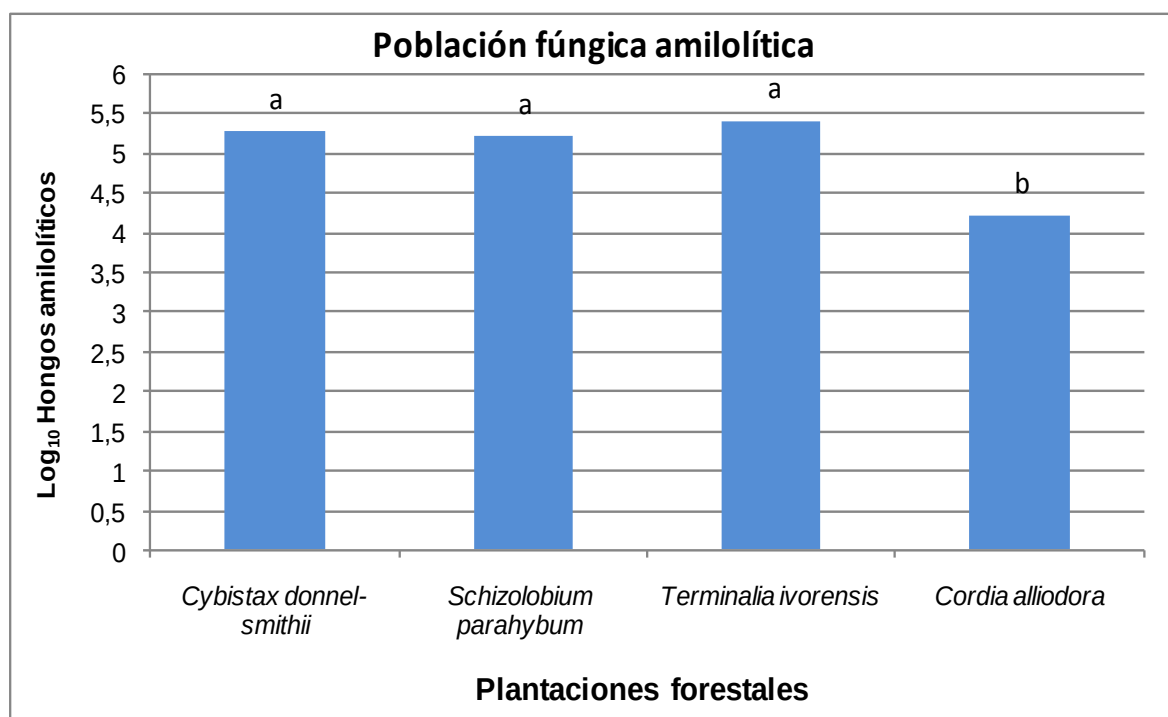


Figura 8. Recuento de la población fúngica amilolítica originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.

4.1.2.6. Población fúngica amonificante

En la figura 9, se puede observar las poblaciones fúngicas amonificantes encontradas en suelos de plantaciones forestales comerciales de la zona central del Litoral ecuatoriano. El análisis de varianza permitió determinar la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos ($p = 0,001$), donde el suelo procedente de una plantación de *Cordia alliodora* mostró la mayor población fúngica (Log_{10} 4,916), seguido de los tratamientos (1) *Tabebuia donnel-smithii*, (2) *Schizolobium parahybum* y (3) *Terminalia ivorensis* con valores de 3,867, 4,273 y 3,983 respectivamente quienes estadísticamente se comportaron similares. Estos valores están considerados en función de las unidades formadoras de colonias en Log_{10} .

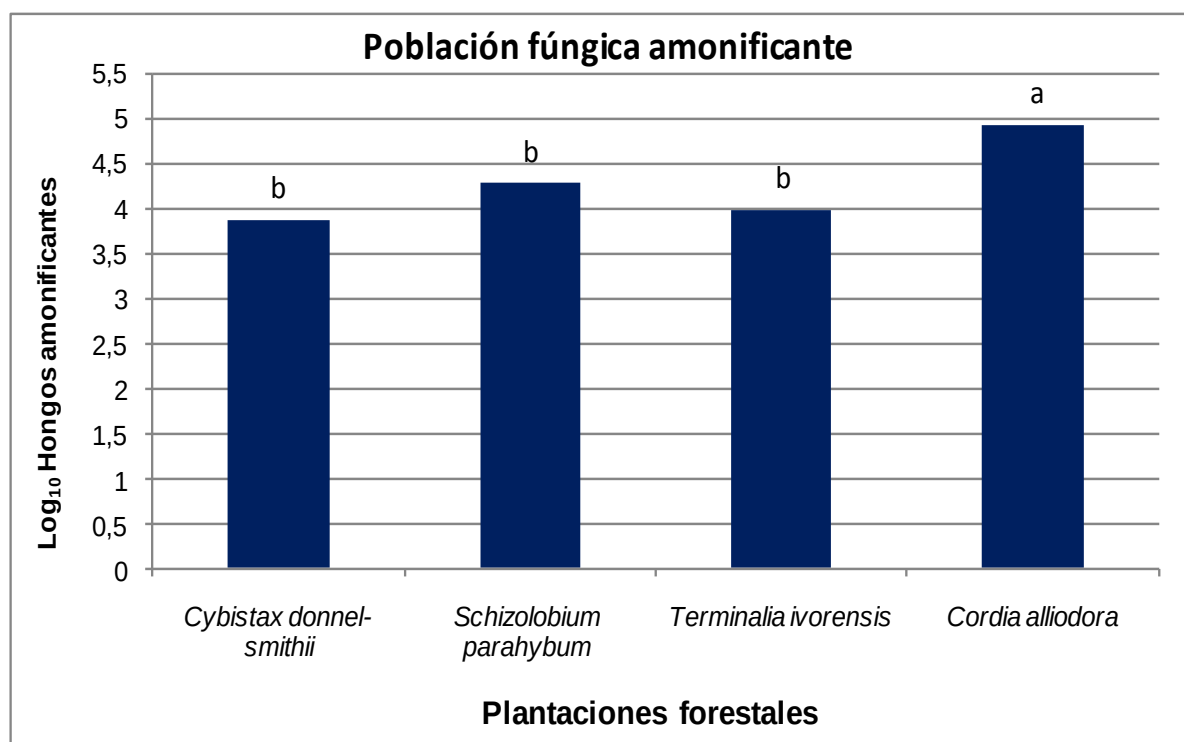


Figura 9. Recuento de la población fúngica amonificante originarias de cuatro plantaciones forestales comerciales. UTEQ 2015.

4.2. DISCUSIÓN

Las bacterias al ser el grupo de microorganismos más numeroso en el suelo, y el más diverso en términos de fisiología y nutrición no presentaron diferencia estadística significativa en cuanto a su población total por los cambios de uso de tierra y tipo de suelo concordando con los resultados de Morales (2004) y Martínez (2006). Estos factores influyen más bien en los diversos e innumerables géneros y especies de bacterias según explica Alexander (1998).

La caracterización de un suelo en base al criterio de requerimientos nutricionales, simples o complejos, de las bacterias, se realizó por la facilidad de desarrollo que presentan las poblaciones bacterianas en los diferentes medios de cultivo. Al respecto Martínez (2006), menciona que aunque este criterio es utilizado con frecuencia, no revela mayores diferencias significativas entre suelos, ya que es conocido que el tamaño, y aún la forma, de algunas bacterias puede diferir en su hábitat natural comparado con condiciones artificiales del cultivo. Por otro lado, el mismo autor menciona que existen bacterias polimórficas, es decir, que pueden aparecer sin número de formas dependiendo de los cambios en las condiciones ambientales del laboratorio, o de la edad de las bacterias.

En el recuento bacteriano la mayor población se dio en el tratamiento 3, es decir del suelo procedente de una plantación de *Terminalia ivorensis* (Log_{10} 5,60) y la menor en el tratamiento 4 (*Cordia alliodora*) (Log_{10} 3,70) esto puede ser justificado por que la plantación de *Terminalia* provee gran cantidad de hoja rasca y material vegetativo sobre la cubierta del suelo, lo cual sirve como fuente de alimentación para los microorganismos. No obstante estos valores difieren con los valores obtenidos por Martínez (2006) que obtuvo la mayor población ($2500 \times 10^3 = \text{Log}_{10}$ 6,40) y el menor ($29,0 \times 10^3 = \text{Log}_{10}$ 4,45) en un estudio realizado en Chile en un bosque de *Araucaria nothofagus* después de un incendio forestal. De igual manera Morales (2004) obtuvo ($1,37 \times 10^6 = \text{Log}_{10}$ 6,14) la mayor población en un Sistema Agroforestal con *Coffea*

arabica (café). Dichos resultados pueden diferir por las condiciones edafoclimáticas y los sistemas de producción estudiados.

Giller *et al.* (1997), mencionan que en el suelo, organismos como protozoarios y nematodos, juegan un rol importante en la regulación de la biomasa, controlan y mantienen la diversidad evitando la dominancia de un grupo en particular; detalla que esto es indiscutiblemente más importante para bacterias, las cuales tienden a ser fuertemente reguladas por predación e influenciadas por la calidad de los recursos.

En el recuento de hongos luego de la inoculación presentaron diferencia estadística significativa en cuanto a su población total. De acuerdo con Morales (2004). Al comparar el recuento fúngicos después de la inoculación entre los tratamientos podemos observar que el suelo procedente de la plantación forestal de *Tabebuia donnel-smithii* obtuvo la mayor población, aunque estadísticamente fue igual al del sistema agroforestal con cacao y la menor se dio en el tratamiento de *Cordia alliodora*. Al igual que en el caso de las bacterias puede haberse dado por la presencia de buen material vegetativo y hoja rasca en el suelo de la plantación de *Tabebuia donnel-smithii*.

Alexander (1998) explica que la edad de la planta influye en el grado de respuesta de los microorganismos, jugando un importante papel en la población microbiológica del suelo al establecerse un equilibrio en el sistema implantado. Y que en los sistemas forestales de varios años de vida, donde los restos vegetales se acumulan sobre la superficie y se van degradando de acuerdo a los requerimientos de los microorganismos se llega a un equilibrio en la dinámica microorganismo - sustrato.

Al comparar con el trabajo realizado por Morales (2004), se observó que estadísticamente fueron similares en cuanto a la mayor población. Al contrario con Martínez (2006) que obtuvo un número mayor de propágulos fúngicos (PF). La población de hongos correspondieron a los géneros: *Paecilomyces* sp,

Aspergillus s, *Penicillium sp*, *Phialophora sp*, *Cladosporium sp*, entre otros, que son hongos saprófitos, muchas de las especies con características termófilas. De acuerdo con Morales (2004) y Martínez (2006).

Las poblaciones bacterianas Proteolíticas del suelo de la plantación forestal de *Cordia alliodora* es mayor que los otros tratamientos, (Log_{10} 4,916) siendo el suelo de *Tabebuia donnel-smithii* el de menor población proteolítica. Estos resultados difieren en el recuento de la mayor población con Carrillo (2003) que menciona que las poblaciones bacterianas proteolíticas son ($3,5 \times 10^5$ NMP gss^{-1}) y Martínez (2006) ($4,4 \times 10^5$ NMP $\text{gss}^{-1} = \text{Log}_{10}$ 5,64).

Las poblaciones Amilolíticas mayores estuvieron presentes en el tratamiento de *Terminalia ivorensis* (Log_{10} 4,787) y la menor población se obtuvo en el suelo de *Schizolobium parahybum* (Log_{10} 3,721). Estos resultados difieren con Martínez (2006), que menciona que las poblaciones bacterianas amilolíticas fueron ($1,8 \times 10^5$ NMP $\text{gss}^{-1} = \text{Log}_{10}$ 5,26 y la menor (333 NMP $\text{gss}^{-1} = \text{Log}_{10}$ 2,53).

Al haberse encontrado una mayor población de bacterias amonificantes que los resultados expuestos por Martínez (2006), esto puede atribuir a que los ecosistemas de zonas tropicales tienen una mayor población de bacterias que actúan en la amonificación.

Los resultados encontrados son ($11,8 \times 10^4$ NMP $\text{gss}^{-1} = \text{Log}_{10}$ 5,07), mientras que la menor población fúngica se obtuvo ($1,502 \times 10^2$ NMP $\text{gss}^{-1} = \text{Log}_{10}$ 2,18) estos resultados difieren en el recuento de la mayor población con Martínez (2006) que menciona que las poblaciones fúngicas proteolíticas son ($2,6 \times 10^5$ NMP $\text{gss}^{-1} = \text{Log}_{10}$ 3,40).

De acuerdo con Campbell (1987) y Andrade (2004), los grupos funcionales de microorganismos estudiados en la presente investigación pertenecen a los

ciclos del nitrógeno y del carbono. La mayoría de ellos ejercen su función sobre sustratos orgánicos, excepto los grupos nitrificantes y desnitrificantes. Estos grupos funcionales microbianos se encuentran en un estado dinámico de equilibrio en bosques maduros.

Bach y Munich (2000) indican que la degradación de proteína por las enzimas proteolíticas (proteasa, péptidas, proteinasas) microbianas tienen gran importancia en el ciclo el nitrógeno.

Mobley y Hausinger (1989), señalan que la actividad ureolítica microbiana está ampliamente distribuida en el suelo e incluye la acción de las bacterias y los hongos.

La amonificación es la conversión del nitrógeno en amonio o amoniaco. La alta población de hongos amonificantes en el suelo del Sistema Agroforestal con cacao es probablemente a la redundancia funcional y concuerda con Acea y Carballas (1990), quienes indican que el 99 % de los microorganismos presentes en suelos de distintos bosques tienen la capacidad de realizar amonificación.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

En el recuento de bacterias presentes en las diferentes plantaciones forestales estudiadas, se pudo observar que el suelo que contiene más número de colonias bacterianas es el de *Terminalia ivorensis* a las 48 horas de inoculación.

En cuanto al análisis bioquímico de tinción de Gram realizado a los cuatro tratamientos en estudio, se encontró una mayor cantidad de bacterias gram positiva y catalasa positiva en las cuatro plantaciones forestales comerciales.

Respecto al recuento de poblaciones de hongos a las 96 horas como a las 120 horas de inoculación se presentaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos donde el T1 *Tabebuia donnel-smithii* se mostró superior a los demás tratamientos

Las poblaciones de bacterias proteolíticas del suelo proveniente de *Cordia alliodora* fueron mayores que los otros tratamientos con un valor de Log_{10} 4,916.

En cuanto a las bacterias Ureolíticas no presentaron diferencias estadísticas significativas tanto para poblaciones bacterianas y fúngicas.

De acuerdo a los resultados obtenidos se acepta la hipótesis planteada al inicio de la presente investigación, en la cual se deja por sentado que las poblaciones bacterianas y fúngicas al igual que los grupos funcionales de las cuatro plantaciones forestales comerciales, cumplen un papel fundamental en el suelo.

5.2. RECOMENDACIONES

El recuento de las poblaciones de bacterias se debe realizar en un periodo comprendió entre las 12 y 24 horas después de las inoculaciones, en virtud de que a mayor tiempo de espera la división celular bacteriana aumenta.

Realizar la investigación en época lluviosa para hacer una comparación entre las dos épocas y sacar un resultado verdadero de que época hay mayor diversidad y densidad de microorganismos edáficos.

En virtud del comportamiento del hongo perteneciente al género *Phialophora* encontrado en todos los tratamientos estudiados en la presente investigación, se recomienda hacer pruebas más exhaustivas ya que puede ser un potencial patógeno para estas especies forestales.

CAPÍTULO VI

BIBLIOGRAFÍA

6.1. LITERATURA CITADA

- Acea, M. y Carballas, T. 1990. Principal components analysis of the soil microbial population of humic zone of Galicia. Spain. p. 749- 759.
- Alexander, D. 1998. Bacteria and Archae, Principles and Applications of Soil Microbiology. New Jersey. Prentice Hall Upper Saddle River. p. 44-71.
- Andrade, G. 2004. Role of functional groups of microorganisms on the rhizosphere microcosm dynamics. In Varma, A, Abbott, L, Werner, D. y Hampp, R. (eds). Plant surface microbiology. Springer. p. 51- 69.
- Bach, H. y Munich, J. 2000. Identification of bacterial sources of soil peptidases. Biology and fertility of soil. p. 219 224
- Barnett, H. y Hunter, B. 1987. Illustrated genera of Imperfect Fungi. fourth Edition. Earling edition copyright. p. 1-78
- Budhu, M. 2007. Soil mechanics and foundations. Segunda edición. Ed. John Wiley & Sons INC. New Jersey. 634 pág.
- Calderón, A.; Elías, I. y Valdivie N. 2005. Dinámica de la Fermentación en Estado Sólido de las camas de Cascarilla de Café en Inicio de Ponedoras Inoculadas con Vitafert. Revista Electrónica de Veterinaria REDVET. (en línea). Consultado 10 may 2010. Disponible en: <http://www.veterinaria.org/revistas/redvet/n050505/050521.pdf>.
- Campbell, R. 1987. Ecología microbiana. Primera edición. Editorial Limusa S.A. Mexico. p. 268
- Carrillo, L. 2003. Microbiología Agrícola. Universidad Nacional de Salta. Capítulo 1 Argentina. p. 1-20.
- Francis, J. (s.f.). *Terminalia ivorensis* A.Chev. Idigbo, emire. SO-ITF-SM-12. New Orleans, LA: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Southern Forest Experiment Station. 5 p.

- Gaxiola, J.; Madinaveitia, Y. 2007. Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferentes condiciones agrícolas en la Laguna, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 78:383-390.
- Giller, K.; Beare, M.; Lavelle, P. y Izac, A. 1997. Agricultural intensification, Soil Biodiversity and Agroecosystem function. *Applied Soil Ecology*. p. 6:3-16
- Glick, B. R., Patten, C. L., Holguin, G. y Penrose, D. M. 1999. Biochemical and genetic mechanisms used by plant growth promoting bacteria. Imperial College press. London. 270 p.
- Gutiérrez, B. y P. Chung. 1994. Propagación vegetativa y silvicultura clonal en eucalipto. *Ciencia e Investigación forestal*. 8(1).
- Hoyos, J. 2008. Guía de árboles emblemáticos (pachaco). Caracas: Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, Monografía N° 32.
- Martínez, O. 2006. Comunidades microbianas y actividad biológica en suelos de bosques de *Araucaria – Nothofagus* después de dos años de un incendio en el parque nacional Tolhuaca .tesis Mag. Sc. Uniersidad Austral. Valdivia, Chile. p. 1-139
- Menezes, M. y Oliveira, M. 1993. Fungos fitopatogenicos. Imprenta Universitaria de UFRPE. Pernambuco. Brasil. p. 1- 80
- Mobley, H y Hausinger, R. 1989. Microbial Ureases. Significance, Regulation y Molecular caracterizacion. *Microbiological Reviews* p. 85- 108
- Morales, R. 2004. Estudio de la diversidad microbiana en sistemas agroforestales de café (*Coffea arabica*), y cultivos de pastos y arroz (*Oriza sativa*) en dos tipos de suelo del sur de Manabí. Tesis. Ing. Agrónomo. Universidad Central del Ecuador. Quito, Ecuador. p. 37
- Nannipieri, P., Ascher, J., Ceccherini, M., Landi, L., Pietramellara, G. y Renella, G. 2003. Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science*. 54: 655 – 670
- Nogales, B. 2005. La microbiología del suelo en la era de la biología molecular: descubriendo la punta del iceberg. *Ecosistemas*. p. 2: 1-10.
- Olalde P. y Aguilera G. 1998. Microorganismos y Biodiversidad. *Terra*. p. 16: 289 - 292.

- Parkinson, D.; Gray, T.; Holding, J. and Nagel-de-Boois, H. (1971). Heterotrophic Microflora. In Phillipson, J. (editor). Methods of study in Quantitative Soil Ecology: population, production and energy flow. Blackwell Scientific Publications. p. 34-49.
- Peacock, A; Macnaughton, S; Cantu, J; Dale, V; White, D. 2001. Soil microbial biomass and community composition along an anthropogenic disturbance gradients within a longleaf pine habitat. Ecological Indicators 1: p. 113-121.
- Pelczar, M; Reid, R. y Chan. E. 1990. Microbiología. El ciclo del nitrógeno. 2 ed. Mexico. Libros Mc Graw- Hill. p. 639- 642.
- Peréz, A., M. S. S., A. M. Hanan, F. Chiang & P. Tenorio 2005. Vegetación terrestre. Biodiver. Tabasco 65–110.
- Pochon, J. y Tardieux, P. 1965. Técnicas de análisis en microbiología del suelo. Editorial T.E.I. Burgos. p. 116.
- Porta, J., López-Acevedo, M. y Roquero, C. 2003. Edafología: para la agricultura y el medio ambiente. Tercera edición. Ed. Mundi-Prensa. Madrid, España. 929 pág.
- Rodríguez, Z.; Bocourt, A.; Elías. y Madera M. 2001. Dinámica de Fermentación de Mezclas de Caña (*Saccharum officinarum*) y Boniato (*Ipomea batata*). Revista Cubana de *Ciencia Agrícola*. p. 35: 147-151.
- Rowell, D. 1988. Soil acidity and alkalinity, Soil conditions & Plant Growth. 11a. ed. New York. Longman Scientific & Technical. p. 844-858
- Sánchez, L.; y Corrales, C. 2005. Evaluación de la congelación para la conservación de especies autoctonas de bacterias promotoras del crecimiento. Programa de bacteriología, Facultad de Ciencias Agrícola, Universidad de Tolima, 152 p.
- Valiño, E.; Elias, A.; Torres, V. y Albelo N. 2002. Study of the Microbial Contenton Fresh Sugar Cane Bagasse as Substrate for Animal Feeding by Solid State Fermentation. Cuba Journal of Agricultural Science. p. 359-364.

- Von Arx, J. 1981. The Genera of Fungi. Sporulation in pure culture. Germany. J. CRAMER. p. 5-87
- Vozzo, J. A. 2010. Tropical tree seed manual. Washington DC, USDA Forest Service.
- Wendling, I. 2004. Propagación vegetativa de Yerba mate (*Ilex paraguariensis* Saint Hilaire): Estado del arte, tendencias futuras. Embrapa Florestas Editorial CIP. Brasil 42 p.
- Woomer, P. 1994. Most probable number counts. *In* Weaver, R.; Angle, S.; Bottomley, P.; Bezaicek, D.; Smitm, S.; Tabatabai, A. and Wollum, A. eds. Methods of soil analysis. Parte 2. Microbiological properties. Number 5 in soil science society of America book series. Soil Science Society of America, Inc, Madison, Wisconsin, USA. p. 59 – 80
- Zuberer, D. 1994. Recovery and enumeration of viable bacteria. *In* Weaver, R.; Angle, S.; Bottomley, P.; Bezaicek, d.; Smitm, S.; Tabatabai, A. and Wollum, a (Eds). Methods of soil analysis. Parte 2. Microbiological properties. Number 5 in soil science society of America book series. Soil Science Society of America, Inc, Madison, Wisconsin, USA. p. 119 – 144.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

7.1. ANEXOS

Anexo 1. Análisis de varianzas de los microorganismos edáficos.

BACTERIAS PROTEOLITICAS

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	12,251	3,124	23,162	0,000
ERROR	8	1,123	0,173		
total	11	13,374			

BACTERIAS AMILOLITICAS

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	13,184	2,892	25,712	0,000
ERROR	8	0,952	1,036		
total	11	14,136			

BACTERIAS UREOLITICAS

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	11,029	2,628	23,901	0,000
ERROR	8	1,823	1,283		
total	11	12,852			

BACTERIAS AMONIFICANTES

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	12,263	1,920	24,834	0,000
ERROR	8	1,728	1,056		
total	11	13,991			

HONGOS PROTEOLITICOS

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	13,825	4,612	62,102	0,000
ERROR	8	0,637	0,026		
total	11	14,462			

HONGOS AMILOLITICOS

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	12,825	3,902	42,910	0,000
ERROR	8	0,562	0,102		
total	11	13,387			

HONGOS UREOLITICOS

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	14,092	4,922	51,010	0,000
ERROR	8	1,002	0,231		
total	11	15,094			

HONGOS AMONIFICANTES

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	11,368	3,967	37,093	0,000
ERROR	8	1,235	0,928		
total	11	12,603			

Anexo 2. Fotografías tomadas durante la fase de campo



Foto 1. Trabajos en el Laboratorio de Microbiología



Foto 2. Trabajos en el Laboratorio de Microbiología