



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
UNIDAD DE POSGRADO
MAESTRIA EN MANEJO Y APROVECHAMIENTO
FORESTAL

Proyecto de investigación previa la
obtención del grado académico de
Magister en Manejo y
Aprovechamiento Forestal

TEMA

**MICROORGANISMOS EDÁFICOS Y SU NIVEL DE ASOCIACIÓN
EN SUELOS DE CUATRO PLANTACIONES FORESTALES EN LA
PROVINCIA DE LOS RÍOS, ECUADOR, 2016**

Autor

Ing. Gabriel Iván Morales Castillo

Director

Ing. Elías Cuasquer Fuel. M.Sc.

Quevedo - Ecuador

2016



UNIVERSIDAD TÉCNICA ESTATAL DE QUEVEDO
UNIDAD DE POSGRADO
MAESTRIA EN MANEJO Y APROVECHAMIENTO
FORESTAL

Proyecto de investigación previa la
obtención del grado académico de
Magister en Manejo y
Aprovechamiento Forestal

TEMA

**MICROORGANISMOS EDÁFICOS Y SU NIVEL DE ASOCIACIÓN
EN SUELOS DE CUATRO PLANTACIONES FORESTALES EN LA
PROVINCIA DE LOS RÍOS, ECUADOR, 2016**

Autor

Ing. Gabriel Iván Morales Castillo

Director

Ing. Elías Cuasquer Fuel. M.Sc.

Quevedo - Ecuador

2016

CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR DE PROYECTO

El suscrito, **Ing. Elías Cuasquer Fuel M.Sc.** Docente de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, certifica:

Que el señor **Gabriel Iván Morales Castillo**, autor del proyecto de investigación **MICROORGANISMOS EDÁFICOS Y SU NIVEL DE ASOCIACIÓN EN SUELOS DE CUATRO PLANTACIONES FORESTALES EN LA PROVINCIA DE LOS RÍOS, ECUADOR, 2016**, ha cumplido con todas las disposiciones respectivas.

Ing. Elías Cuasquer Fuel M.Sc

Director del proyecto

DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS

Yo, **Gabriel Iván Morales Castillo**, 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.

Gabriel Iván Morales Castillo

DEDICATORIA

A mi madre, esposa, hijos, familiares y amigos por todo ese grandioso apoyo brindado en el desarrollo y culminación del presente trabajo de investigación y de manera muy especial a la memoria de mi padre quien en su momento supo brindarme todo respaldo y confianza para cumplir con éxito mis metas propuestas.

Gabriel Iván Morales Castillo

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradecer a Dios creador de todas las cosas por ser mi guía y darnos la oportunidad de cumplir nuestras metas planteadas.

A mi madre quien ha sabido formarme con buenos hábitos y valores, lo cual me ha ayudado mucho para salir adelante en los duros momentos.

A mi esposa e hijos quienes de manera desinteresada han estado en cada uno de los momentos, brindándome ese apoyo incondicional a fin de cumplir con éxitos nuestros retos.

A los Docentes y personal administrativo de La Unidad de Posgrado de La Universidad Técnica Estatal de Quevedo, que permitieron de buena manera desarrollar y culminar con éxitos La Maestría en Manejo y Aprovechamiento Forestal

Al Ing. Elías Cuasquer Fuel M.Sc. por su total colaboración profesional en el desarrollo de La Investigación en calidad de Director.

Al personal Investigador del laboratorio de Biotecnología de la Universidad Técnica Estatal de Quevedo, por permitirnos realizar el trabajo de laboratorio necesario en la Investigación.

Al Ing. Oscar prieto Benavides M.Sc. por su apoyo y asesoría profesional en el desarrollo del Proyecto de Investigación

A mis compañeros de La Maestría por haber compartido experiencias propias en el campo profesional, además por ese compañerismo y constancia para cumplir exitosamente cada uno de los módulos de la Maestría y por esos sinceros deseos de superación para con el autor.

Gabriel Iván Morales Castillo

PRÓLOGO

En la presente investigación el autor demuestra la importancia que tienen los microorganismos edáficos en el suelo de las especies forestal, es vital conocer las necesidades que tiene una planta a la hora de consumir o absorber los nutrientes del suelo. Dependiendo de la planta, así será sus necesidades; además de las insuficiencias que tenga el productor en términos de mercado. Es decir, hay veces en que el productor abusa de nutrientes tales como el nitrógeno. El nitrógeno es un elemento primario de las plantas, se puede encontrar en los aminoácidos, por tanto forma parte de las proteínas, en las amidas, la clorofila, hormonas, auxinas y citoquininas, nucleótidos, vitaminas, alcaloides y ácidos nucleicos. A la hora de suministrar excesos de nutrientes, la planta no podrá absorberlo totalmente y se empieza a filtrar hasta llegar a contaminar mantos acuíferos además de romper el ciclo del nitrógeno y creando más gases de efecto invernadero, cómo el óxido nitroso, con los siguientes perjuicios medioambientales y de salud.

El funcionamiento de un ecosistema depende en gran medida de la actividad microbiana del suelo, ya que los microorganismos son los protagonistas de diversas acciones benéficas para las plantas a las que se asocian. Entre otras capacidades, los microorganismos facilitan la captación de nutrientes, producen fitohormonas favorecedoras del enraizamiento, protegen a la planta frente a los patógenos, descomponen sustancias tóxicas en el ecosistema y mejoran la estructura del suelo. En la actualidad, la fracción biológica de los suelos agrícolas está siendo considerada como uno de los pilares de la fertilidad, la denominada fertilidad biológica que determina la reserva orgánica, así como la abundancia y actividad de la biomasa del suelo. Las interacciones entre las plantas y las comunidades microbianas del suelo constituyen la base de cualquier ecosistema natural contribuyendo al funcionamiento de los mismos.

Ing. Oscar Prieto Benavides M.Sc.
Docente UTEQ.

RESUMEN

En la presente investigación el objetivo general fue determinar los microorganismos edáficos que se encuentran asociados a cuatro plantaciones forestales en la provincia de Los Ríos, Ecuador. Se evaluó plantaciones forestales de *Triplaris cumingiana* Fisher y Meyer (Fernán Sánchez), *Tectona grandis* Linn. F. (Teca), *Gmelina arborea* Roxb (melina) y de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban (Balsa). Las muestras se recolectaron utilizando una pala de desfonde, a una profundidad comprendida entre 0 - 20 cm. El estudio se realizó durante la época lluviosa entre los meses de diciembre y marzo del año 2016. En cada lugar de muestreo se recolectó 10 muestras, cada una estuvo compuesta por tres submuestras. La investigación estuvo estructurada por cuatro tratamientos y tres repeticiones. Los tratamientos estuvieron constituidos por los suelos de cuatro plantaciones forestales y por cada tratamiento se recolectó 3 muestras de suelo (repeticiones). Se sometieron al análisis ANOVA mediante el programa estadístico SYSTAT para Windows. Cuando se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, se aplicó la separación de medias mediante la prueba de Tukey ($< 0,05$). En el tratamiento de la plantación forestal de *Ochroma pyramidale* el recuento de poblaciones de hongos en la dilución 10^{-5} se observó el crecimiento del género *Penicillium* de color de verde - amarillo, esto puede indicar que este hongo puede ser un potencial patógeno cuando no hay mucha competencia por el sustrato. Las poblaciones bacterianas y fúngicas Proteolíticas del suelo *G. arborea* y *T. grandis* son mayores que los otros tratamientos, siendo el suelo de *T. cumingiana* el de menor población proteolítica. En cuanto a las poblaciones Bacterianas y Fúngicas Amilolíticas, las mayores estuvieron presentes en el tratamiento de *G. arborea*. En los Amonificantes el tratamiento de *T. grandis* obtuvo la mayor cantidad, tanto en el ensayo realizado en hongos como en bacterias.

Palabras claves: *Tectona grandis*, *Gmelina arborea*, microorganismos, edáficos.

ABSTRAC

In the present investigation it was to determine the overall objective that soil microorganisms are associated with four forest plantations in the province of Los Rios, Ecuador. forest plantations *Triplaris cumingiana* Fisher and Meyer (Fernan Sanchez), *Tectona grandis* Linn was evaluated. F. (Teca), *Gmelina arborea* Roxb (melina) and *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urban (Balsa). Samples were collected using a shovel desfonde, at a depth between 0-20 cm. The study was conducted during the rainy season between December and March 2016. In each sampling 10 samples each consisted of three subsamples were collected. The research was structured by four treatments and three repetitions. The treatments were constituted by four forest plantations floors and each treatment 3 samples of soil (repetitions) was collected. ANOVA analysis were tested using SYSTAT statistical program for Windows. When statistically significant differences were detected between treatments, the mean separation was applied by Tukey test (<0.05). In the treatment of forest plantation *Ochroma pyramidale* count fungal populations in dilution 10^{-5} genus *Penicillium* growth green color was observed - yellow, this may indicate that this fungus can be a potential pathogen when there much competition for the substrate. Proteolytic bacterial and fungal soil and *T. grandis* tree populations are higher than the other treatments, with the floor *T. cumingiana* least proteinase population. As bacterial and fungal amylytic populations were present in older treating tree. Amonificantes in the treatment of *T. grandis* won the most, both in the trial in fungi and bacteria.

Keywords: *Tectona grandis*, *Gmelina arborea*, microorganisms, soil.

INDICE

	Pág.
PORTADA.....	i
PORTADA.....	iii
CERTIFICACIÓN DEL DIRECTOR.....	iv
DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y CESIÓN DE DERECHOS.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTO.....	vii
PROLOGO.....	viii
RESUMEN.....	ix
ABSTRAC.....	x
INDICE.....	xi
Introducción.....	xv
 CAPÍTULO I MARCO CONTEXTUAL DE INVESTIGACIÓN	
1.1. Ubicación y contextualización de la problemática.....	2
1.2. Situación actual de la problemática.....	3
1.3. Problema de investigación.....	3
1.3.1. Problema General.....	3
1.3.2. Problemas Específicos.....	3
1.4. Objetivos.....	4
1.4.1. Objetivo General.....	4
1.4.2. Objetivos Específicos.....	4
1.5. Justificación.....	5
 CAPÍTULO II MARCO TEORICO	
2.1. FUNDAMENTACIÓN CONCEPTUAL.....	7
2.2.1. El suelo.....	7

2.2.	FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA.....	9
2.2.1.	Microorganismos edáficos.....	9
2.2.1.1.	<i>Hongos</i>	9
2.2.1.2.	<i>Bacterias</i>	10
2.2.2.	Grupos funcionales de microorganismos de suelo.....	12
2.2.2.1.	<i>Proteolíticos</i>	12
2.2.2.2.	<i>Amonificantes</i>	12
2.2.2.3.	<i>Amilolíticos</i>	12
2.2.2.4.	<i>Ureolíticos</i>	13
2.2.3	<i>Triplaris cumingiana</i> Fisher y Meyer (Fernán Sánchez).....	13
2.2.4	<i>Tectona grandis</i> Linn. F. (Teca).....	15
2.2.5	<i>Gmelina arborea</i> Roxb (melina).....	16
2.2.6	<i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urban (Balsa).....	16

CAPÍTULO III METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1.	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	19
3.2.	METODO DE INVESTIGACIÓN.....	19
3.2.1.	Medios de cultivos.....	19
3.2.2.	Poblaciones microbianas estudiadas.....	20
3.2.2.1.	<i>Recuento de bacterias y hongos</i>	20
3.2.2.2.	<i>Bacterias</i>	20
3.2.2.3.	<i>Hongos</i>	20
3.2.3.	Evaluación de grupos funcionales bacterianos y fúngicos.....	21
3.2.3.1.	<i>Grupos funcionales microbianos que participan en el ciclo del nitrógeno.</i>	21
3.2.3.2.	<i>Grupos funcionales microbianos que participan en el ciclo del</i>	22

carbono.

3.2.4.	Identificación de Microorganismos aislados del Suelo.....	22
3.2.4.1	<i>Bacterias</i>	22
3.2.4.2	<i>Hongos</i>	22
3.2.5	Tratamiento y diseño experimental.....	23
3.3.	Población y muestra.....	24
3.4.	Fuentes de recopilación de información.....	24
3.5.	Instrumentos de investigación.....	24
3.6.	Procesamiento y análisis.....	24

CAPÍTULO IV ANALISIS E INTERPRETACION DE RESULTADOS

4.1	Diversidad y densidad poblacional de hongos y bacterias que están asociados a cuatro plantaciones forestales en la provincia de Los Ríos, Ecuador.....	26
4.1.1	Recuento de población bacteriana.....	26
4.1.2	Recuento de población fúngica.....	27
4.1.3	Caracterización bioquímica y morfológica de colonias bacterianas y fúngicas.....	28
4.1.4	Identificación fúngica en suelos de cuatro plantaciones forestales....	29
4.2.	Principales grupos funcionales asociados a cuatro plantaciones forestales comerciales.....	30
4.2.1	Bacterias proteolíticas.....	30
4.2.2	Bacterias amilolíticas.....	31
4.2.3	Bacterias amonificantes.....	32
4.2.4	Hongos proteolíticos.....	33
4.2.5	Hongos amilolíticos.....	34
4.2.6	Hongos amonificantes.....	35

CAPÍTULO V CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1	Conclusiones.....	38
5.2	Recomendaciones.....	39
	BIBLIOGRAFÍA	40
	ANEXOS	43

Introducción

En la actualidad la deforestación tropical se reconoce como uno de los problemas ambientales más importantes que enfrenta el mundo, con serias consecuencias económicas y sociales de largo plazo.

La extensión final de las plantaciones forestales en los trópicos la determinará su capacidad de competir con otros usos del suelo, satisfacer la creciente demanda por madera, superar la producción de fuentes alternas de la madera y proteger el ambiente para las generaciones futuras.

Los bosques del Ecuador se encuentran bajo una presión severa, cuyo índice aproximado es de alrededor del 2% de agotamiento anual. Las causas de la deforestación, deterioro de hábitat y degradación ambiental varían de una región a otra e incluyen factores políticos, desigualdades sociales, y presiones económicas.

En la región amazónica, la expansión de la industria petrolera en los años 70 resultó en la deforestación, la afluencia de inmigrantes de otras regiones, la degradación ambiental y cambios acelerados en la situación social de los indígenas.

El futuro de los bosques ecuatorianos depende, no solo de regular los planes de explotación de bosque natural, sino también del establecimiento de plantaciones las cuales reducirán la presión sobre el bosque primario. La participación significativa del sector privado en el cultivo de la teca es un fenómeno reciente, estimulado en los últimos diez años por la percepción relativamente nueva de que plantar teca es una empresa comercialmente rentable, así como por cambios en las políticas y en la legislación.

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 (Carrillo, 2003).

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 (Carrillo, 2003).

Los microorganismos del suelo son los seres más numerosos que existen en el planeta, pertenecen a diferentes dominios: Archaea, Bacteria y Eukaria y estas a su vez se agrupan en los reinos Chromistas, Protozoa, Fungi, 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).

El proyecto de Grado está estructurada en cinco Capítulos, que fueron: Marco Contextual, Marco Teórico, Metodología, Análisis e interpretación de resultados, y Conclusiones y Recomendaciones, además de las Referencias bibliográficas y Anexos.

CAPÍTULO I
MARCO CONTEXTUAL DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Ubicación y contextualización de la problemática

En la provincia de Los Ríos, Ecuador hace varios años se han venido dando sucesivos cambios en el uso del suelo, lo cual ha generado un gran impacto en la vida microbiana. En la actualidad existen diversas plantaciones forestales que fueron reemplazando paulatinamente al bosque primario y secundario que existió en esta parte del país.

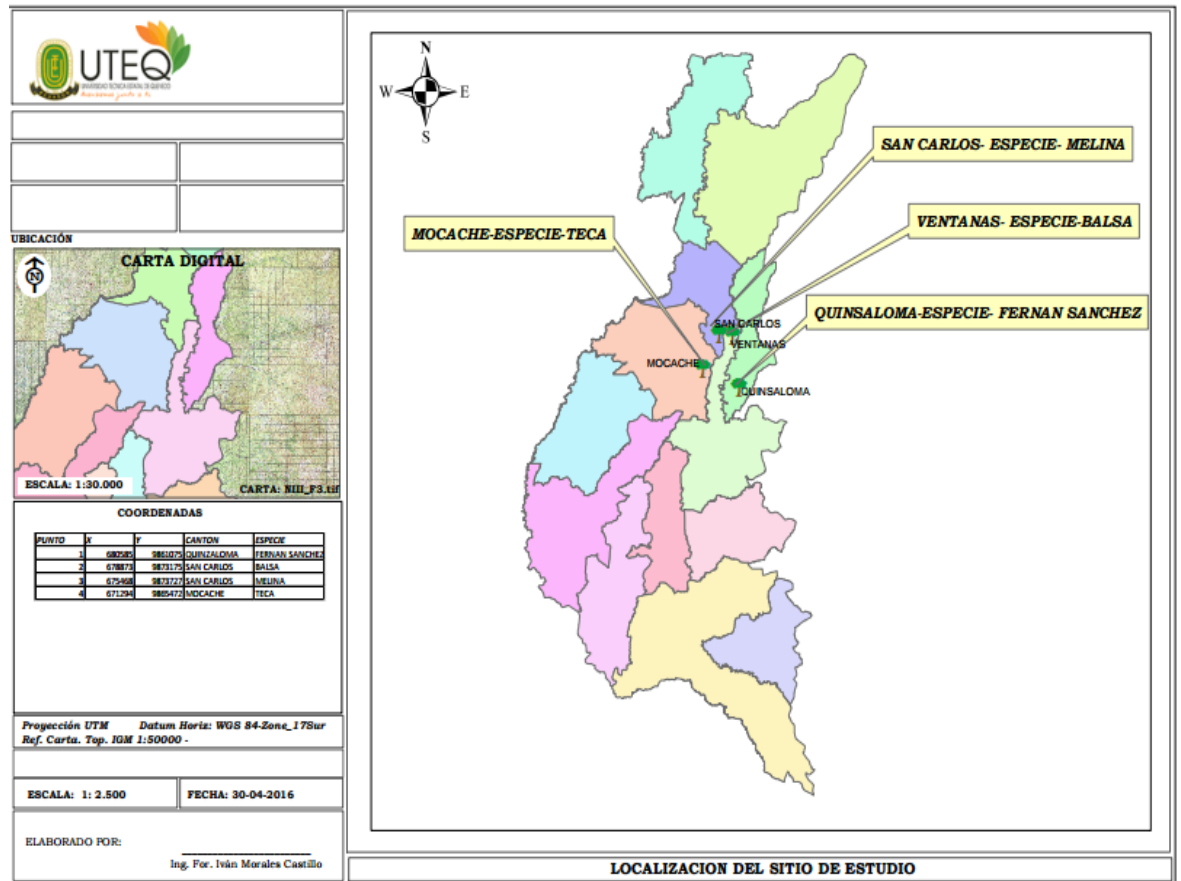


Grafico 1. Ubicación del sitio de estudio.

En virtud de lo antes mencionado se hace imprescindible conocer la vida microbiana existente en esos suelos y como se asocian a las plantas que ocupan esos espacios del terreno.

1.2. Situación actual de la problemática

La fuente de energía para el suelo principalmente proviene de los residuos o rastrojos de los cultivos y en menor proporción, de animales muertos o de sus residuos. Desde estas

fuentes de energía que es descompuesta por los microorganismos edáficos, se libera la energía, necesaria para el funcionamiento del sistema suelo.

Existe una gran diversidad de microorganismos que viven en el suelo, que dependen de diversos factores ambientales como son los nutrientes, humedad, aireación, temperatura, pH, prácticas agrícolas, etc. Hay varios miles de millones de bacterias por gramo de suelo. La mayor parte son heterótrofos, siendo comunes los bacilos esporulados, los actinomicetos que son los responsables del olor a tierra mojada, y en la rizosfera (región donde el suelo y las raíces de las plantas entran en contacto) especies de los géneros *Rhizobium* y *Pseudomonas*.

1.3. Problema de investigación

1.3.1. Problema General

¿Qué tipo de microorganismos edáficos viven y se asocian a cuatro plantaciones forestales en la provincia de Los Ríos, Ecuador?

1.3.2. Problemas Específicos

¿Cuál es la diversidad y densidad poblacional de hongos y bacterias que están asociados a cuatro plantaciones forestales?

¿Cómo se encuentran asociados cualitativa y cuantitativamente los principales microorganismos edáficos en cuatro plantaciones forestales?

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General

Determinar los microorganismos edáficos que se encuentran asociados a cuatro plantaciones forestales en la provincia de Los Ríos, Ecuador.

1.4.2. Objetivos Específicos

- Establecer la diversidad y densidad poblacional de hongos y bacterias que están asociados a cuatro plantaciones forestales en la provincia de Los Ríos, Ecuador.
- Identificar cualitativamente los principales grupos funcionales que están asociados a cuatro plantaciones forestales.

1.5. JUSTIFICACIÓN

Las plantas toman sus nutrientes gracias a que ellos son puestos a su disposición por los microorganismos edáficos o el edafón. Las plantas viven interactuando con microorganismos y organismos, a través de asociaciones temporales o permanentes, simbióticas (de beneficio mutuo) y que muchas veces llegan a ser sinérgicas. Por otro lado, existe el conjunto de especies que conforman la comunidad recicladora del suelo, integrada por especies trituradoras, descomponedoras, parasíticas, predadoras, patogénicas, saprofitas, etc. que van desagregando el compuesto orgánico en complejos hasta un estado inorgánico.

Los nutrientes pueden estar temporalmente retenidos en el suelo en el interior de los organismos, en las partículas minerales del suelo, especialmente las arcillas, en agregados, en el coloide; Pudiendo ser obtenidos también desde el aire y el agua. Con estos nutrientes los seres vivos en el suelo conforman la biomasa; siendo que mientras mayor sea el número de microorganismos y mesofauna, más rápidamente se produce la descomposición y el reciclaje de nutrientes. En estas funciones de captación, traspaso, reciclaje y retención temporal de la energía y los nutrientes pueden concurrir, además de los microorganismos

(hongos, bacterias), también las algas verde azules o cianofíceas (captadoras de nitrógeno), organismos de la mesofauna, insectos, ácaros, moluscos (consumidores, predadores y parasitoides), colémbolos, isópodos, enquítridos, miriápodos y las lombrices. Junto a estos organismos hay otros muy importantes, que no se alimentan de materia orgánica, sino que viven en simbiosis con las plantas, como bacterias y hongos que obtienen el carbono desde las plantas y facilitan el transporte de nutrientes (N, fosfatos, K) hacia las plantas. La presente investigación se realizó con la finalidad de conocer a profundidad los diversos microorganismos que se asocian con las especies forestales y de esta manera determinar si son benéficos o potenciales patógenos.

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

FUNDAMENTACIÓN CONCEPTUAL

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).

Como hábitat para los microorganismos llamamos suelo a la parte más externa de la corteza terrestre, resultante de la meteorización de las rocas subyacentes y con unas características claramente diferenciadas de las mismas. Podemos considerar el suelo como un sistema de interacción entre tres fases bien definidas: una fase sólida, constituida por materia mineral y orgánica, una fase líquida, y una fase gaseosa o atmósfera del suelo. El tipo y composición de la materia mineral viene dado por las características de las rocas del subsuelo, así como de los procesos edáficos que hayan tenido lugar en su formación. La porción inorgánica es muy importante por su influencia en la disponibilidad de nutrientes, aireación, retención de agua, etc (Budhu, 2007).

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).

Los organismos del suelo no se distribuyen al azar sino que siguen patrones espaciales de agregación, a escalas diferentes (desde nm a km) que se superponen. Esta estructuración obedece al efecto causado por diferentes factores de control y es totalmente dinámica (Ettema *et al.*, 2002).

Utilizando técnicas de observación de secciones ultrafinas de suelo mediante microscopía electrónica, tomografía, análisis geoestadístico y la elaboración de modelos, especialmente basados en fractales, se ha demostrado que la distribución de las bacterias edáficas está altamente estructurada, y que esta estructuración es importante para la funcionalidad del suelo. Las bacterias se organizan en microcolonias compuestas de pocas células que pueden pertenecer a diferentes morfotipos (Nunan *et al.*, 2003). Factores como la presencia de raíces, pequeños agregados, nutrientes y poros parecen gobernar la distribución de bacterias en microhábitats (Budhu, 2007).

La complejidad del suelo como ecosistema (nivel microscópico incluido) junto con las especiales particularidades de los microorganismos, tales como su tamaño microscópico y las dificultades para una diferenciación basada en su morfología, habían proporcionado una visión del mundo microbiano edáfico como una ¿caja negra? de la cual se sabía que cumplía una función aunque no se conociese su contenido (Insam, 2001).

2.1. FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1.1. Microorganismos edáficos

2.1.1.1. 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).

2.1.1.2. 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).

2.1.2. Grupos funcionales de microorganismos del suelo

2.1.2.1. 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 la 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).

2.1.2.2. Amonificantes

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

2.1.2.3. 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.

2.1.2.4. 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).

2.1.3. *Triplaris cumingiana* Fisher y Meyer (Fernán Sánchez)

El género *Triplaris* se encuentra distribuido ampliamente en el bosque húmedo tropical y en lugares totalmente secos. Es un árbol que crece entre 20 y 35 m de altura y cuyo tronco mide 50 cm de diámetro (Cruz, Morante & Acosta, 2008). Estudios fitoquímicos de este género revelan la presencia de carbohidratos y compuestos fenólicos, especialmente en la especie *T. americana* donde se han reportado la existencia de triterpenos: friedelina y friedelinol; además carbohidratos y compuestos fenólicos entre ellos taninos y flavonoides como: ácido gálico, quercetina 3-O- α -L-arabinofuranósido; los cuales poseen actividad antioxidante con un valor de CI50 de 9,54 $\mu\text{g/mL}$ (Camones *et al.*, 2009).

Triplaris cumingiana es una especie comúnmente conocida como Tankarana o Fernán Sánchez, en Ecuador está distribuida en laderas de bosques secos en las provincias de Bolívar, Chimborazo, Esmeraldas, Galápagos, Los Ríos, Manabí, Morona, Pichincha,

Guayas, El Oro y Loja. Su periodo de florecimiento se da en los meses de septiembre - octubre, y la maduración de su fruto en octubre; crece desde 0 a 1500 m.s.n.m. La presencia de hormigas asociadas a los tallos es un atributo importante para su identificación (González, García & Correa, 2005).

Dentro de la medicina tradicional es utilizada para curar infecciones intestinales, fiebre, diarrea, etc. (Desmarchelier & Alonso, 2005). De acuerdo con reportes de especies del mismo género, tales como: *T. americana*, se emplea de dos formas: por vía oral mediante decocción de la corteza la cual es utilizada contra la diarrea, dolor de estómago, disentería, vómitos, dolor abdominal, lombrices intestinales, apendicitis, dolor de hígado y el dolor de la vesícula, y en forma de cataplasmas se utiliza en lesiones de piel inducidas por leishmaniasis; *T. peruviana*, usada para tratar diarreas y fiebre interna mediante decocción de su corteza, además para la picadura de raya y mosquitos en forma de cataplasma; de *T. poeppigiana* usan la decocción de la corteza para el tratamiento de diarrea, enteritis y fiebre, además *T. surinamensis*, el zumo de su corteza destinada al dolor de muelas y hemorroides. Sin embargo no existen reportes fitoquímicos ni de actividad biológica sobre esta especie; por lo cual se considera un estudio importante sobre la misma, para determinar y corroborar las diferentes aplicaciones para las que son usadas las especies de este género (González, García & Correa, 2005).

2.1.4. *Tectona grandis* Linn. F. (Teca)

Tectona consta de 3 especies, con una distribución natural del género discontinua, muchos autores citan que la especie es originaria del sureste asiático (Birmania, ahora Myanmar, Tailandia y de la India, Malasia, Java, Indochina, La República Democrática Popular Laos), entre los 12 y 25° latitud norte y de 73 a 104° longitud este. 9 También se ha encontrado al sur del Ecuador en Java y en algunas pequeñas islas del Archipiélago Indonesio. Se menciona que la especie fue introducida en Java hace 400 o 600 años, donde se naturalizó. En la zona de distribución natural, los bosques son de tipo monzónico, abarcando bosque seco tropical y bosque húmedo tropical. En la India

se encuentra asociada con 76 especies, dentro de las que se citan: *Xylia dolabriformis*, *X. kerrii*, *Largeostremia caluculata*, *L. balasoe*, *Bombax insigne*, cinco especies de *Terminalia*, tres especies de *Stereospermum*, *Acacia*, *Cassia*, *Dipterocarpus*, *Cedera*, *Eugenia*, *Gmelina arborea*, *Vitex peduncularis*, *Dalbergia* sp, *Croton oblongifolius*, entre otras. (Fonseca, 2004).

Por la calidad de la madera, *Tectona* ha sido introducida en una gran cantidad de lugares que tienen clima tropical, entre los 18 y 28° latitud norte. En el sureste de Asia, en Indonesia, Sri Lanka, Vietnam, Malasia, Islas Solaman, en algunos países africanos como Costa de Marfil, Nigeria y Togo. En América Tropical fue introducida primero en Trinidad entre 1913 y 1916, con semillas procedentes de Tenasserim en Burma (Myanmar). Esta procedencia ha sido ampliamente distribuida, exportándose semilla de Trinidad a Belice, Republica Dominicana, Jamaica, Costa Rica, Cuba, Colombia, Venezuela, Haití, Puerto Rico, Ecuador, Guayana Francesa y México. La especie se introdujo en América Central, en Panamá en 1926 con semilla procedente de Sri Lanka, de esta procedencia se enviaron semillas a la mayoría de países de América Central y el Caribe. Otros países en donde se han establecido plantaciones son Brasil, Perú, Salvador, Honduras, Bolivia, Ecuador y Jamaica (Fonseca, 2004).

2.1.5. *Gmelina arborea* Roxb (melina)

Según Rojas y Murillo (2004), la *gmelina* es un árbol que alcanza de 20 a 30m de altura, un diámetro de 60 a 100cm de fuste, con corteza lisa de color pardo gris a ceniza. En plantaciones densas, el fuste es menos cónico y limpio. Las hojas son simples, opuestas, grandes y base cordadas. Las flores se presentan en panículas terminales, ramificadas y densamente pubescentes, monoicas perfectas o hermafroditas. Los frutos a partir de los 4 años producen anualmente abundantes drupas ovoides de 3 x 2.5 cm. succulentas y generalmente con tres cavidades que alojan 3 semillas. El peso promedio de un fruto sin despulpar es de 10.8 g. En suelos con impedimentos el sistema radicular es superficial y profundo en suelos arenosos.

Rojas y Murillo (2004), mencionan que la madera de la melina es de color crema uniforme tendiendo a pardo amarillento claro, tornándose pardo rojizo con la edad. Existe poca diferencia entre la albura y el duramen. Grano recto entrecruzado, no presenta olor ni sabor distintivo, con una densidad básica de 0.40 – 0.58, secado fácil.

Cuando está seca la madera presenta buena estabilidad debido a que las tasas de contracción son bajas. El secado de la madera se reporta desde bueno y moderadamente rápido hasta lento con ligeros problemas de alabeo. La madera es de baja durabilidad, el duramen más denso se clasifica como moderadamente durable. La resistencia a las termitas y a los perforadores marinos es variable, pero por lo general la madera se la clasifica como susceptible. Diversos análisis sobre la composición química de la madera han arrojado resultados más o menos similares. El contenido de lignina es de 27%, el de cenizas de 1%, y el contenido de extractivos de 5%. El contenido de holocelulosa es normalmente alto y varía entre 67 y 81%. (Rojas y Murillo, 2004).

2.1.6. *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban (Balsa).

El árbol de Balsa, Lano o Balso *Ochroma pyramidale*, pertenece a la familia Bombacaceae, es un árbol pionero de los bosques tropicales húmedos, alcanza en 5 - 6 años una circunferencia de aprox. 90 cm. (30 cm. de diámetro) y una altura de aprox. 18 - 25 metros, genera madera liviana y de buena calidad, por ello es considerada como recurso forestal y maderable susceptible de explotación industrial (Obregon, 2005), es una especie además utilizada para recuperar zonas degradadas; utilizada en la reforestación de bosques que han sido afectados por la tala indiscriminada o han sufrido incendios. Además sirve como refugio de especies vegetales más pequeñas gracias a su rápido crecimiento y sus hojas grandes.

La madera obtenida a partir de los árboles de Balsa (*Ochroma pyramidale*) es la más comercial y más liviana en uso a nivel mundial hoy en día. Otras 3 especies producen una madera más liviana, pero carecen de la fortaleza necesaria. Vista a través de un microscopio; su estructura es tipo nido de abeja, lo que le permite soportar enormes cargas distribuyéndolas de una celda a la siguiente; por el poco espacio entre sus celdas

resiste al movimiento de agua a través de la misma lo que le da su característica de flotabilidad; posee resistencia a altas temperaturas y al fuego por lo que provee un gran aislamiento térmico y acústico. (Madepron, 2011).

CAPITULO III
METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

3.1. Tipo de Investigación

El tipo de investigación fue de tipo evaluativo, en virtud de que el objeto de este tipo de investigación es valorar los resultados en razón de los objetivos propuestos para el mismo, con el fin de tomar decisiones sobre su proyección y programación para un futuro.

3.2. Método de investigación

Se aplicó un método analítico y de síntesis, evaluando cuatro plantaciones forestales de *Triplaris cumingiana* Fisher y Meyer (Fernán Sánchez), *Tectona grandis* Linn. F. (Teca), *Gmelina arborea* Roxb (melina) y de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban (Balsa). Las muestras se recolectaron utilizando una pala de desfonde, a una profundidad comprendida entre 0 - 20 cm. El estudio se realizó durante la época lluviosa entre los meses de diciembre 2015 y marzo del año 2016. En cada lugar de muestreo se recolectó 10 muestras, cada una estuvo 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 cultivo

Los medios de cultivo 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.

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 pesó 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 contuvo 9

mL⁻¹ de agua destilada estéril, luego de ese tubo se tomó 1 mL⁻¹ y se depositó en otro tubo que también contuvo 9 mL⁻¹ de agua destilada estéril, esta metódica se realizó hasta la dilución 10⁻⁷ (diluciones seriadas).

3.2.2.2. Bacterias

Para el recuento de bacterias, se utilizó el método descrito por Zuberer (1994), a partir de la dilución de suelo respectiva, se tomó con una micro pipeta 0,1 mL⁻¹ de la suspensión y se depositó en la superficie de una caja petri que contuvo 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 adicionó 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 efectuó 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 Woomer (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 procederá a contar por cada dilución, el

número de tubos positivos. De este modo se obtendrá un número característico de tres dígitos, con el que se buscará 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 contendrá 4 mL⁻¹ de medio de gelatina. Se sembró 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 contendrán gelatina licuada (licuefacción), esto indicó la degradación de la proteína.

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 contendrá 5 mL⁻¹ de caldo de asparagina como fuente de carbono y nitrógeno. Se sembró 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 contuvo 5 mL⁻¹ de medio de Amilólisis (almidón) como única fuente de carbono, haciendo visible su degradación por el reactivo yodo-yodurado (Lugol). Se sembró 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 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 incubarán a 26 °C por 5 días. Para determinar las características microscópicas, se realizó montajes en agua destilada, KOH al 10% y azul de metileno en agua. Se observó las estructuras vegetativas y reproductivas (micelio, conidióforos, y tipos de esporas). Para la identificación se utilizó claves de textos especializados (Von Arx, 1981; Barnett y Hunter, 1987; Menezes y Olivera, 1993).

3.2.5. Tratamientos y Diseño Experimental

Para fines de análisis se consideró cuatro plantaciones forestales, 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 los siguientes: recuento de poblaciones bacterianas y fúngicas, grupos funcionales de microorganismos edáficos, e identificación de hongos a nivel de género mediante 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 plantaciones forestales y por cada tratamiento se recolectó 3 muestras de suelo (repeticiones).

T1: Plantación forestal de *Triplaris cumingiana* Fisher y Meyer (Fernán Sánchez)

T2: Plantación forestal de *Tectona grandis* Linn. F. (Teca)

T3: Plantación forestal de *Gmelina arborea* Roxb (Melina)

T4: Plantación forestal de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban (Balsa)

Análisis de la varianza (ANOVA)

Fuente de Variación		G.L.
Tratamientos (t-1)		3
Error	t(r-1)	8
Total	(t*r)-1	11

3.3. Población y Muestra

La población a considerar en la presente investigación fueron las diversas plantaciones forestales que se encuentran en la provincia de Los Ríos, mientras que para la muestra se consideró estudiar los suelos de cuatro especies forestales de alto valor económico.

3.4. Fuentes de recopilación de información

La información relevante para el cumplimiento del presente proyecto se la obtuvo de los análisis de campo y laboratorio, así como de libros especializados, artículos científicos y otros textos de interés.

3.5. Instrumentos de la Investigación

Se utilizaron los siguientes instrumentos de investigación: Procedimientos experimentales, análisis de datos, registro de datos.

3.6. Procesamiento y análisis

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 para Windows. Cuando se detectaron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, se aplicó la separación de medias mediante la prueba de Tukey ($< 0,05$).

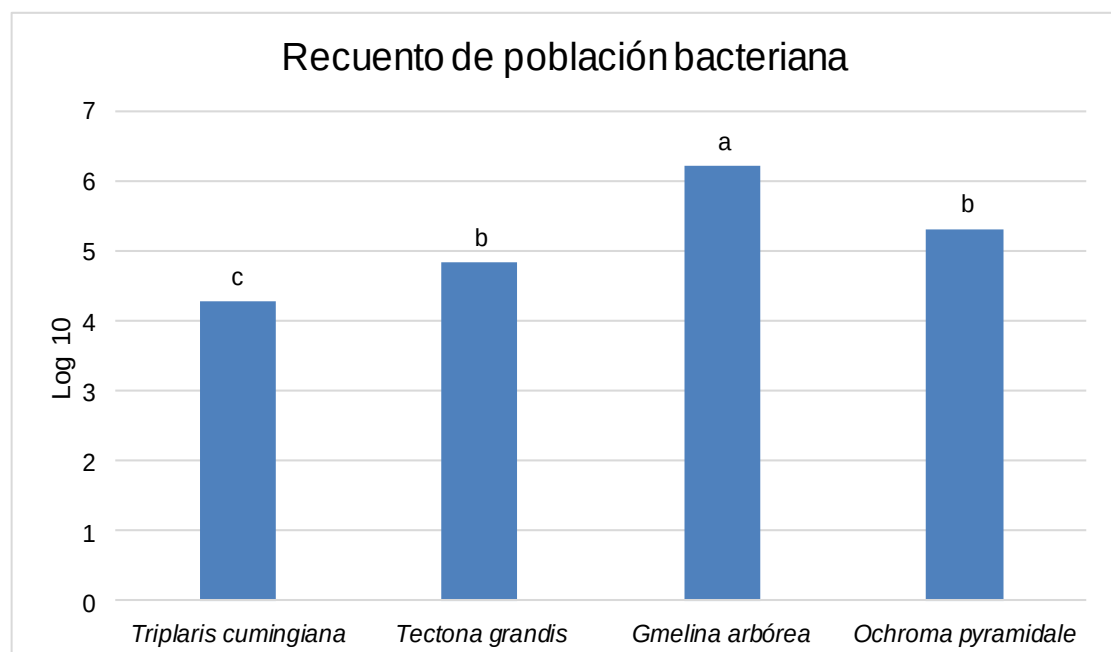
CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Diversidad y densidad poblacional de hongos y bacterias que están asociados a cuatro plantaciones forestales en la provincia de Los Ríos, Ecuador

4.1.1. Recuento de población bacteriana

Dentro de los resultados obtenidos sobre la población de bacterias encontradas en las plantaciones forestales estudiadas, el análisis ANOVA reportó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Se encontró que las poblaciones bacterianas a las 48 horas del suelo procedente de la plantación de *Gmelina arborea* con un valor de (6,2) fue la más alta en relación a los datos obtenidos de los otros suelos, seguido por las poblaciones de bacterias de los suelos procedentes de *Ochroma pyramidale* (5,31) y *Tectona grandis* (4,83), mientras que la menor población bacteriana se encontró en la plantación de *Triplaris cumingiana* con un valor de 4,28. Es necesario recalcar que estos valores están considerados en función de Unidades formadores de colonias (UFC) en Log₁₀ (figura 1).



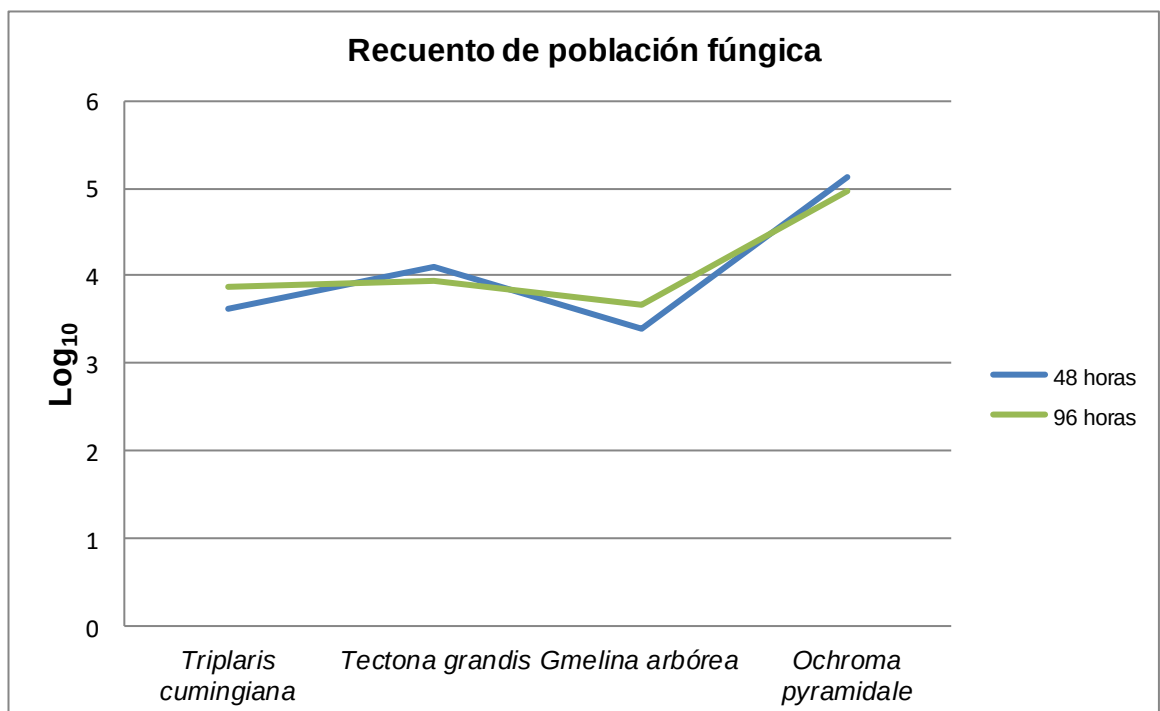
* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 1. Población bacteriana en suelos bajo cuatro diferentes plantaciones forestales, a las 48 horas después de la inoculación.

4.1.2. Recuento de población fúngica

En relación a la población fúngica encontrada en los suelos de las diferentes plantaciones forestales comerciales muestreadas, El análisis ANOVA (datos transformados a Log_{10}) a las 48 horas de incubación permite observar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, donde el número de propágulos fúngicos del T4 *Ochroma pyramidale* resultó ser el más alto con (5,13), seguido de T2, T1 y T3 con valores de 4,1; 3,61 y 3,39 respectivamente estadísticamente similares entre sí.

No obstante, a las 96 horas de incubación, el comportamiento de la población fúngica mantuvo la misma tendencia que a las 48 horas, encontrándose diferencia estadísticas significativas entre los tratamientos, estos valores están considerados en función de la población de hongos en Log_{10} . Donde el valor más alto en esta variable se encontró en el T4 con 4,96. (figura 2).



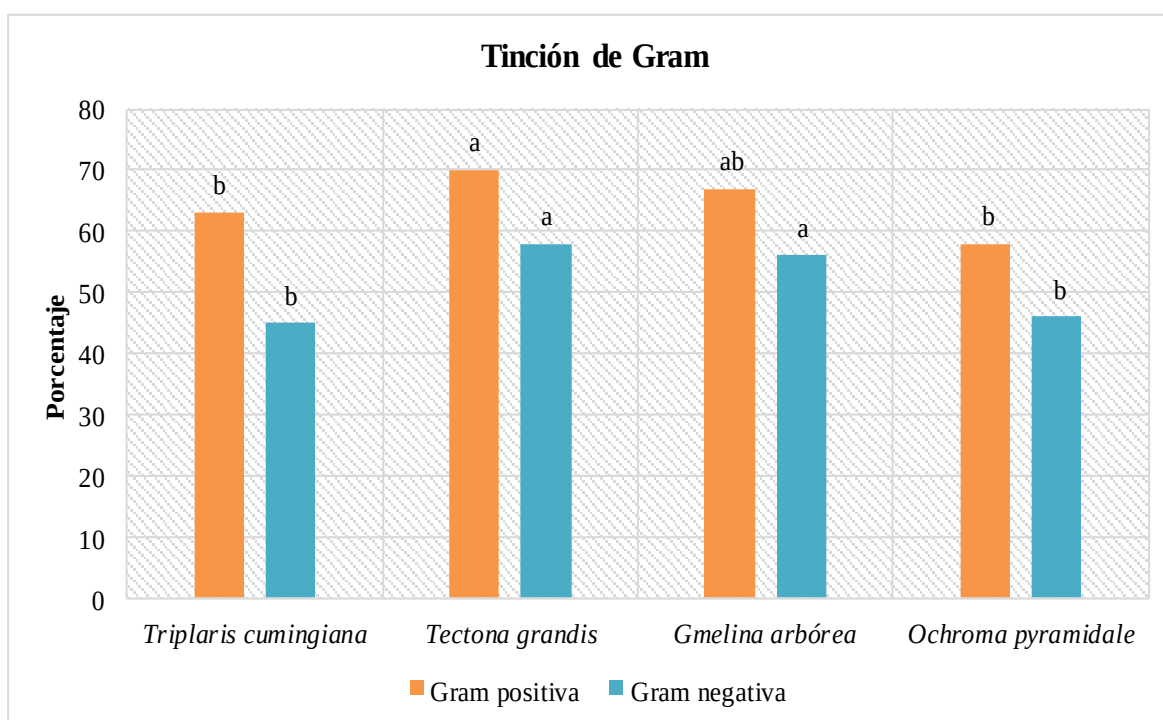
* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 2. Población fúngica en suelos bajo cuatro diferentes plantaciones forestales, a las 48 y 96 horas después de la inoculación.

4.1.3. Caracterización bioquímica y morfológica de colonias bacterianas y fúngicas

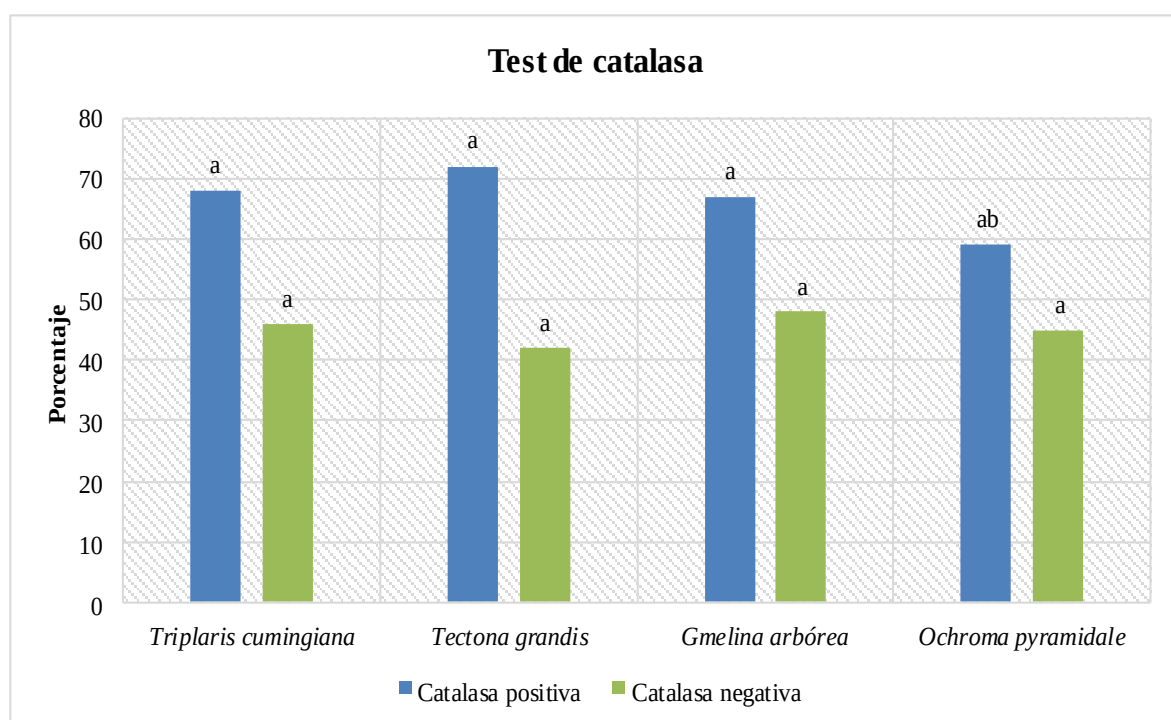
En cuanto a la caracterización bioquímica y morfológica de las colonias bacterianas y fúngicas en la figura 3 y 4 se presenta el porcentaje de colonias aisladas y estudiadas. El test bioquímico de tinción Gram permitió diferenciar que en suelos bajo plantaciones forestales de *T. grandis* y *G. arbórea* habitan mayor cantidad de bacterias Gram (+) con el 70% y 67% respectivamente, mientras que en suelos bajo *O. pyramidale* y *T. cumingiana* ocurrió lo contrario, predominando las bacterias Gram (-), con el 46 y 45 % respectivamente.

Por otra parte, en lo referente al test morfológico de la catalasa, el mayor porcentaje de colonias aisladas tuvo una reacción positiva en todos los tratamientos estudiados; *T. grandis* (72%), *T. cumingiana* (68%), *G. arbórea* (67%) y *O. pyramidale* (59%).



* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 3. Porcentaje de tinción de Gram.



* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 4. Porcentaje de Test de Catalasa.

4.1.4. Identificación fúngica en suelos de cuatro plantaciones forestales

Mediante la utilización de claves taxonómicas se identificó los diversos géneros fúngicos aislados e identificados en los suelos de cada uno de los cuatro sistemas de producción forestales comerciales. El suelo muestreado bajo la plantación de *Ochroma pyramidale* fue aquel que mostró la mayor cantidad de géneros fúngicos tanto en diversidad como en cantidad, mientras que la menor cantidad de hongos fue reportado en el suelo de la plantación de *Tectona grandis*.

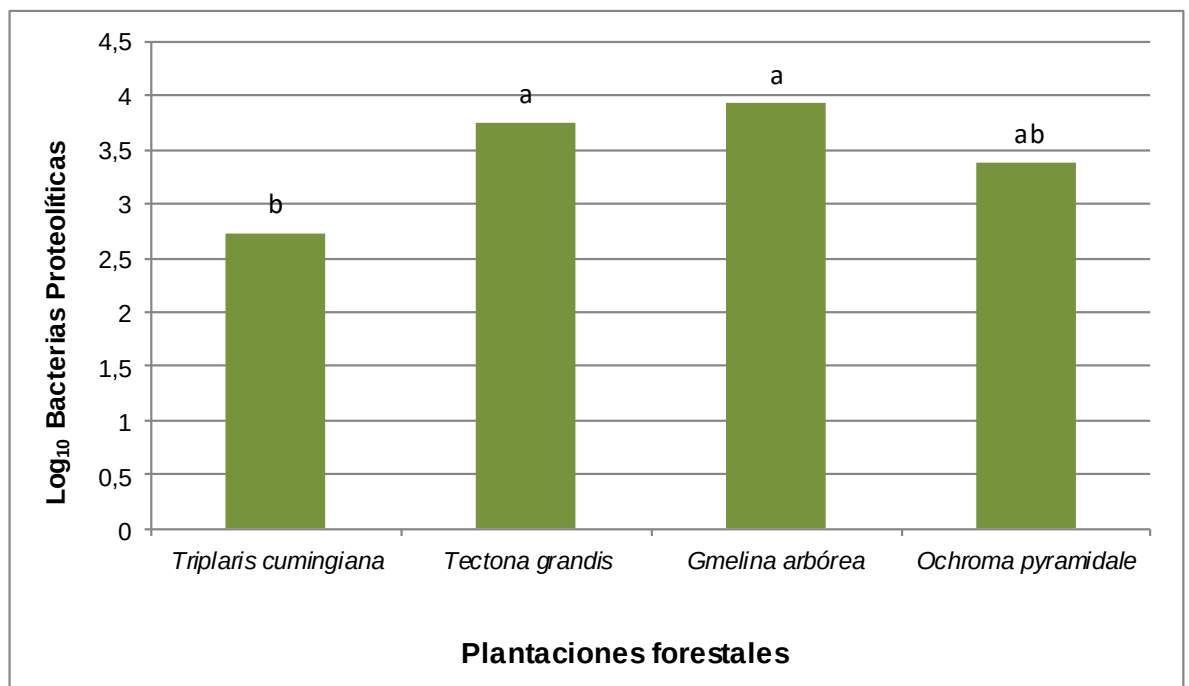
Tabla 1. Diversidad de géneros fúngicos encontrados en los suelos de cuatro plantaciones forestales comerciales.

4.2. Principales grupos funcionales asociados a cuatro plantaciones forestales comerciales.

<i>Plantaciones forestales comerciales</i>	<i>Ambrosiella</i>	<i>Aspergillus</i>	<i>Cephalosporium</i>	<i>Cladosporium</i>	<i>Diplosporium</i>	<i>Epicocum</i>	<i>Idriella</i>	<i>Monilia</i>	<i>Paecilomyces</i>	<i>Penicillium</i>	<i>Phialophora</i>	<i>Rizopus</i>	<i>Stachybotris</i>	<i>Trichoderma</i>
<i>Triplaris cumingiana</i>	x		x				x	x	x	x		x	x	
<i>Tectona grandis</i>		x		x		x					x	x		x
<i>Gmelina arborea</i>	x		x		x	x		x	x	x	x			
<i>Ochroma pyramidale</i>	x	x	x		x	x	x	x	x	x		x	x	x

4.2.1. Bacterias proteolíticas

De los sistemas de producción evaluados, el análisis ANOVA determinó la existencia de diferencias estadísticas significativas entre tratamientos, distinguiéndose dos grupos. Los tratamientos *G. arborea* (3,926 Log₁₀) y *T. grandis* (3,748 Log₁₀) fueron los que mostraron las poblaciones más altas, pero se comportaron estadísticamente iguales. Por otra parte, los tratamientos *O. pyramidale* (3,382 Log₁₀) y *T. cumingiana* (2,736 Log₁₀) se comportaron estadísticamente idénticos pero diferentes a los dos anteriores, y mostraron las poblaciones más bajas (figura 5).

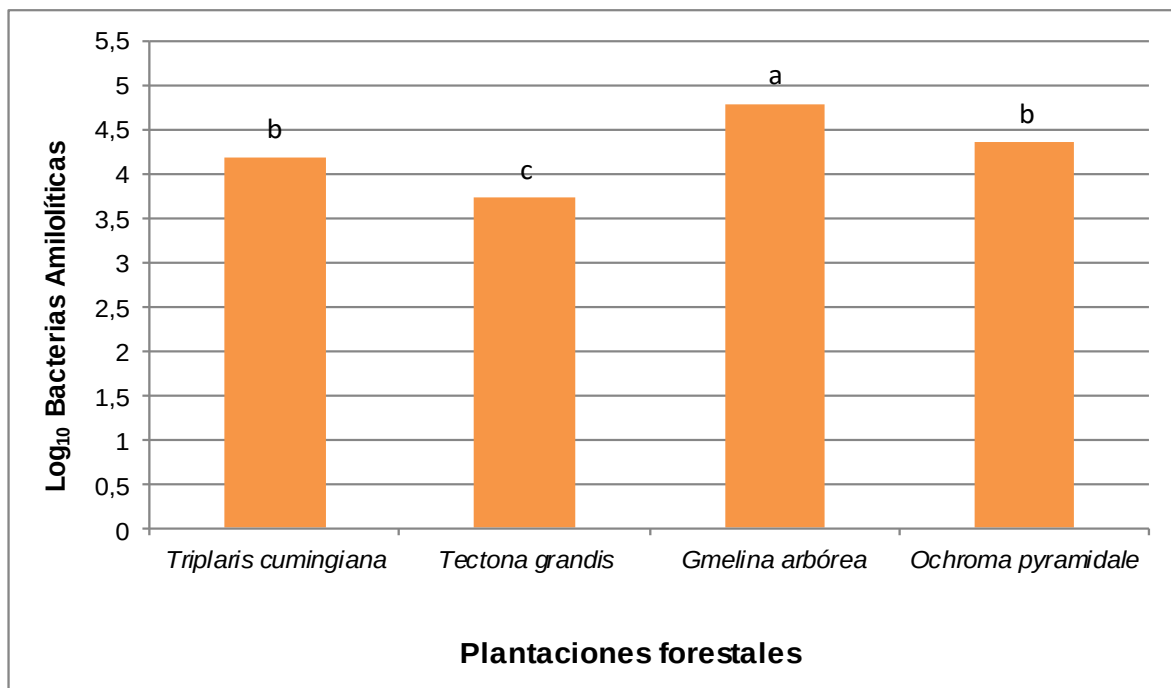


* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 5. Bacterias proteolíticas, aisladas en suelos de cuatro plantaciones forestales comerciales.

4.2.2. Bacterias amilolíticas

El análisis ANOVA permitió observar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, donde la mayor población bacteriana amilolítica se encontró en el suelo bajo la plantación de *G. arborea* (4,787 Log₁₀) diferenciándose estadísticamente del tratamiento *T. grandis* (3,721 Log₁₀), quien presentó la menor población frente a los demás tratamientos (figura 6).

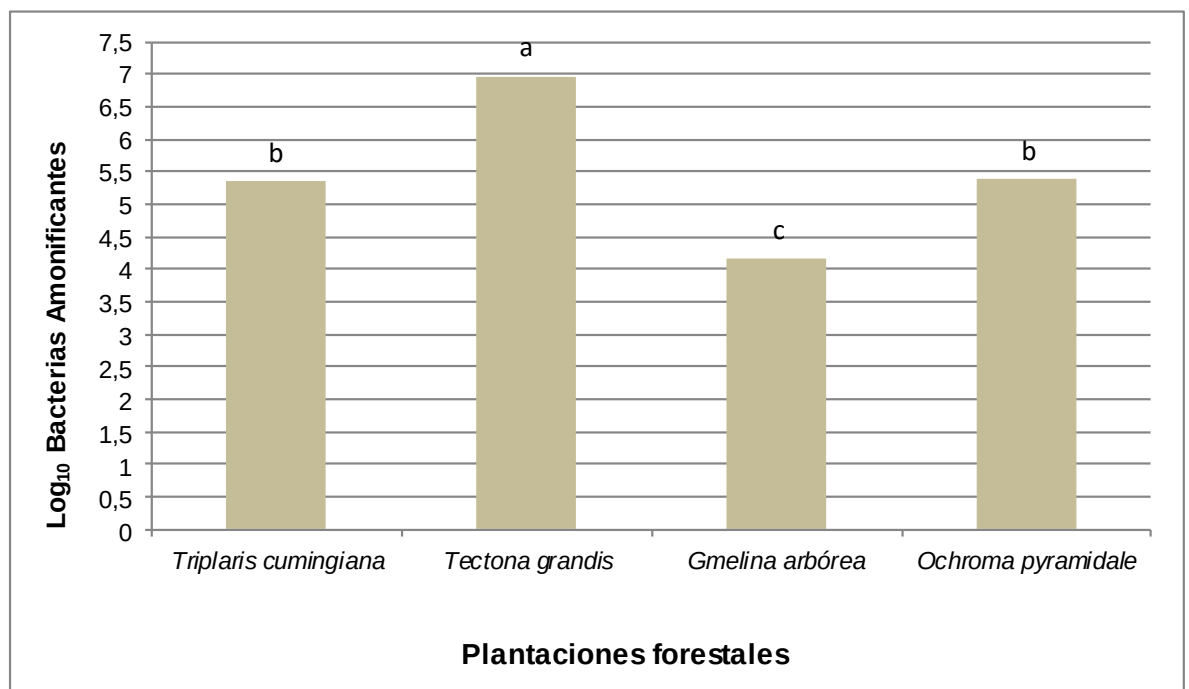


* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 6. Bacterias amilolíticas, aisladas en suelos de cuatro plantaciones forestales comerciales.

4.2.3. Bacterias amonificantes

En la figura 7 se observa las poblaciones bacterianas amonificantes encontradas en suelos bajo cuatro diferentes plantaciones forestales. El análisis ANOVA permitió determinar la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, donde el suelo procedente de una plantación de *T. grandis* mostró la mayor población bacteriana (6,981 Log₁₀), seguido de los tratamiento *O. pyramidale* y *T. cumingiana* (5,382 Log₁₀) y (5,354 Log₁₀) respectivamente, quienes estadísticamente se comportaron idénticos. Por otra parte, la menor población bacteriana amonificante se encontró en el tratamiento *G. arbórea* (4,173 Log₁₀).

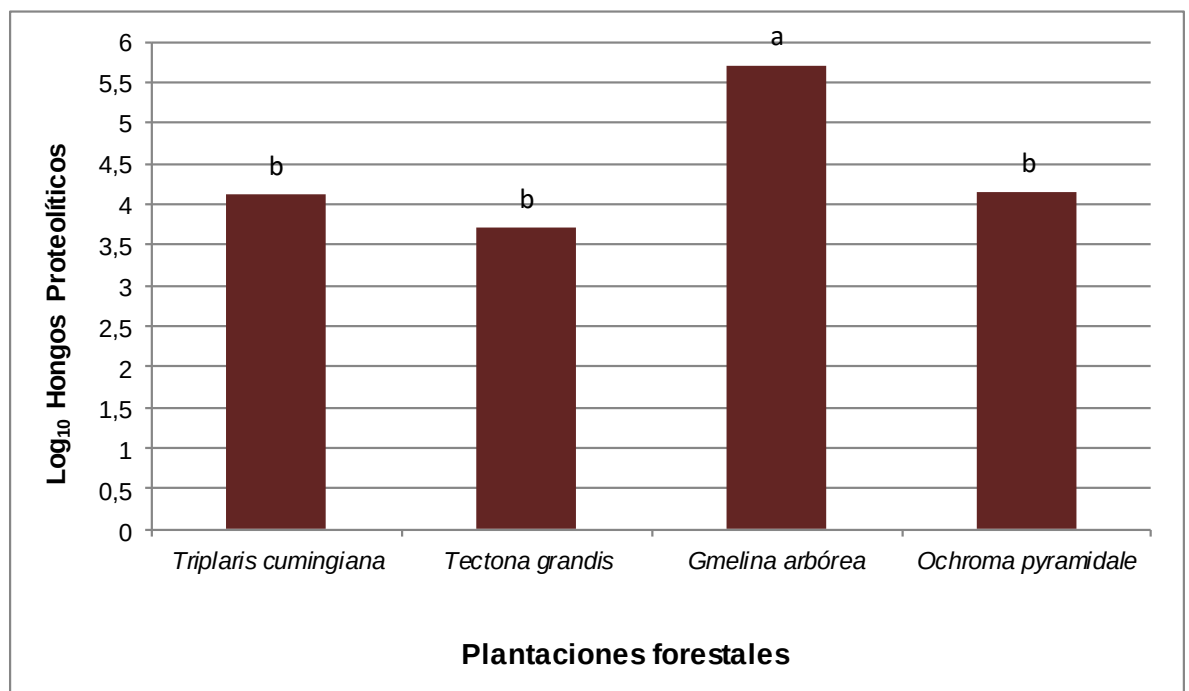


* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 7. Bacterias amonificantes, aisladas en suelos de cuatro plantaciones forestales comerciales.

4.2.4. Hongos proteolíticos

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 suelo procedente de una plantación de *G. arbórea* mostró ser superior estadísticamente frente a los demás tratamientos (5,712 Log₁₀), mientras que la menor población fúngica (3,721 Log₁₀) se obtuvo en el tratamiento suelo procedente de *T. grandis*, aunque estadísticamente fue similar a *O. pyramidale* y *T. cumingiana* (figura 8).

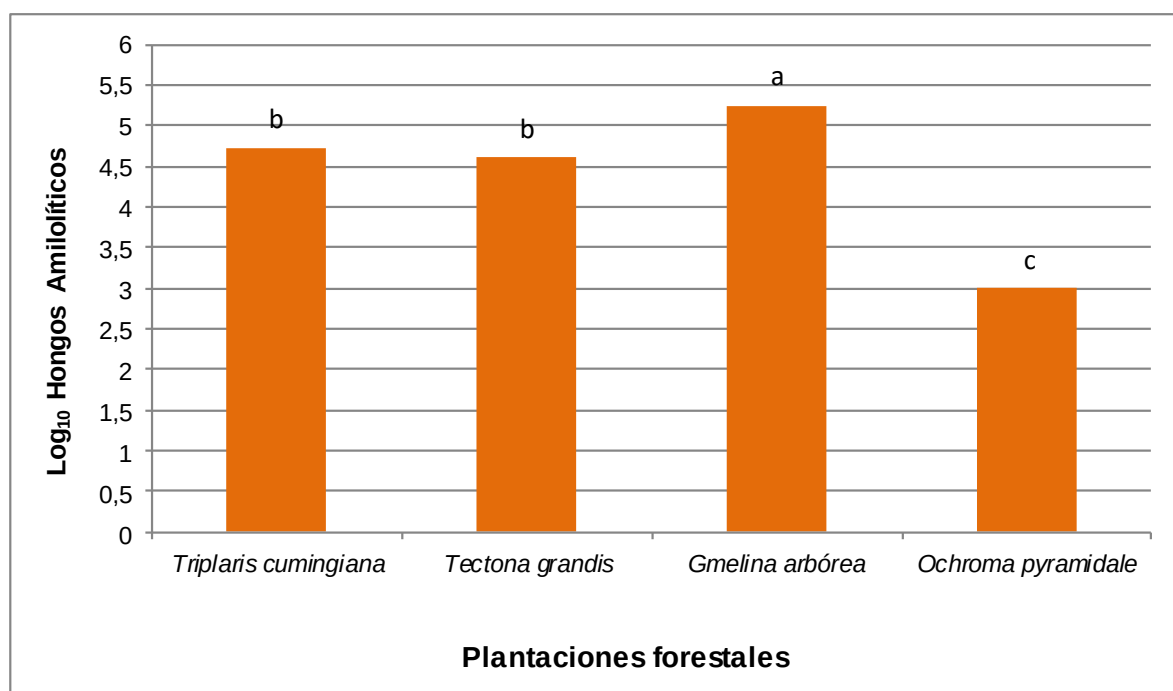


* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 8. Hongos proteolíticos, aislados en suelos de cuatro plantaciones forestales comerciales.

4.2.5. Hongos amilolíticos

En la figura 9, se muestran las poblaciones fúngicas amilolíticas encontradas en suelos bajo las diferentes plantaciones forestales comerciales. El análisis ANOVA determinó la existencia de diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos estudiados, donde el tratamiento *G. arbórea* (5,252 Log₁₀) fue estadísticamente superior a los demás tratamientos. La menor población fúngica amilolítica (3,012 Log₁₀) se encontró en el tratamiento suelo procedente de una plantación de *O. pyramidale*.

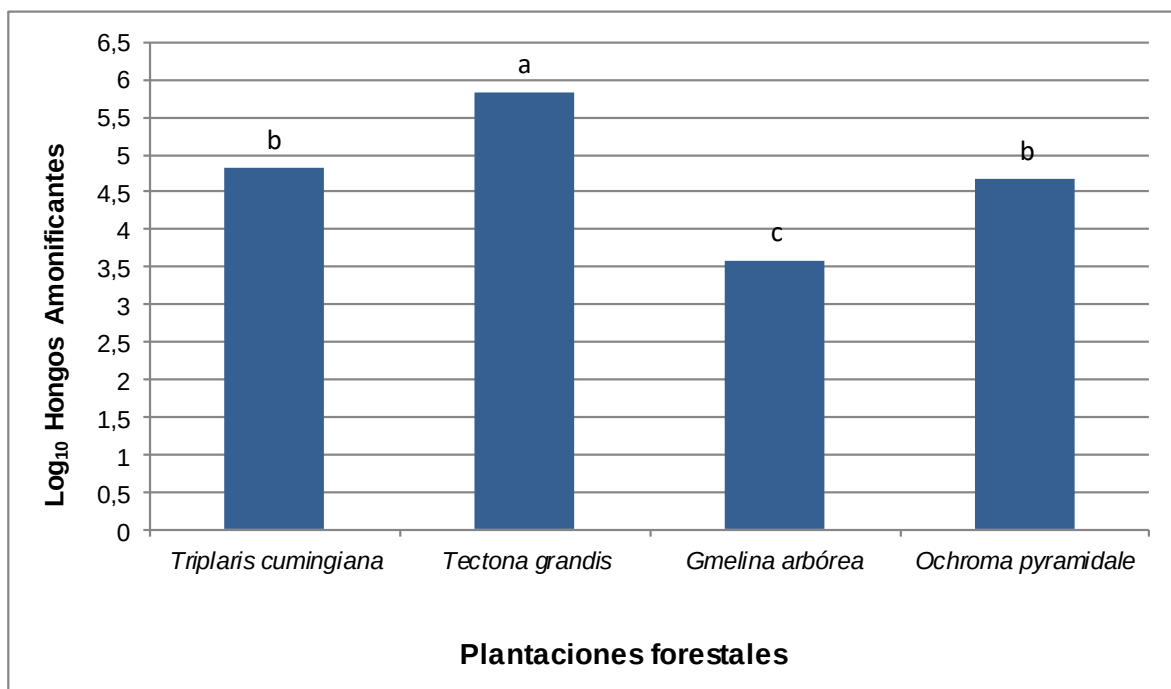


* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 9. Hongos amilolíticos, aislados en suelos de cuatro plantaciones forestales comerciales.

4.2.6. Hongos amonificantes

En la figura 10 se muestra las poblaciones fúngicas amonificantes encontradas en suelo bajo diferentes sistemas de producción. El análisis ANOVA determinó la existencia de diferencia estadística significativa entre tratamientos, donde el tratamiento con la población superior fue *T. grandis* (5,827 Log₁₀), diferenciándose de los demás tratamientos. No obstante la menor población fúngica amonificante se encontró en el tratamiento de *G. arbórea* (3,595 Log₁₀).



* Letras distintas indican diferencias significativas

Figura 10. Hongos amonificantes, aislados en suelos de cuatro plantaciones forestales comerciales.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. CONCLUSIONES

El recuento bacteriano a las 48 horas si presentó diferencias estadísticas significativas, siendo el suelo procedente de *Gmelina arbórea* el que mejor resultados mostró con un valor de 6,2 Log₁₀.

En cuanto al test bioquímico de tinción de Gram se pudo observar que en suelos bajo plantaciones forestales de *T. grandis* y *G. arbórea* habitan mayor cantidad de bacterias Gram (+) con el 70% y 67%, respectivamente.

La prueba de catalasa dio como resultado que el mayor porcentaje de colonias aisladas tuvo una reacción positiva en todos los tratamientos estudiados; *T. grandis* (72%), *T. cumingiana* (68%), *G. arbórea* (67%) y *O. pyramidale* (59%).

Se pudo observar, en cuanto al recuento de poblaciones fúngicas que a las 48 y 96 horas de incubación permite observar diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos, donde el número de propágulos fúngicos del T4 *Ochroma pyramidale* resultó ser el más alto con (5,13).

En el tratamiento de la plantación forestal de *Ochroma pyramidale* el recuento de poblaciones de hongos en la dilución 10⁻⁵ se observó el crecimiento del género *Penicillium* de color de verde - amarillo, esto puede indicar que este hongo puede ser un potencial patógeno cuando no hay mucha competencia por el sustrato.

Las poblaciones bacterianas y fúngicas Proteolíticas del suelo *G. arbórea* y *T. grandis* son mayores que los otros tratamientos, siendo el suelo de *T. cumingiana* el de menor población proteolítica

En cuanto a las poblaciones Bacterianas y Fúngicas Amilolíticas, las mayores estuvieron presentes en el tratamiento de *G. arbórea*.

En los Amonificantes el tratamiento de *T. grandis* obtuvo la mayor cantidad, tanto en el ensayo realizado en hongos como en bacterias.

5.2. RECOMENDACIONES

En función de la experiencia obtenida en la presente investigación se recomienda que es indispensable realizar el recuento bacteriano hasta las 24 horas, en virtud que en horas posteriores a las 24 existe una división celular acelerada y se vuelve incontable.

Después haber obtenido los resultados de esta investigación se recomienda seguir con estudios de actividades enzimáticas tales como Deshidrogenasas, Fosfatasas, Ureasa.

Realizar estudios con el hongo de género *Penicillium* encontrado en el sistema de producción de *Ochroma pyramidale*, ya que puede ser un potencial patógeno en esta especie.

BIBLIOGRAFIA

- Barnett, H. y Hunter, B. 1987. Ilustred 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>.
- Camones, M.; Fuertes, C.; Jurado, B.; Texeira, I.; Mondragón, G.; Taype, E. & Ostos, H. 2009. Estudio farmacognóstico, actividad antioxidante y toxicidad a dosis límite de *Triplaris americana* L. (tangerana colorada).
- Carrillo, L. 2003. Microbiología Agrícola. Universidad Nacional de Salta. Capitulo 1 Argentina. p. 1-20.
- Cruz, N.; Morante, J. & Acosta, M. 2008. Propagación vegetativa de Fernan Sánchez (*Triplaris guayaquilensis*) mediante la utilización de hormonas de enraizamiento (ANA y AIB). Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Quevedo, Los Ríos, Ecuador.
- Desmarchelier, C. & Alonso, J. 2005. Plantas Medicinales para la atención primaria en la salud. Vademécum de Fitoterapia – 2005. PRODAPP. Lima.
- Ettema, C. H. y Wardle, D. A. 2002. Spatial soil ecology. Trends Ecol. Evol. 17: 177-183.
- Fonseca, W. 2004. Manual para productores de teca (*Tectona grandis* L. F.) en Costa Rica. P 174-2003
- 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.
- 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.

- González, E.; García, C. & Correa, J. 2005. Especies forestales del bosque seco "Cerro Negro-Cazaderos" Zapotillo-Puyango. Loja, Ecuador. Fundación Ecológica Arcoíris, pág. 39.
- Insam, H. 2001. Developments in soil microbiology since the mid 1960s. *Geoderma* 100: 389-402.
- Madepron, P. 2011. Balsa. Guayaquil: Madepron.
- Menezes, M. y Oliveira, M. 1993. Fungos fitopatogenicos. Imprenta Universitaria de UFRPE. Pernambuco. Brasil. p. 1- 80
- 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
- Nunan, N., Wu, K., Young, I. M., Crawford, J. W. y Ritz, K. 2003. Spatial distribution of bacterial communities and their relationships with the micro-structure of soil. *FEMS Microbiol. Ecol.* 44: 203-215.
- Obregon, C. 2005. La Balsa una especie con madera. *Revista el mueble y la madera*, 20-22.
- 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.
- Pelczar, M; Reid, R. y Chan. E. 1990. Microbiología. El ciclo del nitrógeno. 2 ed. Mexico. Libros Mc Graw- Hill. p. 639- 642.
- 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.
- Rojas, F.; y Murillo, O. 2004. Manual para la producción de Melina en Costa Rica, 35 p.

- 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. Sporulatin in puere cultura. Germany. J CRAMER. p. 5-87
- 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. Recover y 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.

ANEXOS

Quevedo, 16 de mayo del 2016

Ing. Roque Vivas Moreira
DIRECTOR DE POSGRADO
PRESENTE.-

La presente es con el objeto de poner a vuestra consideración el informe emitido por el sistema, de la herramienta antiplagio URKUND del proyecto de investigación de Maestría en Manejo y Aprovechamiento Forestal titulada: MICROORGANISMOS EDÁFICOS Y SU NIVEL DE ASOCIACIÓN EN SUELOS DE CUATRO PLANTACIONES FORESTALES EN LA PROVINCIA DE LOS RÍOS, ECUADOR, 2016, del Ingeniero Gabriel Ivan Morales Castiño.

Como director del proyecto certifico que este trabajo ha cumplido con los parámetros establecidos en el reglamento de posgrado (7%) para cuyo efecto estoy adjuntando la captura de pantalla emitida por el URKUND.

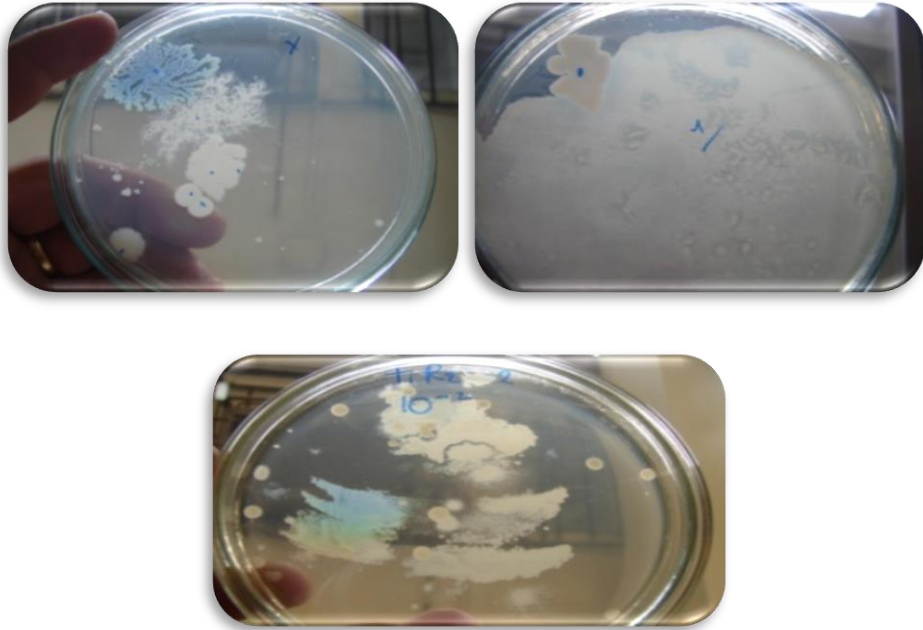
URKUND	
Documento:	TESIS IVAN MORALES.docx (D19160078)
Iniciado:	2016-04-09 17:45 (-05:00)
Mailtagare:	jcasquer_sitad@analisis.orkund.com
Meddelande:	IVAN MORALES Microorganismos edáficos se encuentran asociados a cuatro plantaciones forestales en la Visa beta modelandet
7% av det här c:a 21 sidor stora dokumentet består av text som också förekommer i 3 st källor.	

Por la atención que se sirva dar a la presente, me suscribo de usted.

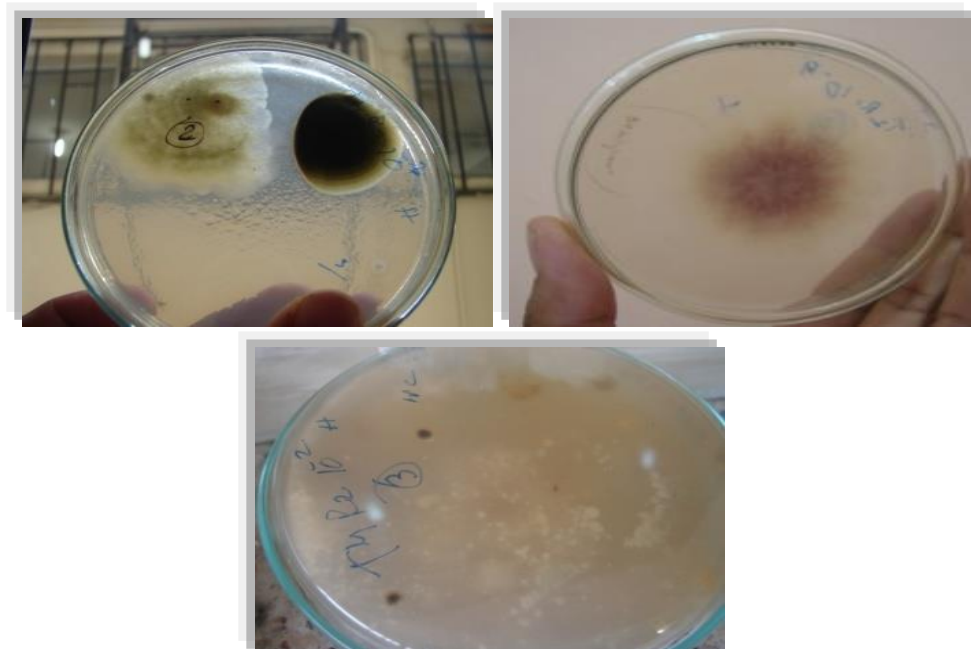
Atentamente,


Ing. Elián Casquer Fúel
DIRECTOR DE TESIS

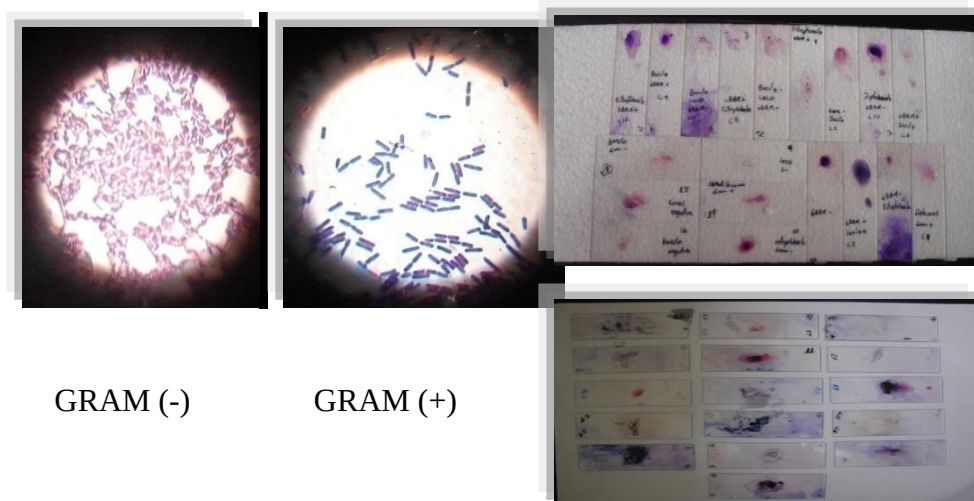
Anexo 1. Recuento de bacterias, crecimiento bacteriano en cajas petri que contiene agar peptona.



Anexo 2. Recuentos fúngico, crecimiento de hongos en cajas petri que contiene agar extracto de malta.



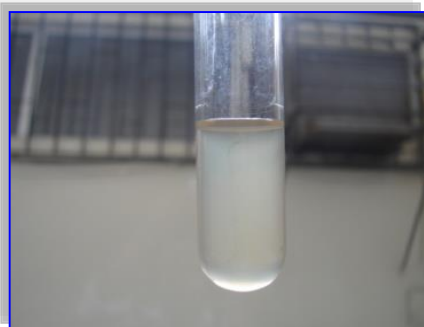
Anexo 3. Tinción de GRAM visto bajo el microscopio y montajes.



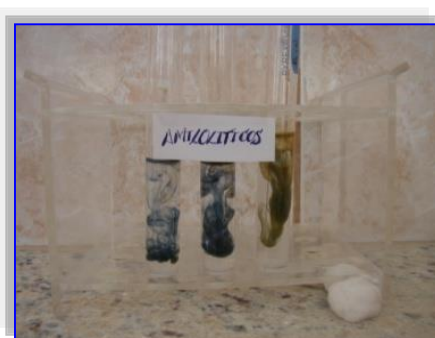
GRAM (-)

GRAM (+)

Anexo 4. Prueba grupo funcional de Proteolíticos en medio de cultivo de gelatina (+ tubo positivo – tubo negativo).



Anexo 5. Prueba grupo funcional de Amilolíticos en medio de cultivo para la amilólisis (+ tubo positivo – tubo negativo).



Anexo 6. Prueba grupo funcional de amonificantes en medio de cultivo para la amonificación (+ tubo positivo – tubo negativo). Pruebas amonificantes.



Anexo 7. Análisis de varianzas de los microorganismos edáficos.

BACTERIAS PROTEOLITICAS					
	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	13,163	3,725	24,117	0,000
ERROR	8	1,627	0,194		
total	11	14,790			

BACTERIAS AMIOLITICAS					
	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	12,892	2,620	24,920	0,000
ERROR	8	1.026	1,219		
total	11	14,008			

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	11,834	1,369	23,172	0,000
ERROR	8	1,692	0,937		
total	11	13,526			

HONGOS PROTEOLITICOS					
	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.

	Libertad	cuadrados	medios	calculada	
TRATAMIENTO	3	12,981	3,483	52,623	0,000
ERROR	8	0,957	0,723		
total	11	13,938			

HONGOS AMILOLITICOS

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	13,629	2,835	35,980	0,000
ERROR	8	0,962	0,202		
total	11	14,591			

HONGOS AMONIFICANTES

	Grados de Libertad	Suma de cuadrados	Cuadrados medios	F calculada	prob.
TRATAMIENTO	3	14,631	2,562	34,373	0,000
ERROR	8	1,893	1,649		
total	11	16,524			