

EFECTO DE LA TECNOLOGÍA DE MICROORGANISMOS EFICACES EN SUELOS INTERVENIDOS ANTRÓPICAMENTE DEL PARQUE FORESTAL EMBALSE DEL NEUSA, DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA.

JAHANAVY ALEJANDRA PÉREZ BRAVO

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
BOGOTÁ, 2016

EFECTO DE LA TECNOLOGÍA DE MICROORGANISMOS EFICACES EN SUELOS INTERVENIDOS ANTRÓPICAMENTE DEL PARQUE FORESTAL EMBALSE DEL NEUSA, DEPARTAMENTO DE CUNDINAMARCA.

JAHANAVY ALEJANDRA PÉREZ BRAVO

Proyecto de Trabajo de Grado para optar al título de Licenciado en Biología

Drector
GERMAN ANTONIO NIÑO GALEANO
Mg. Docencia

Codirectora
MERY HELEN TIJARO OREJUELA
MsC. Biología Celular

UNIVERSIDAD DISTRITAL FRANCISCO JOSE DE CALDAS
FACULTAD DE CIENCIAS Y EDUCACIÓN
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA
BOGOTÁ, 2016

La Universidad no se hace responsable de las ideas, ni del contenido del presente trabajo, debido a que éstos hacen parte única y exclusivamente de sus autores.
Capítulo 15, Artículo 117, Acuerdo Nº 029 de 1988 del Consejo Superior de La Universidad Distrital Francisco José de Caldas

Nota de aceptación

_____
_____
_____
_____
_____
_____

_____
Presidente del jurado

_____
Jurado

_____
Jurado

Bogotá D.C.
----------/----------/2016

AGRADECIMIENTOS

Gracias a mi familia, a mis padres Mónica Bravo López y Vicente José Pérez Alvis y mi hermano Ángel Ananda Pérez Bravo por su apoyo incondicional, consejos y ayuda en los momentos más difíciles durante la formación profesional y personal.

Muy especialmente agradezco a los profesores Mery Helen Tijaro y Germán Antonio Niño por el apoyo y paciencia en revisión de este trabajo. Además por confiar en mis capacidades brindándome la oportunidad de crecer como persona, profesional e investigadora aplicando mi conocimiento, y obteniendo bastantes enseñanzas, en un trabajo de alto impacto a nivel de restauración

A la Universidad Distrital Francisco José de Caldas, Facultad Ciencias Y Educación, Proyecto Curricular Licenciatura en Biología y a mis maestros Francisco Becerra, Gustavo Giraldo, Carmen Helena Moreno, Mery Helen Tijaro, Margarita Vargas, Abelardo Rodríguez, Guillermo Fonseca, Isidro Gutierrez, Juan Carlos Suzunaga, Edna Margarita Vargas, Jose Joaquin Castro, German Niño, Mery Tijaro por la formación profesional que me han proporcionado.

Al Grupo de Investigación en Ecología y Conservación de Plantas de Colombia (GIECPC) por sus valiosos aportes que contribuyeron al mejoramiento continuo de la investigación.

Al Parque Forestal Embalse del Neusa por brindarme su confianza y apóyame en este trabajo de investigación. Y con ello a la CAR por brindarme la oportunidad y condiciones en el Parque, gracias al Ingeniero Coba.

A el Profesor Francisco Becerra y al Semillero de Investigación en Biología Molecular (BioMol) por haberme brindado su apoyo logístico, economicopor su apoyo incondicional para el termino de este trabajo.

A nuestros amigos que siempre dieTaron una voz de aliento en el transcurso de este proceso y de toda la carrera donde aportaron para mi formación academica y personal.

TABLA DE CONTENIDO

1. INTRODUCCIÓN ***10***
3. OBJETIVOS ***12***
3.1 Objetivo general 12
3.2 Objetivos específicos 12
4. JUSTIFICACIÓN ***13***
5. MARCO DE REFERENCIA **14**
5.1 Antecedentes 14
5.2 Marco Histórico 15
5.3 Marco Geográfico 16
6. MARCO TEORICO ***17***
6.1 Generalidades de la tecnología E.M. 17
6.2 Características de los microorganismos en la tecnología E.M. 17
6.2.1 Bacterias fotosintéticas (Rhodopseudomonas spp) 17
6.2.2 Bacterias acido lácticas (Lactobacillus spp) 17
6.2.3 Levaduras (Saccharomyces spp) 17
6.3 Tipos de Compost 17
6.3.1 Compostaje o Compost 18
6.3.2 EM-Compost 18
6.3.3 Bokashi 18
6.4. PROPIEDADES DE LOS SUELOS ***18***
6.4.1 Propiedades químicas 18
6.4.2 Textura del suelo 21
6.5. PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL SUELO ***21***
7. METODOLOGÍA **23**
7.1 Fase de Campo **23**
7.1.1 Extracción de muestras de suelo: 23
7.1.2 Elaboración del compost 24
7.1.3 Inoculación del compost con 25%, 50% y 75% de la tecnología E.M. y mezcla con el suelo. 24
7.1.4 Inoculación directa al suelo con concentraciones de 25%, 50% y 75% de E.M. 25
7.2 Etapas de Laboratorio **25**
7.2.2 Bacterias totales por dilución en placa 26
7.2.3 Cultivos específicos para bacterias fotosintéticas (Rhodopseudomonas spp) 27
7.2.4 Cultivos específicos para Bacterias acido lácticas (Lactobacillus spp) 27
7.2.5 Cultivos específicos para levaduras (*Saccharomyces spp*) **27**
7.2.6 Identificación bacteriana: **27**
7.3 Análisis fisicoquímico del suelo del Embalse de Neusa zona Laureles, antes y después de la inoculación de E.M. 28
7.4 Método de análisis de datos **28**

8. RESULTADOS ***29***
8.1. Identificación de microorganismos antes y después de la inoculación **29**
8.2 Determinación y caracterización físico-química del suelo antes y después de la inoculación de E.M 31
8.3 Cuantificación de las bacterias por UFC (Unidades Formadoras de Colonias) 34
8.4 Método de análisis de datos 35
9. ANALISIS DE RESULTADOS ***36***
9.1 Identificación de microorganismos antes y después de la inoculación 36
9.2 Determinación y caracterización físico-química del suelo antes y después de la inoculación de E.M 37
9.3 Cuantificación de las bacterias por UFC (Unidades Formadoras de Colonias) 38
CONCLUSIONES ***40***
RECOMENDACIONES **41**
BIBLIOGRAFIA **42**
ANEXOS……..……...44

INDICE DE TABLAS

		pág.
Tabla 1.	Clasificación del grado de acidez a basicidad de acuerdo con el potencial de hidrógeno, en relación 1:1	19
Tabla 2.	Tipo mezcla de compost y E.M. para la inoculación bacteriana.	24
Tabla 3.	Mezcla del porcentaje de inoculación de E.M. directa en el suelo.	25
Tabla 4.	Presencia y ausencia de las especies de microorganismos en la muestra control y el tratamiento 10.	30
Tabla 5.	Resultados del análisis de varianza de los tratamientos 10 y 12	35

INDICE DE FIGURAS

		pág.
Figura 1.	Ubicación del sitio de muestreo, en donde dice Ensayo U.D.	23
Figura 2.	Suelo denudado para la toma de muestras	24
Figura 3.	***Streptomycetes sp.***	47
Figura 4.	***Ochrobactrum trictici.***	47
Figura 5.	***Micromonospora sp***	47
Figura 6.	***Streptomycetes sp..***	48
Figura 7.	***Penicillium janthinellum.***	48
Figura 8.	***Cladosporium sphoerospermun.***	48
Figura 9.	***Achromobacter denitrificans***	49
Figura 10.	***Doratomyces microsporus***.	49
Figura 11.	***Lactobacillus pentosus.***	49
Figura 12.	***Bacillus weihenstephanensis/cereus***	50
Figura 13.	***Paenibacillus tarimensis.***	50
Figura 14.	***Streptomyces s.p.***	50
Figura 15.	***Streptomyces s.p.***	51
Figura 16.	***Mucor plumbeus.***	51
Figura 17.	***Mucor plumbeus.***	51

RESUMEN

Los Microorganismos Eficaces (E.M.), corresponden a una mezcla de bacterias y hongos importantes para el proceso de mejoramiento del suelo, tecnología desarrollada por el profesor Terou Higa de la Universidad de Ryukyus, Okinawa, Japón (Higa, 1991), combinación que se debe tener en cuenta debido a que a través del tiempo las diferentes actividades antrópicas entre ellas monocultivos, ganadería, extracción minera, entre otras ha generado efectos negativos como la erosión, la desertificación y la pérdida de biodiversidad en los ecosistemas. Este estudio analiza los efectos de la inoculación de los E.M. de forma directa o en compost en suelos intervenidos antrópicamente con cultivos de especies exóticas como Pinnus sp. y Eucaliptus sp., que generaron en el suelo cambios fisico-químicos y microbiológicos en el Embalse del Neusa, zona Laureles Cundinamarca- Colombia.

Para llevar a cabo este trabajo se extrajo el suelo del área de estudio, donde se identificaron las caracteristicas microbiológicas y fisico-químicas mediante el pH y la concentración de iones como nitrógeno, carbono, fósforo, magnesio, entre otros, antes y después de los tratamientos con EM. Se utilizó inoculación directa de EM e inoculación de EM mezclada con diferentes tipos de compost, además se analizó el cambio físico-químico del suelo. Los resultados mostraron que los tratamientos de EM mezclados con compost tuvieron un incremento en los nutrientes y UFC a diferencia de los tratamientos donde se inocularon los EM directamente al suelo, Se evidencio un crecimiento significativo principalmente en las UFC, encontrando organismos importantes para la restauración geomorfológica como Bacillus weihenstephanensis, Lactobacillus pentosus, entre otros; por otra parte se vio un incremento de nutrientes del suelo al final del estudio, demostrado en la cantidad de fósforo que aumento de 8 (cmol (+)/kg) a 116 (cmol (+)/kg). El tratamiento 10 que contenia EM mezclado con compost de cerdaza, papa, aserrín presentó los mejores resultados. Se concluye que la tecnología E.M. tiene un efecto positivo en la restauración geomorfológica al mejorar las propiedades microbiológicas y fisco-químicas, además se afirmó que el los cambios de E.M. tiene una mayor eficacia con la inoculación con compost, que la inoculación directa en el suelo.

Palabras clave: Microorganismos; Fisico-quimico; UFC; iones.

INTRODUCCIÓN

El suelo es uno de los recursos más importantes para el ser humano, debido a que de allí se obtienen diferentes tipos de materias primas, entre ellas tenemos la madera, productos agrícolas, entre otros. El continuo uso del suelo genera efectos como la erosión, la pérdida de nutrientes y disminución de microorganismos que hacen parte de la biodiversidad edáfica (Cortes, 1990), los cuales cumplen funciones importantes en la transformación de materia orgánica en nutrientes, que son almacenados y aprovechados por las plantas (Arakawa, 1991). Diferentes factores como actividades antrópicas principalmente y algunos factores naturales generan el desgaste de los nutrientes. Para que el suelo vuelva a un estado saludable es necesario la restauración con microorganismos que inducen la producción de nutrientes para un suelo sano (Higa, 1991).

Es por eso, que se está aplicando en diferentes procesos productivos un tipo de biotecnología llamada Biorremediación, que ayuda a solucionar el impacto generado por las actividades del ser humano, que han sobrepasado la capacidad de los ecosistemas con efectos nocivos, como la pérdida de biodiversidad nativa y con esta el desequilibrio de los hábitats. La restauración del suelo a base de microorganismos que coexisten entre sí y que ayuden a la producción de sus propios alimentos, como el género *Rhodopseudomonas spp*, *Lactobacillus spp y Saccharomyces spp*, incrementa la calidad del suelo proporcionando nutrientes como iones nitrógeno (NO^{-3}), dihidrógeno de fosfato ($H_2PO_4^-$), calcio (Ca^{+2}), potasio (K^+), magnesio (Mg^{+2}), hierro (Fe^{+2}), cobre (Cu^{+2}), zinc (Zn^{+2}), entre otros (Teruo & Parr, 1994)
Este trabajo analizó el efecto que genera en el suelo, la presencia de microorganismos eficaces (E.M. según sus siglas en inglés “effective microorganisms”), por medio de la inoculación directa y de la utilización de una mezcla de E.M. y compost, gracias a la mezcla de microorganismos que fue desarrollado por el profesor Terou Higa de la Universidad de Ryukyus, Okinawa, Japón (Higa, 1991). Para analizar este efecto se escogió como área de estudio suelos intervenidos antrópicamente, en el Embalse de Neusa zona de Laureles y así permitió tener un punto de referencia para futuras investigaciones en la implementación de la tecnología de E.M. en Colombia y por ende en la restauración de suelos, que es de gran importancia en un país con un 70% de territorios agrícolas (AMB & Alcaldia, 2012).

Este estudio permitió identificar el efecto positivo de los microorganismos eficaces en el suelo, además del mejor tipo de inoculación de estos (directo o en compost), lográndolo gracias a la identificación del número de bacterias y hongos que crecieron en cada uno de los tratamientos, al igual que el número de especies que se encontraron, sumándole el análisis físico-químico del suelo. Gracias a esto, se encontró la importancia de estos microorganismos que cumple funciones como el mejoramiento en la calidad del suelo a nivel fisicoquímico y biológico, y por ende disminución de la erosión, además de alimento para especies asociadas como la vegetación nativa.

2. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Una de las primeras causas de la erosión del suelo es la extracción de leña y carbón vegetal durante las guerras civiles en Bogotá D.C. (Colombia) dejando los cerros desnudos y con bajo nivel nutricional, por esta razón Manuel Murillo Toro ministro de Caracas en 1864, dio al historiador Casiano Salcedo semillas de la especie *Eucalyptus globulus,* para reforestar los cerros, pensando que purificaba el aire y sanaba enfermedades, como el paludismo. Basado en estos conceptos se realizan plantaciones de *Eucalyptus* y *Pinus* en el Parque Forestal Embalse del Neusa (1951) (Alcaldía, Mariño, Peña, & Escobar, 2004)

La inserción de especies exóticas como *Eucalyptus* y *Pinus*, presentan un alto requerimiento de nutrientes y son altamente competitivas, esto facilita el empobrecimiento del terreno e impide el desarrollo de otras especies en sus proximidades, generando una alta degradación del suelo y un aumento de la acidez. Cuando el suelo presenta una elevada acidez (pH 4 a 6) precipita los nutrientes presentando dificultades para que las plantas los asimilen, además de deteriorar la raíz de diferentes plantas (Manrique, 2004).

Estos efectos negativos en el suelo, generan que varias especies vegetales nativas, no prosperen haciendo que los ecosistemas sean homogéneos disminuyendo así, la diversidad de especies. Por ejemplo, cierto tipo de vegetación como la Palma de Cera es el nicho de aves como el *Ognorhynchus icterotis* (Periquito orejiamarillo), de los bosques andinos el *Aotus lemurinus* (Mico nocturno) y el *Ramphastos sulfuratus* (Tucán pico iris) que está amenazado por destrucción de su hábitat, si esta vegetación se extingue por la introducción de especies vegetales exóticas, los animales no tendrán lugar para habitar y esto reducirá gradualmente la biodiversidad de la zona, ya que la pérdida de una especie afecta a todo un ecosistema, debido a sus relaciones intra-especificas e inter-especificas. (Hernandez., 2006; Manrique, 2004).

La Alcaldía Mayor de Bogotá, la Fundación Cerros de Bogotá y el Instituto Humboldt firmaron un convenio de cooperación que busca promover la investigación, conservación y uso sostenible de los Cerros Orientales de Bogotá llamado *"Un paso adelante hacia la restauración de los Cerros Orientales",* en donde se espera que especies nativas promuevan la restauración del suelo; sin embargo, el convenio no tiene en cuenta estudios para la recuperación del sistema edáfico, antes de la siembra de especies nativas (AMB & Alcaldia, 2012).Tradicionalmente se han planteado para este tipo de problemas, una selección de plantas adecuadas, para la recuperación del suelo (*Alnus acuminata, Baccharis floribunda, Vallea stipularis, Myrcianthes leucoxyla*) (APROLAB, 2007), pero estas plantas no pueden realizar una rápida restauración, debido a que en muchos casos la condición de los suelos no permite que den su máximo potencial y mueren por falta de nutrientes o por la competencia de otras especies invasoras que son más resistentes (Higa, 1991).

Es por esto, que primero es necesario la restauración del suelo, antes de la inserción de especies vegetales nativas, que permite mejorar las características fisicoquímicas del suelo y la diversidad de la microfauna.

Por lo tanto, con este trabajo se solucionó el interrogante ¿Cuáles son los efectos de la inoculación de los E.M. de forma directa o en compost, en suelos afectados por las plantaciones de especies exóticas?. Y con ello proponer el mejor método para avanzar con mayor eficacia en el campo de restauración de ecosistemas, de una manera natural y sin posibles consecuencias dañinas a largo plazo.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Analizar los efectos de la inoculación de los E.M. de forma directa o en compost en los suelos intervenidos antrópicamente del Parque Forestal Embalse del Neusa sector Laureles, Departamento de Cundinamarca.

3.2 Objetivos específicos

- Identificar los microorganismos presentes en el suelo del Embalse de Neusa en la zona de Laureles antes y después de la inoculación de los E.M.

- Determinar y caracterizar físico-químicamente el suelo presente en la zona de Laureles del Embalse de Neusa antes y después de la inoculación de los microorganismos eficaces.

- Analizar el efecto de los E.M. inoculados directamente al suelo y por medio de compost a nivel *in vitro*.

4. JUSTIFICACIÓN

La introducción de algunas especies no endémicas de la región, afecta el suelo y la cadena trófica del ecosistema. Esto conlleva a limitar el crecimiento de especies vegetales y su desarrollo, en consecuencia las plantas que son propias de un hábitat específico, no tendrían la suficiente concentración de moléculas y elementos básicos para su debido desarrollo, y esto nos conduce a que su densidad poblacional disminuirá. Por esto es necesario buscar una solución para que el suelo proporcione los nutrientes adecuados y así del sustento a diferentes factores bióticos, entre ellos las plantas. Como solución a esta problemática T. Higa desarrolló la tecnología E.M., que se basa en una relación bacteria- suelo y sus interacciones químicas y físicas. Este recurso biológico permite una restauración sin daño al medio ambiente y promueve la reutilización de residuos de productos agrícolas como la gallinaza, la cerdaza, cascarilla de arroz, vainas, residuos de plantaciones agrícolas, entre otros, garantizando una economía sustentable, ya que se reduce los desechos de fincas en un 70%, al igual que costos en fertilizantes y trasporte de contaminantes logrando una gran eficacia de los componentes al reducir y reutilizando la materia prima en la producción de esta técnica, para así poderla llevar a una gran producción sin afectar la economía y el ambiente.

Debido a la importancia de los procesos de restauración de suelos se requiere este estudio que propone determinar el efecto de EM en suelos perturbados estableciendo un estándar, donde se tenga en cuenta las concentraciones de EM y el tipo de aplicación al suelo, ya sea directa o mezclado con compost, para determinar el efecto en la presencia de nutrientes del suelo y en el mejoramiento de las condiciones físico-químicas y microbiológicas.

Gracias a la finalidad de este trabajo se brindó una referencia, que sea utilizada en estudios futuros, que deseen realizar ensayos en condiciones in vivo y a gran escala en ecosistemas degradados por diferentes actividades antrópicas. Esto produjo un aporte para la preservación de especies en vía de extinción por la destrucción de hábitats estratégicos. Por lo tanto, el beneficio de eliminar la desertificación, gracias a la restauración del suelo por los microorganismos eficaces, nos lleva a mejorar muchos ámbitos a nivel agropecuario, de restauración ecológica y geológica. Más no se trata tan solo del beneficio del suelo, sino en un escenario económico como el mejoramiento en la producción agrícola, puesto que ayuda a la cantidad y calidad de las cosechas. Así mismo, se puede bajar el riesgo geológico, que produce la erosión, como resultado del cambio de la textura del suelo y la posterior restauración de flora en una zona.

5. MARCO DE REFERENCIA

5.1 Antecedentes

La inoculación del suelo con microorganismos benéficos o eficaces (E.M. según sus siglas en inglés "*effective microorganisms*") fue desarrollado por el profesor Higa de la *Universidad de Ryukyus, Okinawa*, Japón (Higa, 1991). Consiste en un conjunto de microorganismos, donde predominan lactobacilos, bacterias fotosintéticas y actinomicetos (*Rhodopseudomonas spp*, *Lactobacillus spp y Saccharomyces spp*), mutuamente compatibles, donde coexisten en un medio líquido que al inocularlos en suelo mejoran la biodiversidad microbiana, y con esto la calidad del suelo. En vista de estos resultados surge un cambio en la abundancia y diversidad de las plantas que habitan en este. Cuando se aplican el E.M. al suelo, este se transforma a un suelo zymogenic sintético, en este sentido los microrganismo se establecen, predominan o comparten su existencia con los microorganismos propios del suelo y así su efecto puede durar indefinidamente (Teruo & Parr, 1994)

En algunos experimentos realizados por Kameko (2003) con abono y E.M., se les evalúo el potencial de la relación nitrógeno- carbono en diferentes tipos de compost, mostrando que estos resultados fueron muy poco satisfactorios, ya que se consiguió baja mineralización de nitrógeno, por ende recomendaron que la fuente del abono hay que ser evaluada muy detalladamente para que la relación N:C sea satisfactoria, y siendo evaluada continuamente, para realizar modificaciones o ajustes necesarios, uno de los factores a revisar es el tamaño de la partícula del abono, ya que es directamente proporcional a la mineralización del nitrógeno (Kameko, 2003).

Un tipo de abono es el EM-Bokashi, en el cual su desarrollo por la aireación forzada, dando como resultado, que entre mayor sea la aireación, mayor es la producción de abono, como consecuencia de una temperatura media, que se produce por la descomposición de la materia orgánica de los microrganismos, aumentando los niveles de oxígeno y la degradación de compuestos como la celulosa y hemicelulosa hasta su transformación en azúcares. Este tipo de abono posee la capacidad de manejar grandes cantidades de componentes orgánicos (Valle, 2004), hasta un máximo de 3 toneladas o menos, lo cual hace que se tenga una mayor facilidad para controlar la aireación y la temperatura (Álvarez & Gamez, 2004).

Una de las investigaciones realizadas con los microrganismos eficaces fue el control de plagas, en cultivos de Palmito, donde la bacteria *Erwinia herbicola,* causa lesiones en la planta y aún no se tenía un control específico, por ende en las pruebas *in vitro* e *in vivo* que se realizaron dieron como resultado una disminución del efecto negativo en las plantas de palmito (Vásquez, 2004).

La Universidad EARTH de Costa Rica, ha producido diferentes abonos para la restauración de suelos, donde realizaron un análisis de la concentración de C:N para obtener la calidad del abono. En síntesis, la mejor mineralización yació en el abono que estuvo enriquecido con urea y los otros que tuvieron una gran mineralización de N. Donde para la mayor interacción de C:N se puede producir disminuyendo las fuentes como el aserrín y cambiarlas por estiércol, el cual posee un gran porcentaje de nitrógeno (Huanca & Valle, 2005).

Las actividades agrícolas generan demasiado desechos, una solución a esto fue la realización de bokashi, el cual durante su producción se observó que la calidad y economía es muy similar o menor a la del abono normal, para la mayor captación de lixiviados se agregó al bokashi aserrín y por ende su cantidad de nutrientes fue concentrada. Todo esto indica que el sistema de producción de EM-

bokashi por aire inyectado presenta mejores resultados en cuanto a tiempo, altos niveles de nutrición y economía comparado con el sistema de producción de Bokashi original (Reátegui & Zenteno, 2005).

La tecnología de microrganismos eficaces ha sido utilizada en Egipto, para el control y diminución de residuos orgánicos de fincas y casas de la zona rural, calles y otros lugares, así estos desechos se pueden volver al lugar de origen contribuyendo a la biodiversidad en los suelos (Shalaby, 2011) .

También fue revisado y comprobado la calidad del compost con y sin microorganismos eficaces, se analizó en un periodo de 90 días, siendo el más eficiente para la descomposición de la materia orgánica. La aplicación de EM en el compost aumenta los macro y micronutrientes. Gracias a estos ítems se llegó a esta conclusión: el compost aplicado con E.M. tiene más iones de N, P y K contenido en comparación con el compost sin E.M. Aunque el Fe en el compost con EM es mucho mayor que en el compost sin los microorganismos para el Zn y Cu, no hay ninguna diferencia significativa entre los tratamientos. Este estudio sugiere que la aplicación de EM es adecuado para aumentar la mineralización en el proceso de compostaje. El compost final se puede utilizar sin ninguna restricción (Jusoh, Manaf, & Latiff, 2013).

5.2 Marco Histórico

El valle donde actualmente se encuentra el Embalse del Neusa fue conocido como el valle del río Siguatoque. Es más próximo al Municipio de Cogua que al de Tausa, los documentos históricos que mencionan al pueblo viejo de Neusa están relacionados con la población de Cogua (Escobar & FIAN, 1991).

Antes de ser un parque, la Compañía Colombiana de Electricidad decidió construir un embalse para el suministro de energía en Bogotá y Zipaquirá, a esta investigación se le sumó la colaboración del Banco de la República y con ello el proyecto se amplió con abastecimiento de agua, regulación del caudal del río Bogotá, recuperación de los suelos y evitar inundaciones por lluvias; luego de un tiempo la generación de electricidad no se logró, por ende la construcción del embalse se inició 1949, por la compañía Winston Bros Company, y fueron concluidas en 1952 (Gómez, 1999), con el objeto de embalsar las aguas de los ríos cubillos, Neusa y quebradas afluentes, en un embalse, fue con el fin de permitir un desarrollo hidroeléctrico, consumo humano y regulación de caudales. Por consiguiente, impidiendo las inundaciones en época de lluvias, que solían ocurrir con frecuencias en la cuenca media y baja del rio Bogotá, afectando principalmente los municipios de Cota, Funza, Madrid y El Distrito Capital. En 1962 fue entregado a la CAR para su manejo y administración (Grupo901, 2009).

En este orden de ideas, el embalse se halla en un gran ecosistema con diferentes actividades bióticas, tanto de especies nativas como foráneas. A lo anterior, las especies foráneas presentan efectos nocivos en el medio ambiente local, por dichas razones, se reportó que debajo de plantaciones exóticas, principalmente de pino, en Neusa (Cundinamarca), a 3.000 msnm, los suelos son más secos, menos humíferos y la descomposición de la materia orgánica es inhibida por la hojarasca ácida, la cual es debido a las hojas quitinosas de los pinos y la exudación de sustancias resinosas por las raíces de estos. Al mismo tiempo, coincidieron en afirmar que las especies como el pino, durante su crecimiento, consumen demasiada agua y disminuyen el rendimiento hídrico, secando finalmente el suelo (Cortés L., 1990). De hay que, las plantaciones forestales de un gran altura (pino) presentan una evapotranspiración mayor y una escorrentía reducida en comparación con vegetación baja, enfatizando la reducción del rendimiento hídrico en la zona (Bosch & Hewlett, 1982).

5.3 Marco Geográfico

El Parque Forestal Embalse del Neusa, ubicado en el Departamento de Cundinamarca entre los municipios de Tausa y Cogua a solo 25 km de Zipaquirá y a 65 km de Bogotá, con una altitud de 3.100 msnm. En un área de 3.700 Ha., rodeada de bosques y plantaciones forestales de pino y eucalipto. Se localiza sobre la cordillera oriental, en jurisdicción de los municipios de Cogua y Tausa, donde el promedio de temperatura fluctúa entre los 4º C y 23º C, con temperaturas máxima promedio de 10 a 23 grados centígrados y mínimas de -3,8 grados centígrados (Grupo901, 2009).

Esta área presenta dos periodos de invierno, la primera en los meses de abril, mayo y junio y la segunda en los meses de octubre y noviembre; el periodo más seco es el mes de enero. Dentro de las partes del parque se desarrollan ambientes especiales, para el hábitat de diferentes especies de fauna entre las que se pueden encontrar borgo, farra, conejo silvestre, comadreja; aves como: mirla, águila real, copetón, colibrí, golondrina, crustáceos como el cangrejo sabanero y población foránea como la trucha arcoíris, capitán de la sabana y la guapucha. En su flora se encuentran una gran variedad de coníferas como el ciprés y el pino patula, además de los árboles más representativos del bosque alto andino como son: siete cueros, aliso, retamo y diferentes especies de animales silvestres, además del gran cultivo de truchas (Cortes, 1990). El parque está distribuido en varias zonas y sectores, la zona de camping de Chapinero, el sector de Laureles, el río Neusa, administración, vivero y el Guanquica. En esta distribución se puede encontrar ecosistemas acuáticos como la laguna y bosques tanto de especies nativas como exóticas.

En relación al tipo de plantaciones existentes, Cortes (1990) caracterizó el tipo de suelo presente en el sitio, encontrando características de la familia Medial, Isomésica de los Dystrandepts en ICOMAD Haplustands típico, este tipo de suelo presenta un espesor de 25 cm en el horizonte A, parte donde se encuentran la mayoría de microorganismos que descomponen materia orgánica para nutrir el suelo (Salguero, Tejedgr, Fernandez, & Ce, 1975)

6. MARCO TEORICO

6.1 Generalidades de la tecnología E.M.

El concepto de los microorganismos eficaces (EM) fue desarrollado Teruo Higa Ph.D. de la Universidad de las islas Ryukyu, Okinawa, Japón (Higa & Wididana, 1991a). A principios de los años sesenta, el profesor Higa entabló la búsqueda de una alternativa para los fertilizantes y pesticidas sintéticos (APROLAB, 2007). Desarrollando posteriormente EM, el cual consiste en cultivos mixtos de microorganismos beneficiosos naturales, que al ser aplicados aumentan la diversidad microbiana de los suelos y de plantas mejorando las propiedades fisicoquímicas del suelo (Higa & Wididana, 1991b), además conserva los recursos naturales, generando una agricultura sostenible (APROLAB, 2007).

E.M. es un cóctel líquido que contiene más de 80 Microorganismos benéficos de origen natural (APROLAB, 2007), todos estos son mutuamente compatibles entre sí y pueden coexistir en cultivo líquido. Es, sin embargo, una nueva dimensión para la optimización para el mejor suelo, labranza de conservación, residuos de cultivos reciclaje y control biológico de plaga (Higa & Wididana, 1991b), al igual que se ha utilizado en el manejo de desechos sólidos y líquidos generados por la producción agropecuaria, la industria de procesamiento de alimentos, fábricas de papel y de madera (APROLAB, 2007). Se denomina "microorganismos benéficos" nativos de la zona y se utiliza “E.M." como los cultivos mixtos de inoculación (Teruo & Parr, 1994)

6.2 Características de los microorganismos en la tecnología E.M.

Los principales organismos que se encuentran según APROLAB en el 2007 son:

***6.2.1 Bacterias fotosintéticas (Rhodopseudomonas spp*):** Las bacterias fotosintéticas son microorganismos independientes y autosuficientes, que sintetizan sulfuro de hidrógeno a partir de las secreciones de las raíces, materia orgánica y/o gases nocivos, usando la luz solar y el calor del suelo como fuentes de energía. Estudios realizados anteriormente muestran que estas bacterias crecen en medios de cultivo para bacterias oxidadoras de nitritos, donde utilizan lactasa como única enzima relacionada con el metabolismo de la lignina (Vallejo, Gómez, Cubillos, & Roldán, 2014)

6.2.2 Bacterias acido lácticas (Lactobacillus spp): Éstas bacterias producen ácido láctico a partir de azúcares y carbohidratos que bacterias fotosintéticas y levaduras; además pueden suprimir microorganismos infecciosos presentes en cultivos (APROLAB, 2007), como los nematodos (Álvarez & Gamez, 2004). Además este grupo de bacterias también llamados BAL pueden tolerar un pH hasta de 3.2 y uno de 9.6 (Ramírez, Ulloa, Velázquez, González, & Romero, 2011). Para que este tipo de bacterias crezcan adecuadamente es necesario un medio con azúcares, lactosa, aminoácidos y vitaminas, entre otros.

6.2.3 Levaduras (Saccharomyces spp): Las levaduras sintetizan sustancias antimicrobiales para el crecimiento de las plantas, a partir de aminoácidos y azúcares secretados por las bacterias fotosintéticas, la materia orgánica y las raíces de las plantas (APROLAB, 2007).

6.3 Tipos de Compost

El abono orgánico constituye una práctica de manejo fundamental en la rehabilitación de la capacidad productiva de los suelos degradados que mejoran las capacidades fisicoquímicas (Huanca & Valle,

2005), es el material que se obtiene de la degradación y mineralización de materiales orgánicos que provienen de las plantas y/o animales, sustituyendo parcial o totalmente los fertilizantes químicos (Vélex, 2002). Se clasifican en dos tipos (APROLAB, 2007):

- Abonos orgánicos sólidos: compost, humus de lombriz, bokashi.
- Abonos orgánicos líquidos: biol, te humus, te de compost.

6.3.1 Compostaje o Compost

Como un proceso dirigido y controlado de mineralización y pre-humificación de la materia orgánica (APROLAB, 2007), basado en la biodegradación aeróbica, aun mas, suministra los minerales en la nutrición inorgánica a los cultivos. En su preparación, los minerales en la materia orgánica son de fácil absorción para las plantas (Shintani *et al.*, 2000). Siendo un desarrollo que surge de forma natural (Vélex, 2002). Una de las ventajas del compost es la seguridad, ya que es limitadamente libre de patógenos por sus altas temperaturas y producción de iones; pero la desventaja, es que es necesaria la alta implementación de materia orgánica y tiempo, como consecuencia en las escorrentías se pierde mucho contenido nutricional (Shintani, Leblac, & Tabora, 2000).

6.3.2 EM-Compost

Es otro tipo de compost al que se le aplica E.M-1, acelerando el proceso de descomposición. La materia orgánica se descompone a través de la actividad de los microorganismos, que se van alimentando de ella. Pero para poder hacerlo necesitan oxígeno, agua, aireación y humedecimiento de los residuos orgánicos en el procesamiento. Sin estas condiciones la materia orgánica se pudre liberando malos olores (APROLAB, 2007).

6.3.3 Bokashi

Cuyo nombre en Japonés significa "materia orgánica fermentada" o "fertilizante orgánico fermentado" (Huanca & Valle, 2005), es un tipo de abono que es idéntico al EM-compost, lo que cambia los ingredientes del sustrato, ya que el bokashi presenta materia típica de Japón y el compost E.M. es una adaptación al occidente. El principal uso que se le da al bokashi es el activar y aumentar la cantidad de microorganismos benéficos en el suelo, también ayuda a proporcionar sustrato de alimento, sus ventajas con un mayor contenido energético de la masa orgánica, ya que no hay pérdidas por vitalización, suministra vitaminas, aminoácidos, ácido orgánico, enzimas y substancias antioxidantes directamente a las plantas y al mismo tiempo activa los macro y microrganismos benéficos durante el proceso de fermentación nativos del lugar de trabajo (Huanca & Valle, 2005), ayudando en la formación de la estructura de los agregados del suelo y no produce malos olores (Shintani *et al.*, 2000).

6.4. PROPIEDADES DE LOS SUELOS

6.4.1 Propiedades químicas

El estudio de las propiedades químicas del suelo incluye las sustancias orgánicas e inorgánicas y las transformaciones que presentan los horizontes. Éstas características de suelos fueron investigadas a lo largo del trabajo, para la observación del cambio en las propiedades de los suelos (IGAC & Estadística, 2000). Según los siguientes parámetros:

- **Relación del suelo pH:** En la relación del suelo con respecto al pH, influyen las características químicas y físicas, con el impacto de la biota microbiana edáfica. El pH se define como el logaritmo negativo de la actividad de los iones de hidrógeno en la solución del suelo, la escala de pH cubre un rango de 0 a 14, siendo el valor 7 un valor neutro, de ahí los valores menores son ácidos y los mayores básicos (IGAC & Estadística, 2000). Según la acides presente en el suelo la vegetación podrá o no absorber los nutrientes presentes, debido a que cuando existe un elevado número (pH de 4 a 6) y se encuentra en presencia de plantas, su capacidad de asimilación de nutrientes seria baja (Manrique, 2004). Por consiguiente, según Ortega en 1994 citado por el IGAC de acuerdo a los rangos de pH define las condiciones de acidez o basicidad del suelo (IGAC & Estadística, 2000):

Tabla 1: Clasificación del grado de acidez a basicidad de acuerdo con el potencial de hidrógeno, en relación 1:1, tomado de (IGAC & Estadística, 2000)

pH			Calificación del rango
Menor que		4.5	Extremadamente ácido
4.6	a	5.0	Muy fuertemente ácido
5.1	a	5.5	Fuertemente ácido
5.6	a	6.0	Medianamente ácido
6.1	a	6.5	Ligeramente ácido
6.6	a	7.3	Neutro
7.4	a	7.8	Ligeramente alcalino
7.9	a	8.4	Medianamente alcalino
8.5	a	9.0	Fuertemente alcalino
Mayor que		9.0	Extremadamente alcalino

Gracias al trabajo de Blaya & Garcia en el (2003), en los efectos del pH sobre otros iones, mostrando diferentes impactos del pH en el suelo como lo son:

- La solubilidad de sales de amonio y nítricas son altas en cualquier rango del pH.

- A un pH inferior a 6.5, la disponibilidad del fósforo disminuye por su precipitación, provocado por el hierro y aluminio más solubilizados.

- La solubilidad del potasio K es elevada cuando el suelo presenta pH alto.

- El calcio y magnesio tienen una mejor asimilación en pH altos, debido a que la acidez provoca su precipitación. Aunque el Magnesio es altamente disponible a pH inferior a 5 (Blaya & García, 2003)

- En cuanto a los microorganismos, el pH adecuado es medio o elevado, se reduce con valores menores de 5.5, debido a que la nitrificación y fijación de nitrógeno se dá con valores superiores a 5. Aunque hay que tener en cuenta que bacterias que reducen azufre y algunos hongos son facultativos. De ahí que puedan sobrevivir en deferentes pH, bien sea de una elevada acidez o un valor neutral (IGAC & Estadística, 2000).

- **Saturación de las bases intercambiables:** El contenido de bases en el suelo se debe a los metales alcalinos y alcalinotérreos adheridos a las arcillas y a la materia orgánica. En tal sentido, la saturación disminuye a medida del grado de lavado, siendo una medida de separación del suelo.

- **Carbón orgánico:** Los restos orgánicos del suelo son descompuestos por actividad biológica, ya que se realiza el proceso de mineralización y biodegradación liberándose elementos minerales y gaseosos que contribuyen a la nutrición del suelo.

- **Fósforo disponible:** Según experimentos, el rendimiento de cultivos depende de un nivel alto de fertilidad, eso quiere decir que 16 elementos esenciales para el crecimiento vegetal, deben estar en cantidades necesarias para el ciclo de cultivo (Bobadilla & Rincón, 2008). El fósforo es esencial para el crecimiento, por ser un componente fundamental de muchas estructuras como el ADN además de metabolismos como la fotosíntesis de las plantas. Cuando la acidez cambia a pH muy bajos el fósforo es fijado por compuestos de hierro y aluminio, mientras que en los suelos que son más alcalinos el proceso de fijación lo realiza el carbonato de calcio. Por otra parte, el fosforo disponible en el suelo para ser absorbido por las plantas es llamado ortofosfato (Gómez, 2004), siendo así la única forma en la cual puede ser beneficioso en el suelo.

- **Potasio disponible:** Junto con el nitrógeno, es absorbido en grandes cantidades por las plantas en su metabolismo, por ende la disminución de éste afecta el desarrollo de las plantas. Según el material parental y el grado de evolución, la cantidad de potasio va a variar, por ejemplo, los suelos provenientes de rocas máficas tienen baja cantidad de potasio (Conti, 2002; Mengel, 1994). Además cumple una importante función en la activación de enzimas de procesos metabólicos como síntesis de proteínas, carbohidratos y fotosíntesis, adicionándole el balance de agua y crecimiento meristemático (Conti, 2002).

- **Carbonato de calcio:** Éste promueve la basicidad de los suelos, encontrándose en regiones áridas, semiáridas o subhúmedas, que se desarrollaron a partir de rocas calcáreas. Las funciones en el suelo, comprende en forma de sales inorgánicas y ácidos orgánicos, además del intercambio catiónico (Monge, Val, Sanz, Blanco, & Montañes, 1994).

- **Magnesio:** Es un nutriente absorbido por la planta en forma de Mn^{+2} ya sea por la raíz o por las hojas directamente (Blaya & García, 2003), sumado a la vital importancia para las plantas, de ahí que su principal función es como compuesto de la fotosíntesis (RedAgricolas, 2013).

- **Sodio:** Como nutriente, presenta una gran toxicidad en el suelo a grandes cantidades, por lo tanto provoca deficiencias de otros iones como potasio, calcio y magnesio, además de la dispersión de partículas y con ello el desmoronamiento de la estructura del suelo (Filho, Guerra, & Gheyi, 2003).

Otro de los principales iones que son esenciales en el suelo es el nitrógeno, el cual se produce por la fijación desde la atmosfera (Blaya & García, 2003) o por degradación de materia orgánica en el suelo la cual se manifiesta por los protoplasmas celulares que se obtienen de los hongos y bacterias muertos. Esta nitrificación en relación con los organismos degradadores en el suelo, presenta fluctuaciones dependiendo de la cantidad bacteriana o de hongos, esto nos muestra que cuando la

multiplicación es rápida llegando al máximo el nitrógeno decae debido a que es utilizado en la síntesis de los organismos (Blaya & García, 2003).

El equilibrio entre carbono y nitrógeno varía según la suplementación de algún nutriente, por ejemplo si se aumenta el carbono el nitrógeno tiende a desaparecer mientras que si tiende a reducir el carbono el nitrógeno tiende a aumentar (Sanz, Heras, & Montañés, 1975).

6.4.2 Textura del suelo

La porosidad del suelo es de vital importancia para entender la retención de agua y nutrientes, por ello el sistema de clasificación del suelo según su textura o porosidad es la siguiente:

- **Arcilla:** Comprende la parte coloidal del suelo con un diámetro de la partícula de 0.002 mm, es la fase más activa que participa en el intercambio catiónico al presentar una elevada retención de agua y nutrientes (Villarroel, 1988).

- **Limo:** Presenta un diámetro de la partícula entre 0.05 mm a 2.0 mm, haciendo que tenga una participación muy limitada en la actividad química, debido a que presenta problemas físicos por sus pequeñas partículas, pero cuando está estable presenta una gran fertilidad (Villarroel, 1988).

- **Arena:** Es la parte inerte del suelo debido a su tamaño de partícula con un 0.05mm a 2.0 mm, haciendo que presente una alta permeabilidad de agua, por ello su retención de agua y nutrientes es casi nula, en consecuencia su función es únicamente mecánica como armazón interno del suelo (Villarroel, 1988).

6.5. PROPIEDADES BIOLÓGICAS DEL SUELO

Una de las características importantes para un suelo sano es la diversidad de microorganismos como bacterias y levaduras, además de otras especies que no están dentro de los grupos principales de los microorganismos eficaces, pero se encuentran en abundancia y ayudan a la restauración de nutrientes en el suelo. Para un mayor entendimiento de los procesos que realizan los microorganismos a continuación se presentan una lista de microorganismos que puden estar presente en el suelo y sus funciones:

1. ***Streptomyces s.p.:*** es una actinobacteria (Madigan, Martinko, Dunlap, & Clark, 2008), que se encuentra en una proporción de 64% de las bacterias encontradas en el suelo, es de vital importancia ya que estas descomponen celulosa y quitina para la formación de humus (Battistuzzi & Hedges, 2009).
2. ***Ochrobactrum tritici***: Pertenece al orden Rhizobiales (Holmes, Popoff, Kiredjian, & Kersters, 1988), debido a que presentan rizobios que fijan nitrógeno y realizan simbiosis con las raíces de las plantas (Gage, 2004), aumentando la cantidad de nitrógeno. Este género fue aislado en el 2000 de las raíces de trigo (Lebuhn *et al*., 2000)
3. ***Micromonospora sp*****:** Es una bacteria generalmente aeróbica y forman micelios ramificados y esporas que contribuyen a la descomposición de la materia orgánica, por lo que su nutrición se basa en residuos de otros organismos, siendo llamados sapotróficos (Leake, 2005).
4. ***Penicillium janthinellum*****:** El género ***Penicillium*** es uno de los responsables de degradar fosforo en el suelo por su producción de fosfatasa, enzima que produce el ortofosfato, el cual es ion que utiliza las plantas en sus procesos metabólicos (Gómez, 2004).

5. ***Cladosporium sphaerospermum:*** Es un hongo que prospera en zonas de alta salinidad (Tasic & Tasic, 2007), al igual que en las emisiones de gases industriales. Puesto que pueden degradar hidrocarburos aromáticos, cetonas y algunos ácidos orgánicos (Gottlieb, 1963), y con ello la capacidad de producir giberelinas, que son hormonas del crecimiento de plantas esenciales para el crecimiento y desarrollo de estas (Brian, 1959).
6. ***Achromobacter denitrificans*:** Es una bacteria Gram-negativa, que es estrictamente aeróbica aislada del suelo y puede ser infecciosa en humanos a nivel del tracto urinario, especialmente en los riñones (Koneman & Allen, 2008; Sgrelli *et al.*, 2012). Es una asacarolitica, lo cual significa que no sintetizan los hidratos de carbono (Maestre, 2002).
7. ***Doratomyces microsporus***: *Doratomyces* es un género que por lo general se encuentran en asociación con la madera muerta, plantas en descomposición, y en el suelo o estiércol (Webster & Weber, 2007). Por otro lado estudios recientes han descubierto que una enzima producida por esta especie es capaz de hidrolizar diferentes materias compuestos de queratinas, así como algunas proteínas que no presentan queratina (Gradišar, Kern, & Friedrich, 2000).
8. ***Lactobacillus pentosus:*** El género *Lactobacillus* presenta una gran variedad de beneficios al suelo por su ayuda en la descomposición de materia orgánica, permitiendo a las plantas absorber los nutrimentos, como el calcio, el fósforo y el potasio, además ayudan eliminando malos olores y enfermedades por hongos (Quiróz, Albertin, & Blázquez, 2004).
9. ***Bacillus weihenstephanensis:*** Es una bacteria gram-positiva (Holmes *et al*., 1988), que produce hemolisis completa o beta-hemolisis en animales (Ryan & Sherris, 1994), además se ha descubierto que produce celuloide (Thorsen *et al*., 2006).
10. ***Paenibacillus tarimensis***: Este género se caracteriza por una gran importancia en el área de agricultura y horticultura debido a que produce varias enzimas extracelulares como proteasas que degradan polisacáridos (Girardin, Albagnac, Dargaignaratz, & Carlin, 2002). Esta especie fue determinada y aislada en los suelos de China (Wang *et al.*, 2008).
11. ***Mucor plumbeus*:** Es una hongo que se encuentra en un rango variado de pH y principalmente en los suelos Alcalinos (Domsch, Gams, & Anderson, 1980). En cuanto a su metabolismo es un agente de deterioro común de queso, manzanas, sidra de manzana y yogur (Pitt, Hocking, & Diane, 2009).

7. METODOLOGÍA

7.1 Fase de Campo

La presente investigación se desarrolló en el Parque Forestal embalse del Neusa, ubicado en Colombia, departamento de Cundinamarca, entre Tausa y Cogua a solo 25 km de Zipaquirá y a 65 km de Bogotá con coordenadas de 5° 03´ norte, 73° 58´ oeste a 3.100 metros sobre el nivel del mar. Se realizó el reconocimiento de la zona, identificando los sectores donde se iban a extraer las muestras de suelo. En consecuencia se estableció el sector de Laureles como el lugar propicio para extraer las muestras de suelo. El punto exacto de la extracción de la muestra fue a 3,5 km de la entrada principal del parque hacia la derecha y 3 metros adentro de la carretera en un bosque de Pino y Eucalipto.

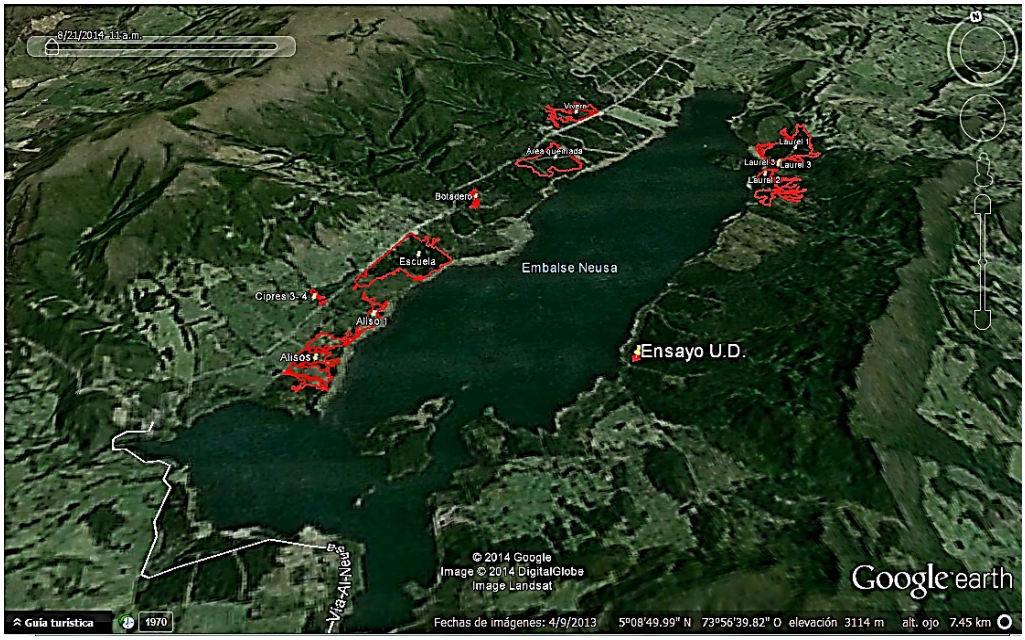


Figura 1: Ubicación del sitio de muestreo, en donde dice Ensayo U.D. (Google, 2014)

7.1.1 Extracción de muestras de suelo: El muestreo del suelo se realizó en el horizonte A, sección del suelo que presenta los microorganismos de interés en la zona de Laureles en el Embalse del Neusa (Salguero *et al.*, 1975). En el área de muestreo se escogió 4 zonas al azar y allí se denudo la superficie del suelo, retirando material vegetal, restos de animales y cualquier tipo de residuo que haya interferido con la muestra (Figura 2). Cada área de muestreo de suelo tuvo 20 cm^2 con una distancia de 5 metros entre cada una. Con una pala de jardinería se extrajo 25Kg de suelo a una profundidad de 20 cm.

Posteriormente se colocó 1.500 gr de suelo en 16 bolsas de color negro, con aperturas en la parte basal, para permitir procesos de escorrentía y se les realizó los diferentes tratamientos con la tecnología E.M.



Figura 2: Suelo denudado para la toma de muestras

7.1.2 Elaboración del compost

Uno de los métodos para la inoculación de E.M. al suelo es la utilización de compost. Lo anterior es de gran importancia en la alimentación de bacterias y hongos debido al sustrato que se le suministra al suelo cuando presentan bajos nutrientes por el impacto de especies exóticas como los que encontramos en el embalse de Neusa en el sector de Laureles y así restaurar los nutrientes del suelo (Teruo & Parr, 1994). Este compost se realizó con Gallinaza, papa, cascarilla de arroz, cerdaza y aserrín, que son los más productivos para el suministro de nutrientes. La cantidad a mezclar de cada compuesto fue 97 gr (Kittler, Kayser, & Stoneking, 2003). Las mezclas de cada uno de los productos que se utilizó fueron:

- Gallinaza, papa, aserrín.
- Gallinaza, papa, cascarilla de arroz.
- Cerdaza, papa, aserrín.
- Cerdaza, papa, cascarilla de arroz.

7.1.3 Inoculación del compost con 25%, 50% y 75% de la tecnología E.M. y mezcla con el suelo.

Para evaluar la eficiencia en la degradación de la materia orgánica por parte de los microorganismos eficientes, se realizó la inoculación de estos microorganismos al compost de cada una de las muestras propuestas anteriormente (Kameko, 2003). Se agregó 0,1 ml de E.M. con 3 diferentes tipos de concentración de E.M. las cuales fueron 25% 50% y 75%, de las cuales el 100% presentaba una concentración de $3{,}52 \times 10^6\ UFC/ml$. Posterior a la inoculación, se dejó que estos microorganismos actuaran, fijaran y aumentaran en cantidad durante un mes, en recipientes de icopor con orificios en la parte basal para las escorrentías y en un lugar poco iluminado, agregándole cada semana agua para mantener a humedad. Teniendo los siguientes mezclas:

Tabla 2: Tipo mezcla de compost y E.M. para la inoculación bacteriana.

Porcentaje de inoculación del E.M.	**Tipo de Compost**
25%, 50% y 75%	Gallinaza, papa y cascarilla de arroz.
	Gallinaza, papa y aserrín.
	Cerdaza, papa y cascarilla de arroz.
	Cerdaza, papa y aserrín.
Control	1250 g. de suelo

Después de inocular el compost con los E.M., se mezcló 300 gr de compost inoculado con 500gr de suelo tomado de los 1500 gr pertenecientes al suelo de cada una de las bolsas que se mencionó en el literal 7.1.1., finalmente se colocó en las bolsas que contienen el resto de la muestra de suelo.

7.1.4 Inoculación directa al suelo con concentraciones de 25%, 50% y 75% de E.M.

Se inoculó la muestra de suelo mediante la aspersión de 0,1 ml de E.M (Vásquez, 2004). Resaltando que los porcentajes tenían un 100% de la solución bacteriana con una concentración $3{,}52 \times 10^6\ UFC/ml$, obteniendo las siguientes mezclas (Tabla 4):

Tabla 3: Mezcla del porcentaje de inoculación de E.M. directa en el suelo.

Suelo	Porcentaje de inoculación
1250 g	25%
	50%
	75%
	Control

Sumando las mezclas de la tabla 3 y 4, se realizaron 16 muestras en total y se colocaron en la zona de Laureles, para que el experimento se desarrollara en las mismas condiciones en las que se extrajo las muestras de suelo.

Estaos tratamientos fueron enumeradas de la siguiente forma:

1. Gallinaza, papa y aserrín (25% E.M.)
2. Gallinaza, papa y cascarilla de arroz (50% E.M.)
3. Gallinaza, papa y cascarilla de arroz (75% E.M.)
4. Gallinaza, papa y cascarilla de arroz (25% E.M.)
5. Gallinaza, papa y aserrín (50% E.M.)
6. Gallinaza, papa y aserrín (75% E.M.)
7. Cerdaza, papa y cascarilla de arroz (25% E.M.)
8. Cerdaza, papa y cascarilla de arroz (50% E.M.)
9. Cerdaza, papa y cascarilla de arroz (75% E.M.)
10. Cerdaza, papa y aserrín (25% E.M.)
11. Cerdaza, papa y aserrín (50% E.M.)
12. Cerdaza, papa y aserrín (75% E.M.)
13. 1250 gr de suelo (25% E.M.)
14. 1250 gr de suelo (50% E.M.)
15. 1250 gr de suelo (75% E.M.)
16. Control: 1250 gr de suelo

Finalizando la fase de campo se empezó la fase de laboratorio, la cual correspondió en los análisis físico-químicos y bacterianos.

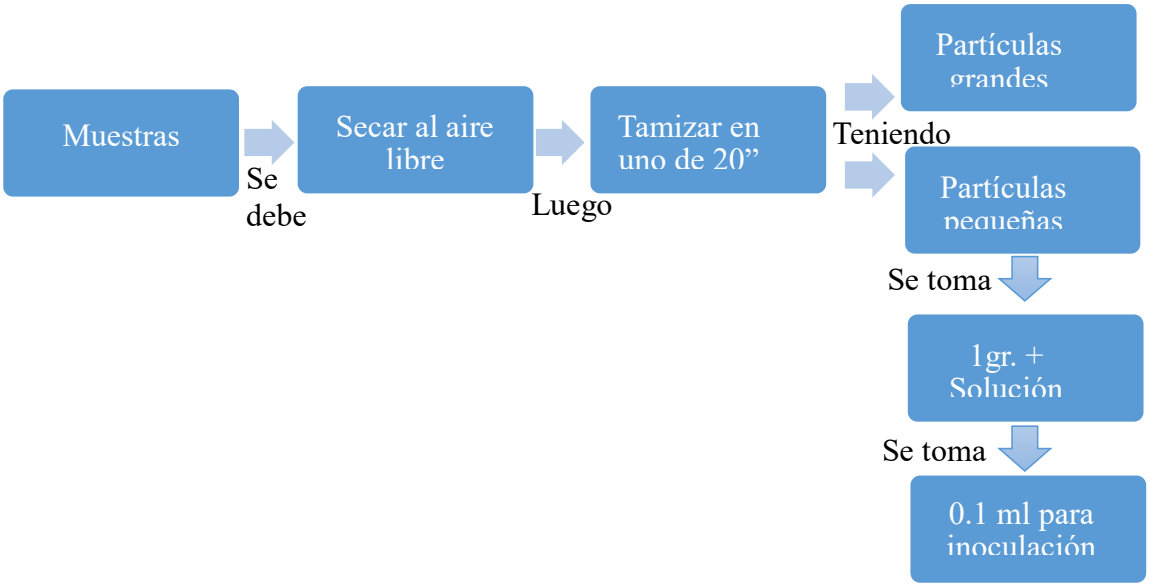
7.2 Etapas de Laboratorio

Esta fase se realizó en la Universidad Distrital Francisco José de Caldas en la Carrera 4 No. 26B – 54 en Bogotá D.C., este estudio se desarrolló en 2 etapas (microbiológica y físico-química), antes y luego de la aplicación de los E.M. en las muestras de suelo. De la siguiente manera:



7.2.1 Homogenización de las muestras de suelo y obtención de sus microorganismos:

Las muestras colectadas se secaron al aire libre, fueron tamizadas con un tamiz de 20 orificios por pulgada, donde se seleccionaron las partículas más pequeñas, de estas se tomó 1g que fue mesclado con 99 ml de una solución isotónica estéril (9g por litro). Con esta extracción se inoculó en cada medio de cultivo semi-especifico una cantidad de 0.1 ml para colocarlas en el centro de la superficie del medio para bacterias totales, levaduras, fotosintéticas y ácido lácticas e iniciar el proceso de crecimiento, cada una de las muestras se hizo por duplicado (Benavides, Quintero, & Ostos, 2006). Además se adecuo todos los medios según las especificaciones atmosféricas (CO2 o O2) y de temperatura (Linares, 2006). Este proceso se muestra de una manera resumida en el siguiente diagrama:



7.2.2 Bacterias totales por dilución en placa: El procedimiento se desarrolló según el "Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados" (2006). Se preparó el medio de cultivo nutritivo esterilizado en una autoclave a 15 lb de presión y 121°C durante 15 minutos. El medio se vertió en cajas de Petri de 60 x 15mm. Separando la muestra de suelo y diluciones mencionadas en el punto anterior. Después de 8 días de incubación a 37°C se procedió al conteo de colonias con cálculo de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) (Linares, 2006).

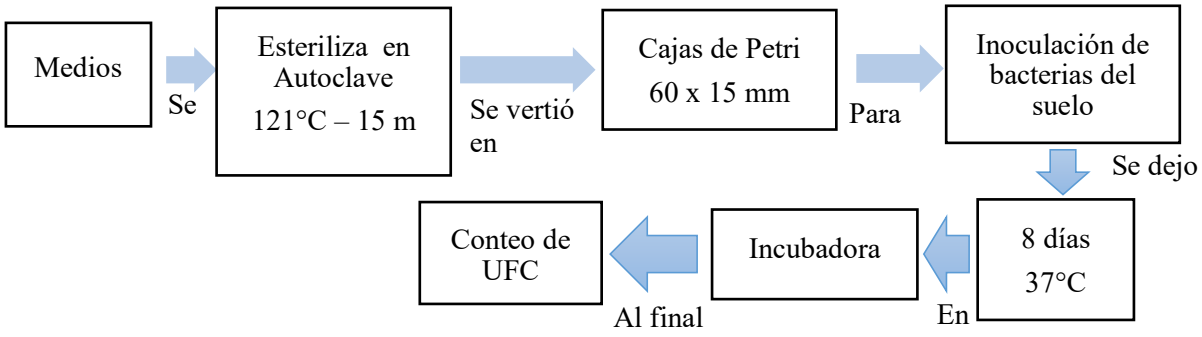
Para el cálculo de UFC que se calculó en cada cultivo (Linares, 2006): se utilizó solo las cajas de Petri medianas pudieran contener de 30 a 300 colonias. Con la siguiente ecuación:

$$UFC/g\ s.s. = \frac{NC\ \times\ 1/FD\ \times 1/V}{P \times FH}$$

Donde:
UFC/ g s.s. = Unidades Formadoras de Colonias / g de suelo seco.
NC= Número de colonias en una caja.

FD= Factor de dilución que corresponda a la dilución de donde se tomó la muestra con la que se inocula la caja (1:10).
V= Volumen inoculado en la caja = 0.1 ml.
P= Peso de la muestra húmeda= 1g.
FH= Factor de correlación de humedad (1-(%humedad/100)).

Para una mejor visualización de este procedimiento se puede observar el siguiente diagrama:



7.2.3 Cultivos específicos para bacterias fotosintéticas (*Rhodopseudomonas spp*): Se utilizó el medio de cultivo Agar de Czapek-Dox (BIOCEN, 2012), donde se hizo la siembra con una alícuota de 100µL; posteriormente se hizo un frotis en forma de estría, se desarrollaron por duplicado la siembra (Benavides *et al.*, 2006) y con las 2 disoluciones en serie 1:10 para asegurar la cuenta (Linares, 2006). Se incubó a temperatura ambiente de 36°C con un ciclo de luz/obscuridad (16/8 horas) durante 8 días utilizando lámparas de luz incandescente (2,200 lux) en una atmosfera de CO_2 al 5% (Cardona, Hernández, & Poillon, 2011).

7.2.4 Cultivos específicos para Bacterias acido lácticas (*Lactobacillus spp*): Con el medio de cultivo ATTC (Suárez, 2007). En el cual se hizo la siembra con una alícuota de 100µL, con un frotis en forma de estría. Se desarrolló por duplicado la siembra (Benavides *et al.*, 2006), y con las 3 disoluciones en serie 1:10 para asegurar la cuenta. Se incubó las placas a 30°C de 3 a 7 días en atmósfera de O_2 (Linares, 2006).

7.2.5 Cultivos específicos para levaduras (*Saccharomyces spp*): Con medio de cultivo TSB se hizo la siembra con una alícuota de 100µL, con un frotis en forma de estría. Se desarrollaron por duplicado la siembra (Benavides *et al.*, 2006), y con las 3 disoluciones en serie 1:10 para asegurar la cuenta. Se incubaron las placas a 30°C de 3 a 7 días en una atmósfera de O2 (Linares, 2006).

7.2.6 Identificación bacteriana: Para la identificación de los microorganismos se realizó en el IGAC (Instituto Geográfico Agustín Codazzi), en donde el aislamiento se hizo a partir de los cultivos ejecutados en los índices anteriores, en medios de enriquecimiento Plate Count para bacterias, Almidón amoniacal para Actinomicetos y Agar extracto de malta para hongos; consecutivamente se llevó para la identificación por el método de fingerprinting metabólico con el Sistema Gen III de Biolog. Otras identificaciones estuvieron apoyadas por claves taxonómicas y pruebas bioquímicas específicas de este laboratorio (Raigosa, 2015).

En el siguiente diagrama de flujo podemos observar el proceso para cada microorganismo:



7.3 Análisis fisicoquímico del suelo del Embalse de Neusa zona Laureles, antes y después de la inoculación de E.M.

Para la determinación y caracterización físico-química del suelo, la cual realizó en el transcurso de 3 meses, además se desarrolló en 3 diferentes sitios según el elemento a analizar. Es decir que:
Para el reconocimiento de pH, por el método de suspensión en agua, al igual que el carbono (C) y nitratos (NO^{-3}) los cuales se analizaron por medio de un Analizador Elemental Chns-O Thermo, en la Universidad Distrital.
Las concentraciones de los iones calcio (Ca), magnesio (Mg), potasio (K,) sodio (Na), fósforo se realizaron en la Universidad Nacional por el método de absorción atómica en un Espectrómetro de Masas Agilent 5975C.
Además de estos iones, se identificó el nivel de arcilla, limo y arena de las muestras por medio de tamizados en serie (Blaya & García, 2003).

7.4 Método de análisis de datos

Los datos fueron analizados a través de un análisis de varianza (ANOVA), debido a que este procedimiento provee una estimación interna e intermediarte de los datos, añadiendo que al utilizarlo con la prueba de Fisher nos provee una base sólida para medias de más de dos poblaciones, revelando si hay diferencia o no entre las medias muéstrales, (Suárez, 2012) en consecuencia se analizó la hipótesis nula:

- Ho: donde menciona que las dos variables son iguales.

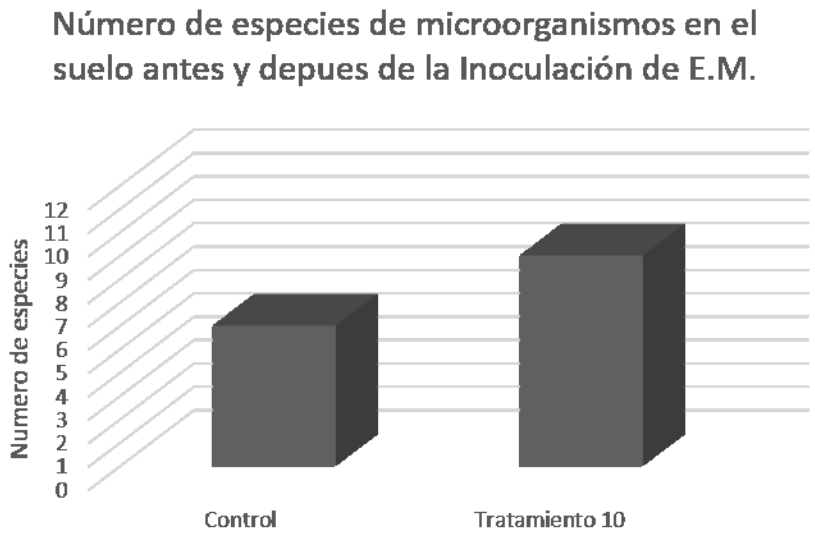
Siendo así, si el número de Fisher es mayor al valor critico se dice que la hipótesis nula se rechaza, conduciendo a observar diferencias entre las dos muestras. Utilizando el nivel de significancia 0,05 para la prueba de Fisher. Si el resultado de la hipótesis se rechazaba, se comprueba cual es el mejor tratameinto, comparando los promedios de cada tramiento.

8. RESULTADOS

8.1. Identificación de microorganismos antes y después de la inoculación

Como resultado se realizó la identificación de las bacterias (según su patrón fenotípico y se reconoció en la base de datos OmniLog® Data Collection) que se encontraron antes y después de la inoculación de E.M. Cabe aclarar que en los resultados encontrados en los posteriores procedimientos (físico-química y conteo bacteriano) dio paso a que se escogiera el tratamiento que presento mejores resultados para la identificación bacteriana y compararlos con el tratamiento control (Gráfica 1).

En esta grafica se puede observar que después de la inoculación de E.M., se pudo identificar la presencia o ausencia de las especies de microorganismos (tabla 4) tanto bacterianos como hongos en la muestra control y tratamiento de E.M. Se encontró que el compost presentó el doble de especies de microorganismos que en el tratamiento de control sin inoculación de E.M.



Grafica 1: Número de especies de microorganismo presentes en las muestras de suelo en el tratamiento 10 y la muestra control.

Las especies de microorganismos y la presencia y ausencia se clasificaron en la tabla 5. En la cual se puede observar que las especies de microorganismos más abundantes fueron las bacterias con 7 especies en total, en comparación con los hongos con 4 especies en total. Sumándole que el número de presencia por cada especie es mucho mayor en el tratamiento 10 con E.M. mezclado en compost.

Se muestran microfotografías del crecimiento de los principales microorganismos encontrados las cuales están en los anexos (Figura 3-17).

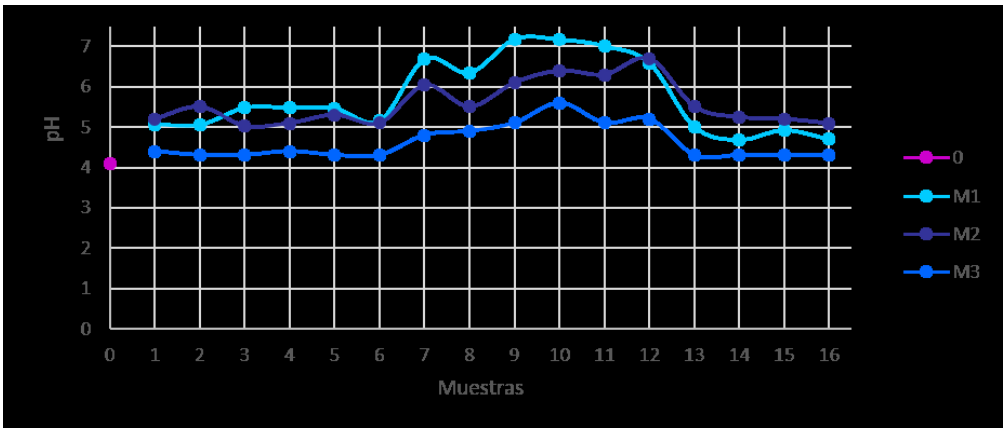
Tabla 4: Presencia y ausencia de las especies de microorganismos en la muestra control y el tratamiento 10.

	Muestra control	Tratamiento 10 E.M. mezclado con compost
Especies bacterianas		
***Streptomycetes* (Figura 3, 6, 14 y 15)**	X	XXX
***Ochrobactrum tritici* (Figura 4)**		XX
***Micromonospora sp* (Figura 5)**	X	XX
***Achromobacter denitrificans* (Figura 9)**		X
***Lactobacillus pentosus* (Figura 11)**	X	X
***Bacillus weihenstephanensis* (Figura12)**		XX
***Paenibacillus tarimensis* (Figura13)**		XX
Especies de hongos		
***Cladosporium sphaerospermum* (Figura 8)**		X
***Doratomyces microsporus* (Figura10)**	X	
***Penicillium janthinellum* (Figura 7)**	X	XX
***Mucor plumbeus* (Figura 16 y 17)**	X	

8.2 Determinación y caracterización físico-química del suelo antes y después de la inoculación de E.M

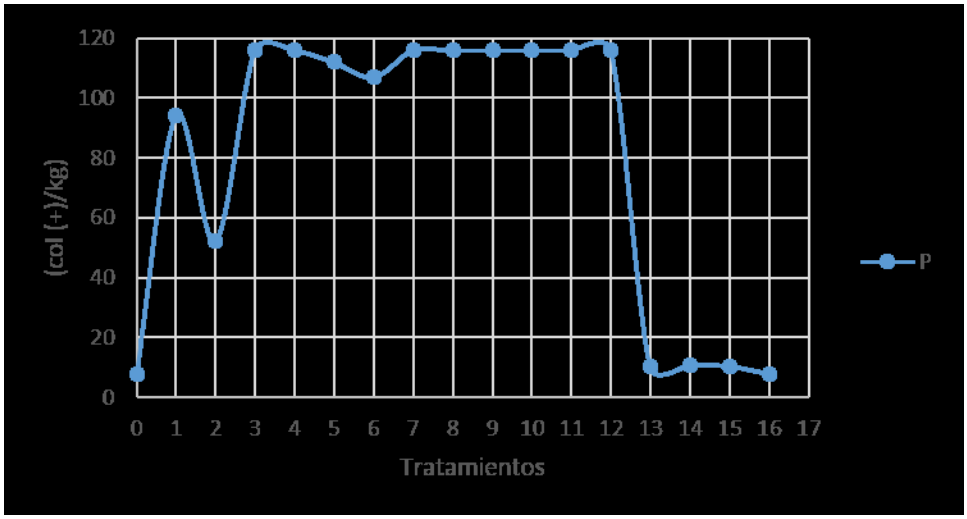
Para la determinación físico-química se realizaron pruebas de iones, textura del suelo y pH. En todos los tratamientos. En los meses 1, 2 y 3. Representados en las figuras 15 – 20.

En la gráfica 2 se puede observar que la muestra 0 o inicial del suelo presentaba un pH de 4, en contraste con los tratamientos realizados se pudo observar un incremento en el segundo y tercer mes, en los tratamientos del 7 al 12.



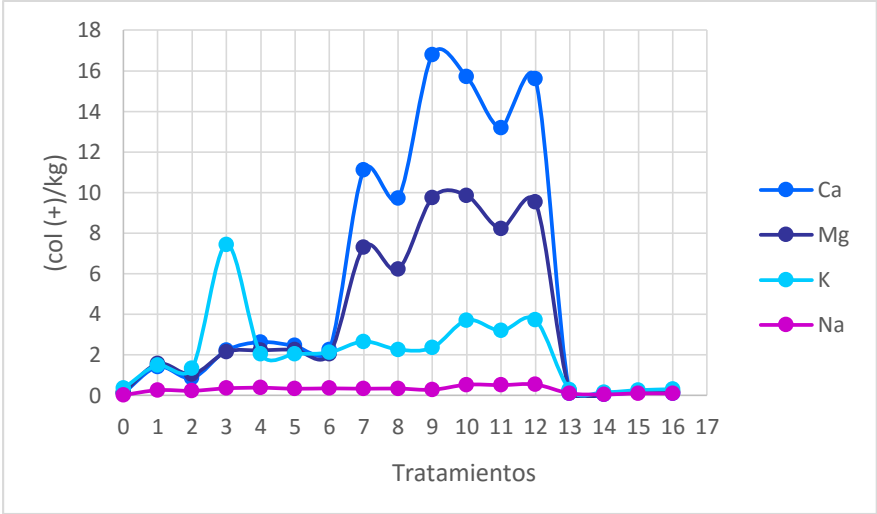
Gráfica 2: Comparativo de pH en la muestra inicial y los tratamientos de suelo en los meses 1, 2 y 3.

En la gráfica 3 se señala una variación de fósforo a lo largo del experimento, donde, en el tratamiento 0 o inicial presentó un valor de 8 col(+)/kg, muy similar a los tratamientos 13, 14 y 15, las cuales presentaban la inoculación directa al suelo. Además, la muestra control (muestra 16), no varía en cantidad, permaneciendo en 8 col(+)/kg. Al mismo tiempo, los tratamientos con mejor valor fueron del 3 al 12 siendo mayor o igual a 116 col(+)/kg.



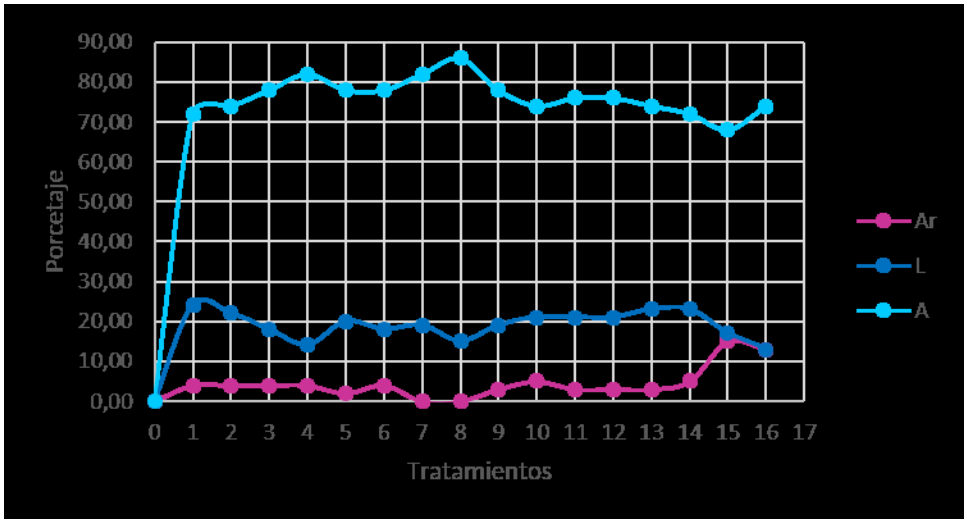
Grafica 3: Comparativo de iones Fósforo (P) en la muestra inicial y los tratamientos del 1 al 16 del mes 3.

En la gráfica No. 4 se observó variación en los iones de magnesio, calcio y potasio, además que en el tratamiento inicial (0) los iones estaban en un rango entre 0 y 0,34 col(+)/kg, al igual que lo tratamientos 13, 14, 15 y la muestra control (16). Al mismo tiempo en los tratamientos del 9 al 12 fueron los que más cambio obtuvieron en iones Ca, Mg y K. Hay que resaltar que el ion sodio no presentó variaciones en ninguno de los tratamientos.



Grafica 4: Comparativo iones Magnesio (Mg), Calcio (Ca), Potasio (K), Sodio (Na).

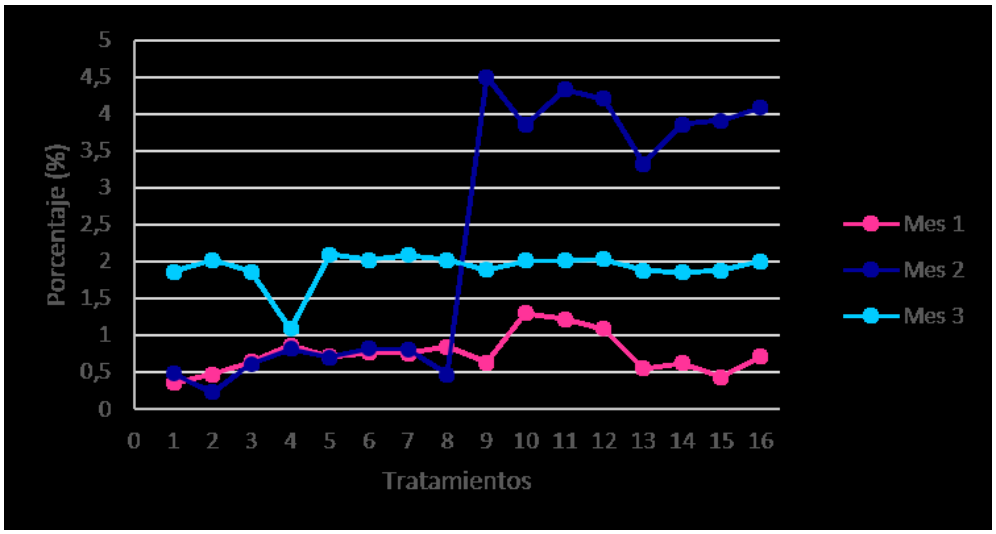
La gráfica donde se compara la textura del suelo, (Grafica 5) se observó que en la muestra 0 o inicial presentó poco porcentaje de cada tipo de partícula de suelo, pero hubo un cambio realmente grande debido a que incrementó exponencialmente la cantidad de arena y uno muy ligero de arcilla y limo.



Gráfica 5: Comparación de la textura del suelo. Porcentaje de Limo (L), Arcilla (Ar) y Arena (A).

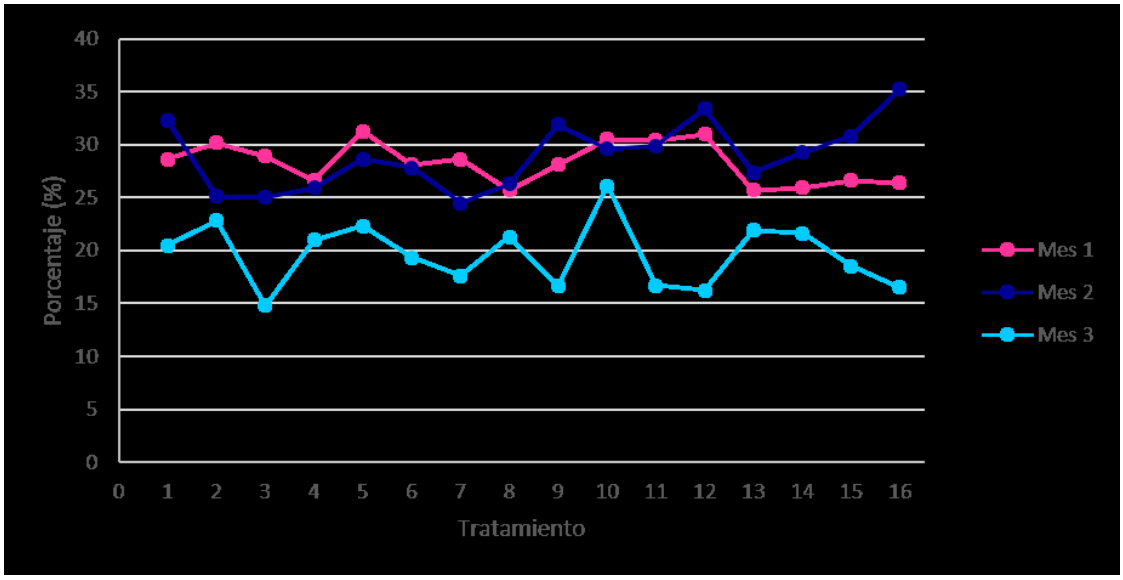
Se analizó la concentración de carbono y nitrógeno total en los tratamientos correspondiente a los meses 1, 2 y 3 (grafica 6 y 7):

En la gráfica número 6 se observó que en el mes 1 presentó un bajo porcentaje de nitrógeno, en el mes 2 hubo un aumento en los tratamientos del 9 al 16 con un rango entre 3 y 4,5 %, mientras que los tratamientos del 1 al 8 los datos fueron similares que en el mes 1, con un rango entre 0,2 y 1%. Además, en el mes 3 se observó una baja de nitrógeno en comparación con el mes 2 con un máximo de 2%, pero en relación con el mes 1 aumento.



Gráfica 6: Comparativo del porcentaje nitrógeno total entre los meses 1, 2 y 3.

En la gráfica 7 se observa que tanto en el mes 1, como en el 2 los rangos del porcentaje de carbono estuvieron muy similares de 25% a un 30%, pero en el mes 3 hubo un descenso considerable en todos los tratamientos llegando hasta un 15%.

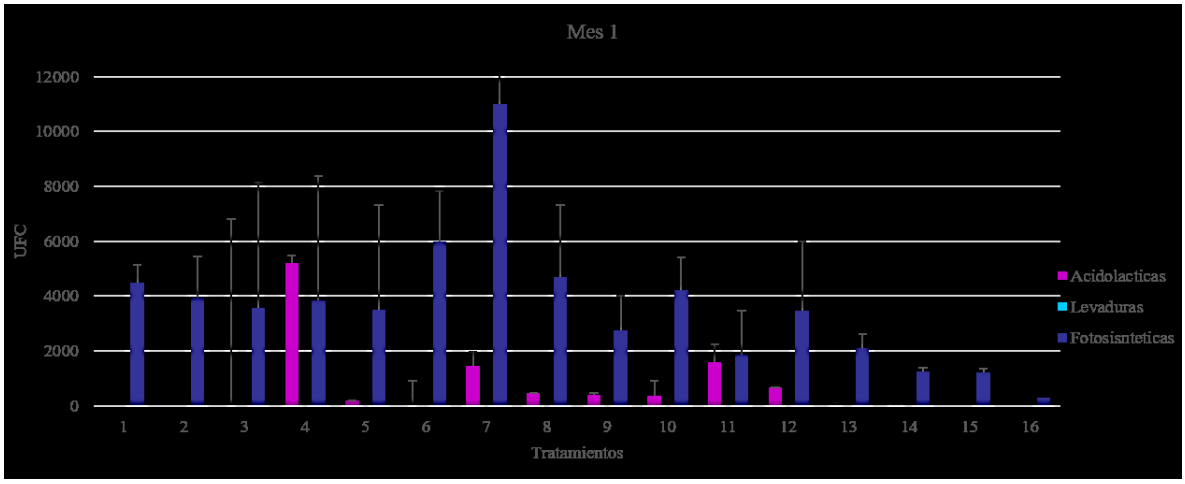


Gráfica 7: Comparación de Carbono total durante la investigación, en los meses 1, 2 y 3.

8.3 Cuantificación de las bacterias por UFC (Unidades Formadoras de Colonias)

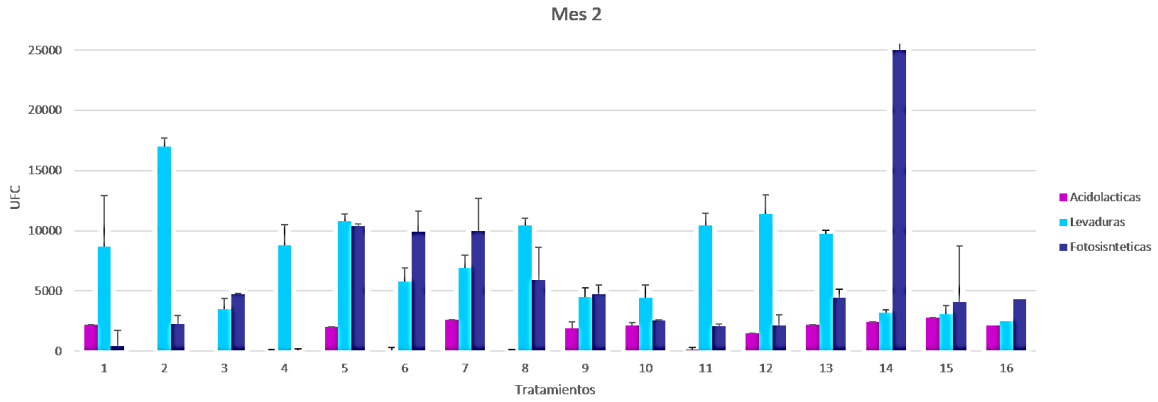
Los resultados obtenidos en la contabilización de las UFC se realizaron mensualmente en cada uno de los tratamientos. Con esto, se observó la persistencia de las bacterias en cada tratamiento según sean fotosintéticas, levaduras o ácido lácticas. En las gráficas 8, 9 y 10 se puede observar el crecimiento de estas.

En la gráfica 8 se observó la cuantificación de las bacterias que se presentó en el mes 1. Las bacterias que más predominaron fueron las fotosintéticas, luego las acido lácticas y no hubo crecimiento de levaduras. Sumado a lo anterior, el tratamiento que más tuvo UFC fue el número 7 y el número 6, por lo contrario las que menos tuvieron fueron el tratamiento control y los tratamientos de inoculación directa al suelo, los cuales fueron 13, 14 y 15.



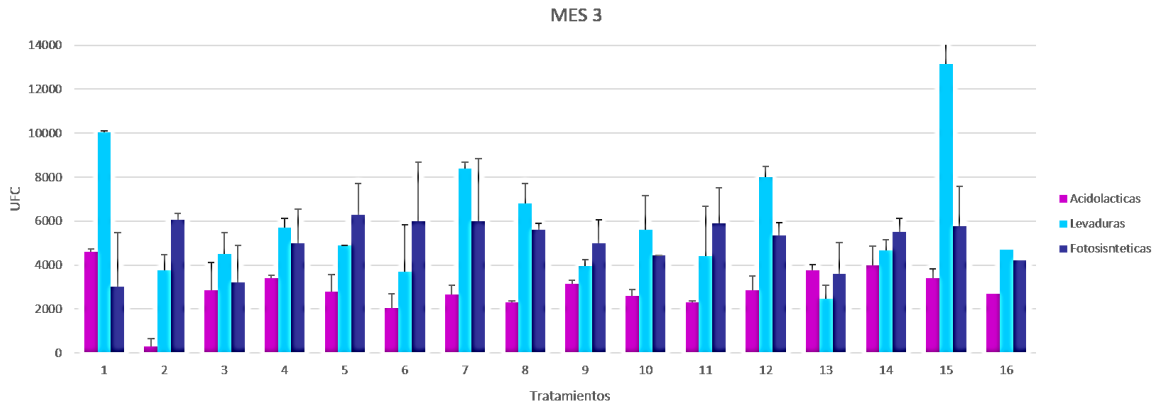
Grafica 8: Conteo de UFC en el mes 1

En la gráfica número 9 se puede observar el conteo de UFC en el mes 2, en la cual se pudo vislumbrar un aumento considerable de bacterias y levaduras. Además de la presencia de bacterias acido lácticas que no había en el mes 1, además del incremento de levaduras y la disminución de las bacterias fotosintéticas. En consecuencia, los tratamientos que presentan un mejor balance bacteriano fueron 7, 9 y 10.



Grafica 9: Conteo de UFC en el mes 2

En la gráfica número 10, se puede observar el conteo de UFC en el mes 3, en la cual hubo un incremento y balance de bacterias en los tres principales grupos de microrganismos. Enfatizando que hubo un mayor conteo de levaduras, seguida de fotosintéticas y por ultimo las acido lácticas. En resumen, los tratamientos que presentaron un equilibrio entre baterías y levaduras fueron los tratamientos 10 y 12.



Grafica 10: Conteo de UFC del mes 3

8.4 Método de análisis de datos

Observando los resultados, el tratamiento 10 y 12 fueron los mejores, gracias a que su conteo bacteriano en toda la investigación fue constante en los grupos bacterianos, además de la similitud en los análisis físico-químicos. Por ello al realizar el análisis de varianza con ayuda del valor estadístico Fisher, en la tabla de análisis químico, se obtuvo que (Tabla 5), la media fue de 3829.17, varianza de 9187373.9 para el tratamiento diez, y una media de 3829.17 y varianza 10420416.7 en el tratamiento 12. Con un valor F: 0,88 y valor critico como 0,49.

Tabla 5: Resultados del análisis de varianza de los tratamientos 10 y 12

	Trataiento 10	*Trtamiento 12*
Media	3829,16	3829,16
Promedio	3927,77	2927,77
Observaciones	24	24
Grados de libertad	23	23
F	0,88	
P(F<=f) una cola	0,38	
Valor crítico para F (una cola)	0,49	

9. ANALISIS DE RESULTADOS

9.1 Identificación de microorganismos antes y después de la inoculación

En la gráfica No. 1 se observa el número de microorganismos identificados hasta especie, tanto de hongos como de bacterias. Esa diferencia entre número de especies, es debido a que el suelo en la muestra control presenta un pH demasiado acido de 4.2 (gráfica 2), lo cual dificulta el crecimiento bacteriano, hongos y aún más su diversidad, sumándole la dificultad de las plantas en absorber los nutrientes en el suelo (Manrique, 2004).

Una de las razones para que estos tratamientos tuvieran un mayor número de microorganismos es debido a que el compost y los efectos químicos del metabolismo de las bacterias mejoraron las condiciones del suelo haciendo que se propaguen y crezcan diferentes tipos de bacterias (Sivila de Cary & Angulo, 2006).

Lo anterior lo podemos observar en las diferentes especies que se identificaron, las cuales no pertenecen al grupo de los microorganismos eficaces pero son de vital importancia en la descomposición de materia prima del suelo y así mejorar el aspecto físico-químico del suelo (Higa, James, & Peña, 2013). Las cuales realizan diversas actividades como:

- ***Mucor plumbeus:*** Este microorganismo es de gran importancia ya que gracias a su resistencia a cambios de pH puede estar presente desde el inicio de la restauración y fijarse al suelo en la finalización de esta.
- ***Paenibacillus tarimensis***: Pero como demostró este documento se pude encontrar en suelos que presentan los suministros necesarios para su supervivencia haciendo del proceso de restauración más rápido y eficaz.
- ***Bacillus weihenstephanensis:*** Aunque su beneficio no es mucho en cuanto al mejoramiento del suelo, los metabolitos que produce puede servir como sustrato a otro microorganismo que pueda degradar el celuloide y poder colocar iones disponibles para las plantas.
- ***Lactobacillus pentosus:*** Esto se pudo demostrar en las gráficas 3, 4, 6 y 7 donde se demostró el aumento considerable en los iones esenciales en un suelo fértil.
- ***Doratomyces microsporus***: Este microorganismo, pudo estar presente en el suelo inicial o pudo ser fijado gracias al el estiércol de cerdo y gallina que se utilizó en el compost, ayudando así a una mejor descomposición de los productos orgánicos que fueron suministrados en cada tratamiento.
- ***Achromobacter denitrificans:*** Esto demostró que algunos de los microorganismo presentes en el suelo no influyen en forma significativa en su restauración.
- ***Cladosporium sphaerospermum:*** Al encontrar este tipo de microorganismos en los tratamientos, se evidenció que este suelo erosionado puede albergar ciertos microorganismos que ayudaron a restaurar el suelo degradando productos químicos de actividades antrópicas.
- ***Penicillium janthinellum:*** Fortaleciendo uno de los principales nutrientes que se analizan para identificar suelos fértiles, esto se evidenció en la gráfica 3 donde la concentración de fosforo aumento de los tratamientos 3 al 12.
- ***Micromonospora sp*:** Este tipo de microorganismo ayudó a la descomposición de la materia orgánica que se le agrego al compost y nutriendo a los tratamientos con que se trabajó, por esto aumentó los nutrientes del suelo.

- ***Ochrobactrum tritici***: es esencial para un suelo sano, como se muestra en la gráfica 6 donde al final de la fase de campo se mostrò que hubo un aumento y fijación del nitrógeno en el suelo.
- ***Streptomyces s.p.:*** Por lo tanto mejora la calidad del suelo como se pudo evidenciar en las gráficas (3, 4, 6 y 7) físico-químicas.

9.2 Determinación y caracterización físico-química del suelo antes y después de la inoculación de E.M

Uno de los componentes principales que caracterizan la disponibilidad de diferentes iones en el suelo es el pH, debido a que la solubilidad, precipitación y absorción de las plantas de los iones dependen de este (Blaya & García, 2003). En concordancia, en la gráfica 2 se observó que la muestra 0 o inicial presenta un pH de 4, por ende este suelo pudo tener poca disponibilidad de fósforo y calcio, pero suficientes para un suelo fértil.

Con relación a la disponibilidad de los iones, comenzaremos con el fósforo que está representado en la gráfica 3, según estos resultados los niveles incrementaron exponencialmente, además los valores bajos de la muestra inicial, el control y los tratamiento 13, 14, 15 es debido a que el fósforo se precipita con pH menores de 6,5 (grafica 2), al mismo tiempo los otros tratamientos presentan una aumento en la cantidad de este elemento permitiendo catalogarlos como suelos fértiles para el buen desarrollo de las plantas debido a que pertenece a los 17 nutrientes esenciales para el crecimiento encontrados en el suelo (Bobadilla & Rincón, 2008).

En cuanto a los otros iones como le calcio (Ca), Magnesio (Mg) y Sodio (Na), los cuales están representados en la gráfica 4, los bajos niveles se pudieron deber a que las bacterias que se inocularon a los tratamientos 13, 14 y 15 no tenían la materia prima para sus procesos metabólicos y por ende la producción de nutrientes fue muy escasa. Al mismo tiempo se incrementaron las concentraciones de los otros iones en los demás tratamientos, esto es debido a que las bacterias al tener un sustrato del cual se alimenten producen más nutrientes, los cuales fomentan el proceso de restauración del suelo. Por ejemplo, el calcio aporta un mejor intercambio catiónico en el suelo (Monge *et al.*, 1994), el magnesio contribuye a la fotosíntesis de las plantas (RedAgricolas, 2013), y el potasio interviene en la síntesis de proteínas (Conti, 2002), entre otras funciones.

Como menciona Filho *et al.,* (2003), el sodio en grandes cantidades no deja que otros iones tengan efectividad en el suelo, afortunadamente el sodio en nuestros tratamientos fue muy escaso (grafica 4), como consecuencia hubo una aumento considerable de los otros iones.

Para profundizar en la importancia del magnesio, este presentó una cantidad moderada a comparación del calcio, pero aún así, demuestra que hay un nivel bueno para el proceso de fotosíntesis en las plantas (RedAgricolas, 2013). Sin embargo si analizamos el potasio, es uno de los que están aún más bajos que el magnesio, esto es debido a que cumple un rol en la activación de enzimas metabólicas (Conti, 2002), estas son usadas por las bacterias para la obtención de alimento, por ello es posible que haya una disminución considerable de este micronutriente.

Para el análisis físico-químico del suelo es de vital importancia evaluar su textura, ya que a partir de este se puede analizar la retención de agua y nutrientes (grafica 5). En concordancia, el gran cambio de la textura en el experimento demuestra que la actividad microbiana es de gran efectividad. La arena estaba en grandes cantidades, dando una alta permeabilidad (Villarroel, 1988), estos tratamientos pueden tener una gran lixiviación de los nutrientes gracias a esta característica, mismo así se pudo

observar en las gráficas 3 y 4 que hay un buen nivel de minerales en este. Sumándole, que la cantidad de limo y arcilla presente, puede compensar el nivel de arena y con ello presentar una mejor retención de nutrientes (Villarroel, 1988).

Por otra parte, muchos de los investigadores de las propiedades de suelo mencionan que la relación de nitrógeno y carbono son de vital importancia para considerarlo como un suelo fértil (Blaya & García, 2003; Mckean, 1993; Sanz *et al.*, 1975). Por esta razón, en la gráficas 6 y 7 se mostró el comparativo del nitrógeno y carbono, donde se evidencio que el nitrógeno presentó un porcentaje bajo en el mes 1 debido al aumento artificial del carbono (Sanz *et al.*, 1975) y una gran actividad microbiana (degradadores). Por otro lado, hubo un aumento en el mes 2 de nitrógeno debido a la degradación del carbono disponible al inicio de la investigación. Finalmente, cuando se analizó el mes 3 la disminución del porcentaje en comparación del mes anterior se debió a la estabilidad entre el carbono y nitrógeno, donde este último se empieza a fijar al suelo (Blaya & García, 2003).

Para finalizar, se evaluaron las fluctuaciones del carbono (gráfica 7), donde se observó que los meses 1 y 2 no hubo diferencias significativas, pero en el mes 3 bajo considerable. En consecuencia, el nitrógeno aumentó como resultado de la actividad microbiana en los meses anteriores (gráfica 6) reduciendo considerablemente las fuentes de carbono y estabilizando tanto el nitrógeno como el carbono produciendo un suelo fértil (Blaya & García, 2003).

9.3 Cuantificación de las bacterias por UFC (Unidades Formadoras de Colonias)

En la gráfica 8, se observó la deficiencia de levaduras y microorganismos ácido lácticos. En vista de estos datos, las condiciones del suelo en las muestras del primer mes no presentan aún las características necesarias para que este tipo de bacterias crezcan, como consecuencia de la erosión que produce especies que no son nativas como el pino, con el consumo excesivo de agua disminuye el rendimiento hídrico, produciendo condiciones de estrés hídrico en el suelo, además la exudación de sustancias resinosas por las raíces de los pinos (Cortes, 1990), haciendo que el suelo se compacte y que las condiciones mínimas (azúcar, lactosa, aminoácidos y vitaminas (Ramírez *et al.*, 2011) que se necesitan para que crezcan este tipo de bacterias no se cumpla.

Luego en el mes 2 (Grafica 9), los tratamientos estuvieron en un periodo donde disminuyo la concentración de nitrógeno y otros nutrientes que los microorganismos degradan para su metabolismo (Blaya & García, 2003) por ello solo algunos grupos tienen una gran presencia en este mes. En el mes 1 y 2 se consumieron la mayor parte de los nutrientes disponibles para el metabolismo, donde se pierde carbono, y el nitrógeno se conserva, bajando así las reservas alimenticias y con esto los microorganismos descomponedores, para que las bacterias nitrificantes continúen su ciclo vital (Blaya & García, 2003), sin embargo hubo una estabilización en el mes 3 (gráfica 10)

Es de gran importancia enfatizar, que el número de UFC en la muestra inicial (0) y el control (16), presentaron diferencias. Esto es debido a que los análisis realizados en estas tuvieron una enorme variación, en donde la muestra inicial estaba debajo de un promedio de 15 cm de acículas de pino, mientras que los análisis de la muestra control fueron realizados en un suelo en el cual se había separado de este aspecto. De ahí que, el suelo mejorará con solo ese cambio en su cantidad de colonias y en los niveles de pH.

Gracias los resultados de análisis de varianza y Fisher, entre los tratamientos 10 y 12. Obtenemos que el valor de Fisher es 0,88 y valor critico como 0,49. Demostrando según Suarez en el 2012 que se acepta si: $Ho = F < Valor\ critico$ y se rechaza si $Ho = F > Valor\ critico$. En nuestros resultados obtuvimos:

$$Ho = 0{,}88 > 0{,}49$$

En consecuencia, la hipótesis nula, la cual menciona que las medias son iguales, se rechaza(Suárez, 2012). Concluyendo que si hay diferencia de los datos. Para saber cuál de los dos es más confiable se compara el promedio:

$$tratamiento 10 < tratamiento\ 12$$

$$3927{,}77 < 2927{,}77$$

Finalmente, el tratamiento 10 posee una mayor numero de cmol/kg que el 12. Teniendo mejores resultados el tratamiento 10.

En síntesis, el mejor tratamiento fue el que mostró un nivel bacteriano estable, correspondiente al No. 10 que contenía compost (cerdaza, papa y aserrín) con un 25% de microorganismo inoculados, esto concuerda con la disponibilidad de iones que se muestra en las gráficas 3 y 4.

CONCLUSIONES

Se analizó el efecto de los microorganismos eficaces de forma directa o en compost en los suelos intervenidos antrópicamente del Parque Forestal Embalse del Neusa sector Laureles, Departamento de Cundinamarca, mostrando un incremento en bacterias benéficas para el suelo, al igual que los nutrientes esenciales para un buen crecimiento y desarrollo de las plantas, como lo es el fósforo.

Se identificaron los microorganismos presentes antes y después de la inoculación de E.M en los tratamientos, mostrando una mayor cantidad de especies (9), al igual que el número de UFC, después de todo el proceso de fijación de bacterias y hongos benéficos para el suelo, en contraste con la muestra inicial con tan solo 5 especies.

Se determinó y caracterizó físico-químicamente el suelo antes y después del proceso de inoculación bacteriana. Demostrando el gran impacto en la transformación del suelo en nutrientes y textura, debido a que desde el inicio observó un incremento exponencial en los tratamientos que se le agregaron el compost. De esta forma se evidenció un incremento de Sodio, Potasio, Fosforo, Magnesio, Nitrógeno y Carbono los cuales son nutrientes esenciales para que el suelo sea fértil.

Se analizó el efecto de los microorganismos inoculados en compost o el suelo directamente, comprobando que el suelo que presentó compost fue el mejor en cuanto a cantidad de UFC y nutrientes, mientras que los que presentaban la inoculación directa las no fueron constantes y su producción de minerales fue muy baja. Como consecuencia, el tratamiento 10 con cerdaza, papa y aserrín con 25% de inculación de E.M presentó los mejores resultados.

RECOMENDACIONES

Podemos decir que, si bien nuestros resultados constituyen un aporte para el conocimiento de la dinámica de microorganismos en la restauración del suelo en el Embalse del Neusa, es necesario realizar posteriores estudios que permitan observar estos tipos de resultados de manera *in vivo* en bosques donde se empieza un proceso de restauración. Además, es de especial cuidado el manejo de las bacterias para que éstas prosperen en el proceso de investigación.

Ahora bien, siendo estos bosques ecosistemas estratégicos, se recomiendan estudios ecológicos para su conservación y preservación.

BIBLIOGRAFIA

Alcaldía, Mariño, Peña, & Escobar. (2004). *Atlas histórico de Bogotá, 1538-1910*: Planeta Colombiana.

Álvarez, O., & Gamez, E. (2004). *Evaluación del efecto de bokashi como fertilizante en cuatro dosis crecientes medido mediante un bioensayo en plantas de sorgo.* (Licenciado), Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.

AMB, & Alcaldia, M. d. B. (2012). Un paso adelante hacia la restauración de los Cerros Orientales.

APROLAB. (2007). Manual para la producción de compost con microrganismos eficaces. *APROLAB*, 22.

Arakawa. (1991). *Kyusei Nature Farming in Japan.* Paper presented at the Proceedings of First International Conference on Kyusei Nature Farming. US Department of Agriculture, Washington, DC, USA.

Battistuzzi, F. U., & Hedges, S. B. (2009). A major clade of prokaryotes with ancient adaptations to life on land. *Molecular biology and evolution, 26*(2), 335-343.

Benavides, Quintero, & Ostos. (2006). Aislamiento e identificación de diez cepas bacterianas desnitrificantes a partir de un suelo agrícola contaminado con abonos nitrogenados proveniente de una finca productora de cebolla en la Laguna de Tota, Boyacá, Colombia. *Nova*(006), 51-54.

BIOCEN. (2012). Centro Nacional de Biopreparados. Retrieved http://www.biocen.cu/producto/indicemc/lmcp1.htm, 2014

Blaya, & García. (2003). *Química Agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*: Mundi-Prensa Libros.

Bobadilla, & Rincón. (2008). Aislamiento y producción de bacterias fosfato solubilizadoras a partir de compost obtenido de residuos de plaza.

Bosch, J. M., & Hewlett, J. (1982). A review of catchment experiments to determine the effect of vegetation changes on water yield and evapotranspiration. *Journal of hydrology, 55*(1), 3-23.

Brian, P. (1959). Effects of gibberellins on plant growth and development. *Biological Reviews, 34*(1), 37-77.

Cardona, Hernández, & Poillon. (2011). Aislamiento y caracterización de bacterias rojas no sulfurosas provenientes del humedal de la Mixtequilla, Veracruz (México). *ECIPerú, 8*(2), 33-38.

Conti, M. E. (2002). Dinâmica de la liberación y fijación de potasio en el suelo. *Faculdad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Argentina, disponível em: www. ppi. org, acesso em, 17*(07).

Cortes, A., Chamorro, C., & Vega, A. (1990). cambios en el suelo por la implicacion de pradera y eucaliptos en un area aledaña al embalse del neusa (paramo de guerrero). *INVESTIGACIONES IGAC, 2, No. 1*, 14.

Cortés L., A. (1990). cambios en el suelo por la implicacion de pradera y eucaliptos en un area aledaña al embalse del neusa (paramo de guerrero). *INVESTIGACIONES IGAC, 2, No. 1*, 14.

Domsch, K. H., Gams, W., & Anderson, T.-H. (1980). *Compendium of soil fungi* (Vol. 1): Soc General Microbiol.

Escobar, & FIAN. (1991). *Neusa, 9,000 años de presencia humana en el páramo*: Fundación de Investigaciones Arqueológicas Nacionales, Banco de la República.

Filho, Guerra, & Gheyi. (2003). Conductividad hidráulica en un suelo aluvial en respuesta al porcentaje de sodio intercambiable. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental, 7*(2), 403-407.

Gage, D. J. (2004). Infection and invasion of roots by symbiotic, nitrogen-fixing rhizobia during nodulation of temperate legumes. *Microbiology and Molecular Biology Reviews, 68*(2), 280-300.

Girardin, H., Albagnac, C., Dargaignaratz, C., & Carlin, F. (2002). Antimicrobial activity of foodborne Paenibacillus and Bacillus spp. against Clostridium botulinum. *Journal of Food Protection®, 65*(5), 806-813.

Gómez. (1999). *Historia de la Empresa de Energía de Bogotá: 1959-2000* (Vol. 3): Empresa de energía de Bogotá.

Gómez. (2004). Actividad de las fosfatasas ácidas y alcalinas (extracelulares e intracelulares) en hongos de la rizosfera de Arachis hypogaea (Papiloneaceae). *International Journal of Tropical Biology and Conservation, 52*(1), 287-295.

Google, M. (Cartographer). (2014). Embalse Neusa, Cundinamarca, Colombia.

Gottlieb, D. (1963). Carbohydrate catabolism by fungi. *Pure and Applied Chemistry, 7*(4), 603-610.

Gradišar, H., Kern, S., & Friedrich, J. (2000). Keratinase of Doratomyces microsporus. *Applied Microbiology and Biotechnology, 53*(2), 196-200.

Grupo901. (2009). Cogua Manantial de Agua. Blogger.

Hernandez., L. (2006). Directrices de restauración ecológica en cuencas hidrográficas andinas:"Plan de manejo ambiental de la cuenca hidrográfica la Floresta–La Novita". Bogotá. Colombia.

Higa. (1991). *Effective microorganism: A biotechnology for mankind.* Paper presented at the International Conference on Kyusei Nature Farming, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.

Higa, James, & Peña. (2013). Microorganismos Benéficos y efectivos para una agricultura y medio ambiente sostenibles. *Maryland (USA): Centro internacional de Investigación de Agricultura Natural, Departamento de Agricultura de los Estados Unidos*.

Higa, & Wididana. (1991a). *The concept and theories of effective microorganisms.* Paper presented at the Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.

Higa, & Wididana. (1991b). *Changes In the soil microflora Induced by effective microorganisms*. Paper presented at the Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming, U.S. Department of Agriculture, Washington, D.C., USA.

Holmes, B., Popoff, M., Kiredjian, M., & Kersters, K. (1988). Ochrobactrum anthropi gen. nov., sp. nov. from human clinical specimens and previously known as group Vd. *International journal of systematic bacteriology, 38*(4), 406-416.

Huanca, A., & Valle, G. (2005). *Evaluacion de la calidad de los abonos orgánicos producidos en la Universidad Earth.* (Licenciatura), Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.

IGAC, I. G. A. C. S. A., & Estadística, C. D. A. N. d. (2000). *Estudio general de suelos y zonificación de tierras del Departamento de Cundinamarca* (Vol. 2): Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Subdirección de Agrología.

Jusoh, M. L., Manaf, L. A., & Latiff, P. A. (2013). Composting of rice straw with effective microorganisms (EM) and its influence on compost quality. *Iranian J Environ Health Sci Eng, 10*(1), 17. doi: 10.1186/1735-2746-10-17

Kameko. (2003). *"Determinación del potencial de mineralización de nitrógeno de bokashi, compost y lombricompost producidos en Earth".* (Licenciado), Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.

Kittler, Kayser, & Stoneking. (2003). Molecular Evolution of< i> Pediculus humanus</i> and the Origin of Clothing. *Current Biology, 13*(16), 1414-1417.

Koneman, E. W., & Allen, S. (2008). *Koneman. Diagnostico Microbiologico/Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/Text and Color Atlas*: Ed. Médica Panamericana.

Leake, J. R. (2005). Plants parasitic on fungi: unearthing the fungi in myco-heterotrophs and debunking the 'saprophytic'plant myth. *Mycologist, 19*(03), 113-122.

Lebuhn, M., Achouak, W., Schloter, M., Berge, O., Meier, H., Barakat, M., . . . Heulin, T. (2000). Taxonomic characterization of Ochrobactrum sp. isolates from soil samples and wheat roots, and description of Ochrobactrum tritici sp. nov. and Ochrobactrum grignonense sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 50*(6), 2207-2223.

Linares, L. C. F. (2006). *Manual de técnicas de análisis de suelos aplicadas a la remediación de sitios contaminados*. Mexico: Instituto Nacional de Ecología.

Madigan, Martinko, Dunlap, & Clark. (2008). Brock Biology of microorganisms 12th edn. *International Microbiology, 11*, 65-73.

Maestre, J. R. (2002). Infecciones bacterianas mixtas de la cavidad oral. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica, 20*(2), 98-101.

Manrique, O. (2004). Guía Técnica para la Restauración Ecológica en Áreas con Plantaciones Forestales Exóticas en el Distrito Capital: Departamento Técnico Administrativo de Medio Ambiente–DAMA-(Editor). Bogotá DC.

Mckean. (1993). *Manual de análisis de suelos y tejido vegetal: Una guía teórica y práctica de metodologías*: Ciat.

Mengel, K. (1994). Exploitation of potassium by various crop species from primary minerals in soils rich in micas. *Biology and fertility of soils, 17*(1), 75-79.

Monge, Val, Sanz, Blanco, & Montañes. (1994). El calcio nutriente para las plantas. Bitter pit en manzano. *INSTITUCIÓN «FERNANDO ELCATÓLICO»*, 189.

Pitt, J. I., Hocking, A. D., & Diane, A. (2009). *Fungi and food spoilage* (Vol. 519): Springer.

Quiróz, A., Albertin, A., & Blázquez, M. (2004). Elabore sus propios abonos insecticidas y repelentes orgánicos. *Organización de Estudios Tropicales, Instituto Nacional de Aprendizaje. AVINA. 36p*.

Raigosa, D. F. V. (2015). Informe de resultados de Analisis e identificación Microbiana (S. Agrológic, Trans.). In I. G. A. C. L. N. d. S. IGAC (Ed.), (Vol. 1, pp. 7). Subdirección Agrológic: IGAC, Instituto Geográfico" Agustín Codazzi.".

Ramírez, Ulloa, Velázquez, González, & Romero. (2011). Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud. *Revista Fuente Año, 2*(7).

Reátegui, K., & Zenteno, H. (2005). *Evaluación del sistema de producción de EM-Compost utilizando aireación forzada y residuos de banano.* (Licenciado), Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.

RedAgricolas. (2013). EL MAGNESIO: NUTRIENTE ESENCIAL EN LA PRODUCCIóN DE FRUTALES Y CULTIVOS. *RedAgricolas*.

Ryan, K. J., & Sherris, J. C. (1994). *Sherris medical microbiology: an introduction to infectious diseases*: McGraw-Hill Medical Publishing.

Salguero, Tejedgr, Fernandez, & Ce. (1975). Andosoles canarios. *Anales de Edafología y Agrobiología. Consejo Superior de Investigaciones Científicas*(3), 4.

Sanz, Heras, & Montañés. (1975). Indice de correlación entre el carbono orgánico y nitrógeno en suelos de la cuenca del Ebro. *J Arnold Arbor.* .

Sgrelli, A., Mencacci, A., Fiorio, M., Orlandi, C., Baldelli, F., & De Socio, G. (2012). Achromobacter denitrificans renal abscess. *New Microbiol, 35*(2), 245-247.

Shalaby, E. A. (2011). Prospects of effective microorganisms technology in wastes treatment in Egypt. *Asian Pac J Trop Biomed, 1*(3), 243-248. doi: 10.1016/S2221-1691(11)60035-X

Shintani, Leblac, & Tabora. (2000). *BOKASHI* (primera ed. Vol. 1). Guacimo, Limon, Cosya Rica.: Universidad Earth.

Sivila de Cary, R., & Angulo, W. (2006). Efecto del descanso agrícola sobre la microbiota del suelo (Patarani-Altiplano Central boliviano). *Ecología en Bolivia, 41*(3), 103-115.

Suárez. (2007). Evaluación y simulación de la producción de ácido láctico con Lactobacillus Casei ATCC 7469.

Suárez. (2012). Interaprendizaje de Probabilidades y Estadística Inferencial con Excel, Winstats y Graph: Imprenta M & V, Ibarra, Ecuador.

Tasic, S., & Tasic, N. (2007). Cladosporium spp.–cause of opportunistic mycoses. *Acta Fac Med Naiss, 24*(1), 15-19.

Teruo, & Parr. (1994). *Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment* (Vol. 1): International Nature Farming Research Center Atami,, Japan.

Thorsen, L., Hansen, B. M., Nielsen, K. F., Hendriksen, N. B., Phipps, R. K., & Budde, B. B. (2006). Characterization of emetic Bacillus weihenstephanensis, a new cereulide-producing bacterium. *Applied and Environmental Microbiology, 72*(7), 5118-5121.

Valle, R. (2004). *Evaluación de dos sistemas de producción de bokashi elaborado con desechos de banano (Musa aab. Gran Enano) en la Universidad Earth, Costa Rica.* (Licenciatura), Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.

Vallejo, Gómez, Cubillos, & Roldán. (2014). Effect of land management on the abundance of nitrifying and denitrifying bacteria in the Ecoregión Cafetera Colombiana. *Universidad Javeriana.* Retrieved www.revistas.unal.edu.co/index.php/agrocol/article/dowloadSuppFile/15763/848

Vásquez. (2004). *Efecto de la aplicación de microorganismos eficaces (EM) a diferentes concentraciones para el manejo de añublo bacteriano en el cultivo del Palmito (Bactris gasipaes K).* (Licenciado), Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.

Vélex, L. (2002). *Comparación de la calidad de bokashis elaborados con desechos de fincas del trópico húmedo de Costa Rica.* (Licenciatura), Universidad Earth, Guácimo, Costa Rica.

Villarroel. (1988). Manual práctico para la interpretación de análisis de suelos en laboratorio.

Wang, M., Yang, M., Zhou, G., Luo, X., Zhang, L., Tang, Y., & Fang, C. (2008). Paenibacillus tarimensis sp. nov., isolated from sand in Xinjiang, China. *International journal of systematic and evolutionary microbiology, 58*(9), 2081-2085.

Webster, J., & Weber, R. (2007). *Introduction to fungi*: Cambridge University Press.

ANEXOS

a. b.

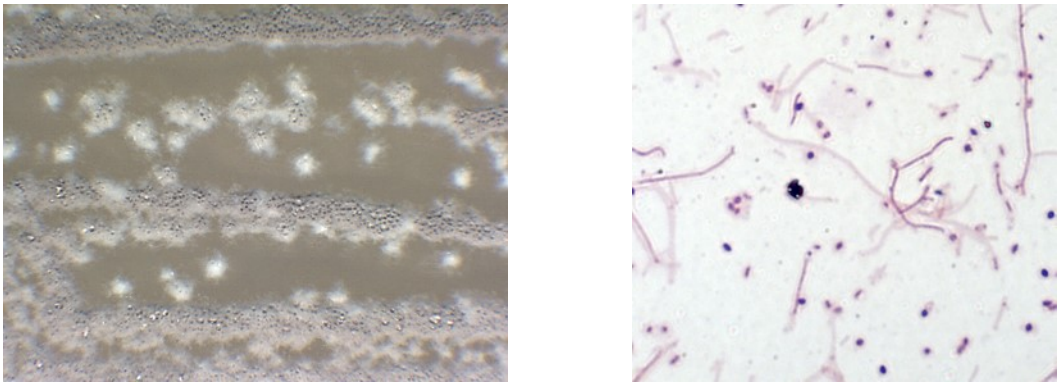


Figura 3: ***Streptomycetes sp.*** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (1000x) (b)

a. b.

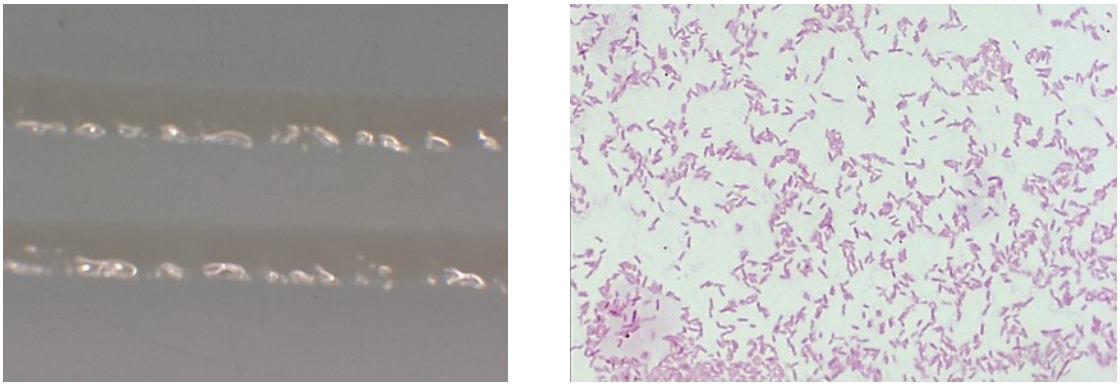


Figura 4: ***Ochrobactrum trictici.*** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp.(1000x) (b)

a. b.

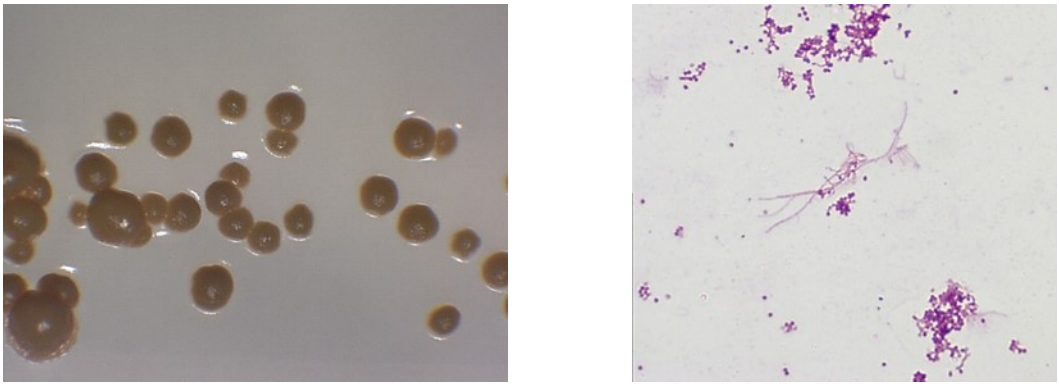


Figura 5: ***Micromonospora sp.*** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (650x) (b)

a. b.

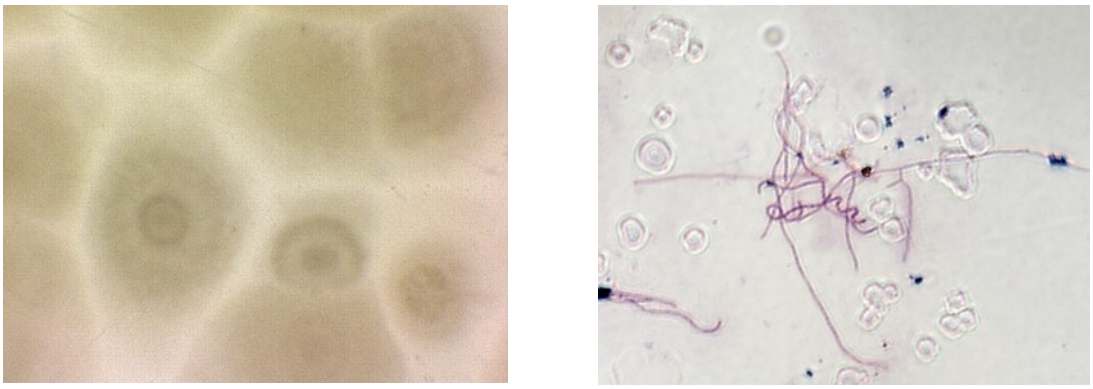


Figura 6: *Streptomycetes sp.*. Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp.(650x) (b)

a. b.

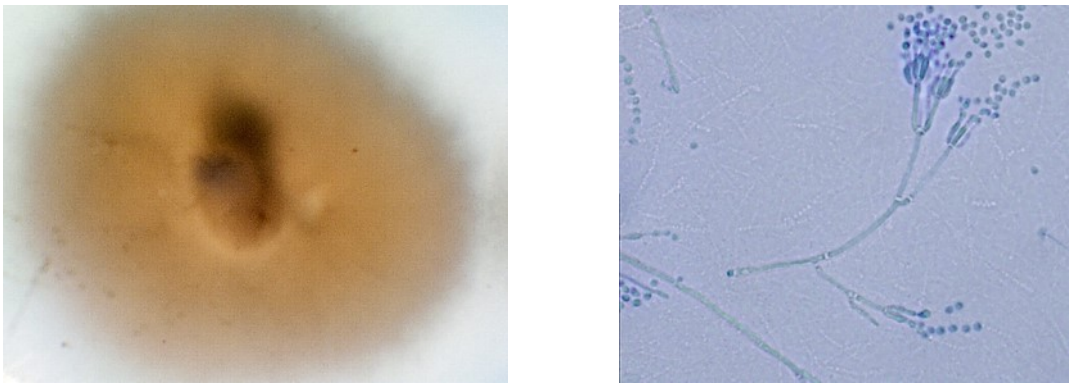


Figura 7: *Penicillium janthinellum*. Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (250x) (b)

a. b.

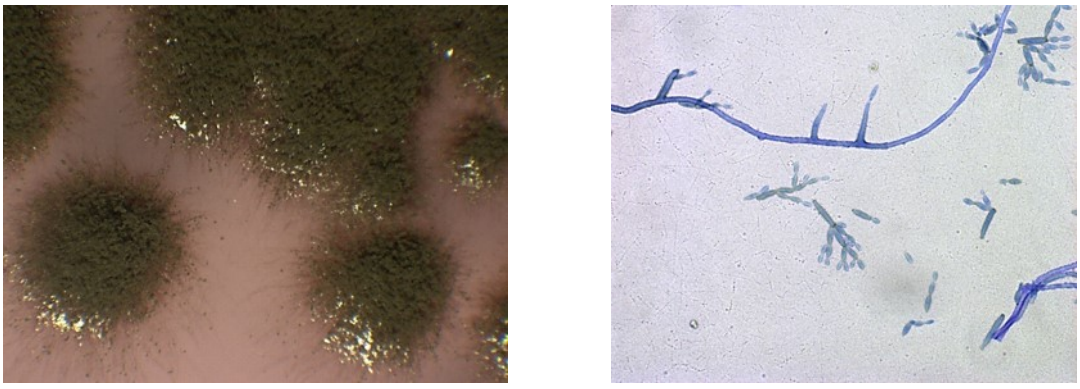
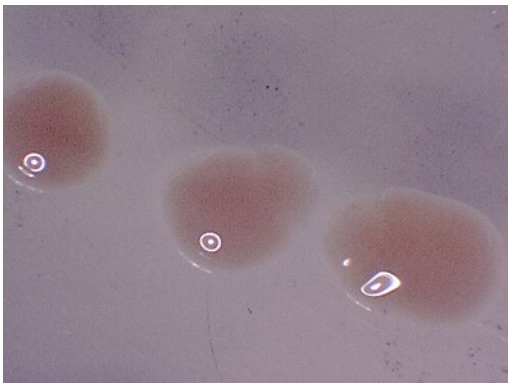


Figura 8: *Cladosporium sphoerospermun*. Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp.(400x) (b)

a. b.



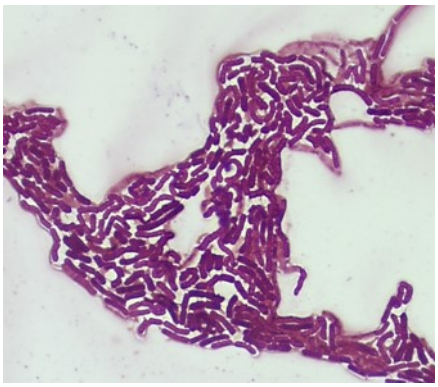


Figura 9: ***Achromobacter denitrificans***. Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (1000x) (b)

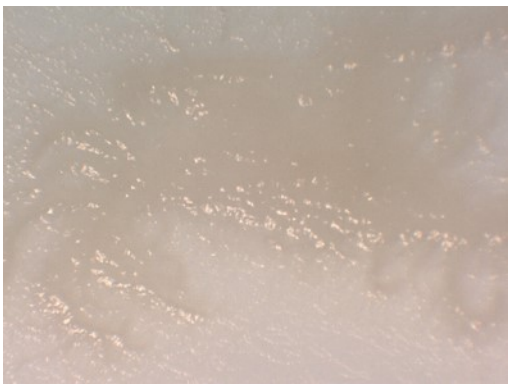
a. b.





Figura 10: ***Doratomyces microsporus***. Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (250x) (b)

a. b.



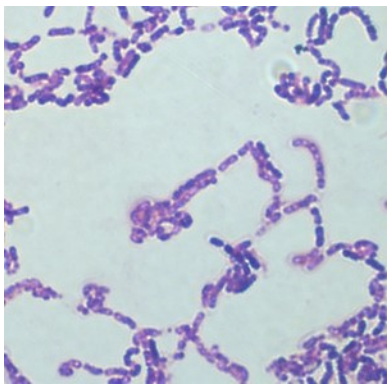


Figura 11: ***Lactobacillus pentosus*.** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (1000x) (b)

a. b.

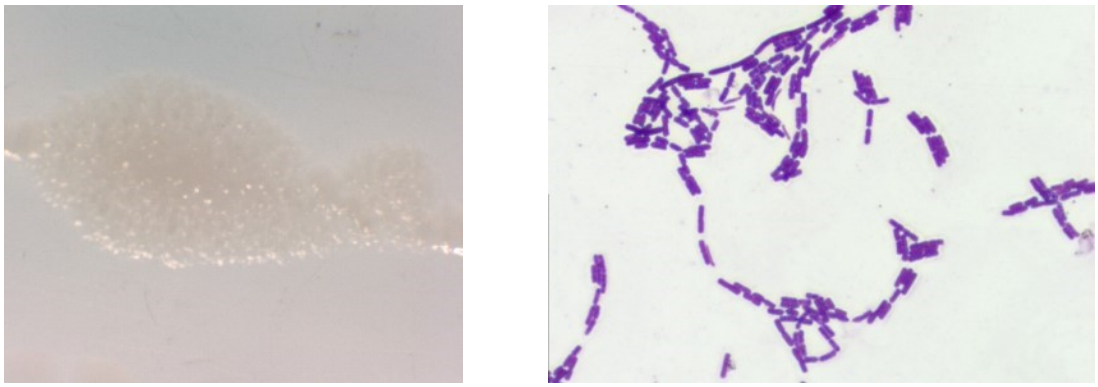


Figura 12: ***Bacillus weihenstephanensis/cereus*****.** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (1000x) (b)

a. b.

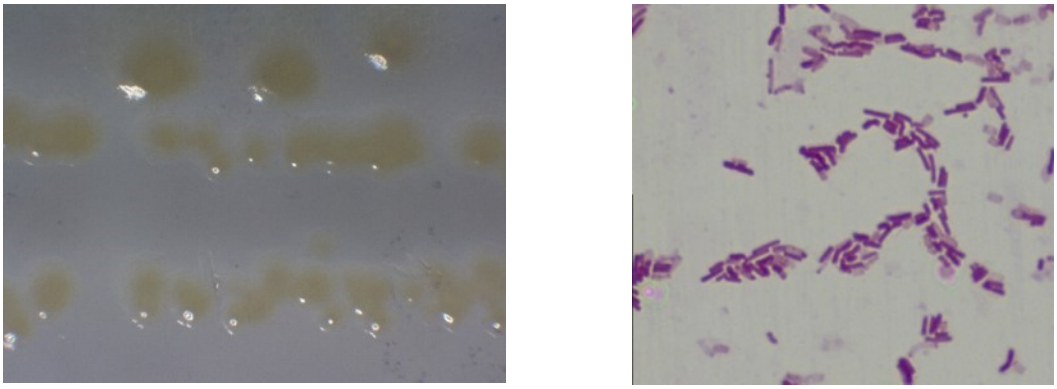


Figura 13: ***Paenibacillus tarimensis*****.** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp.(1000x) (b)

a. b.

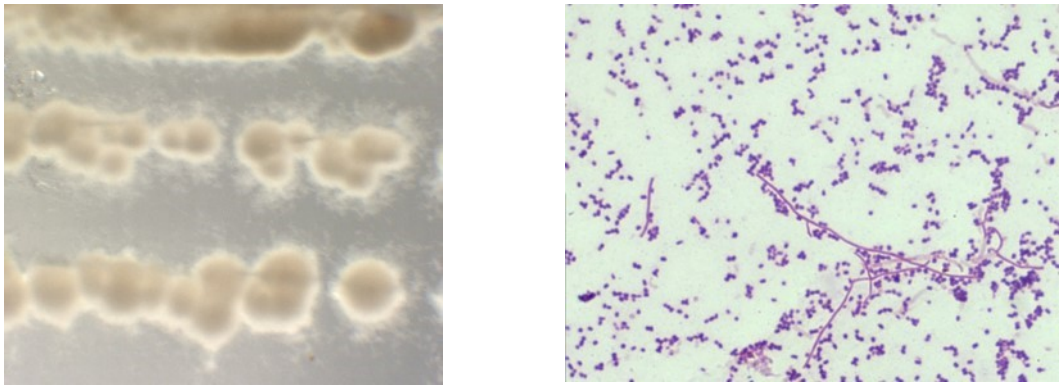


Figura 14: ***Streptomyces s.p.*** **.** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (650x) (b)

a. b.

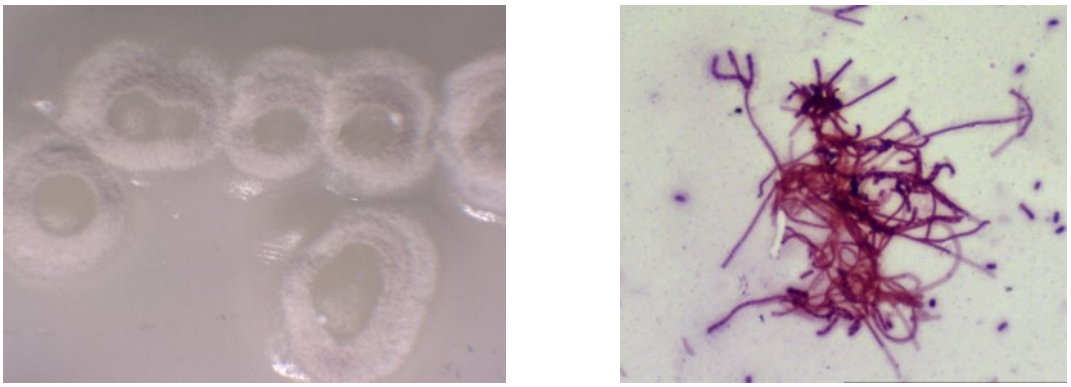


Figura 15: ***Streptomyces s.p.*** **.** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (650x) (b)

a. b.

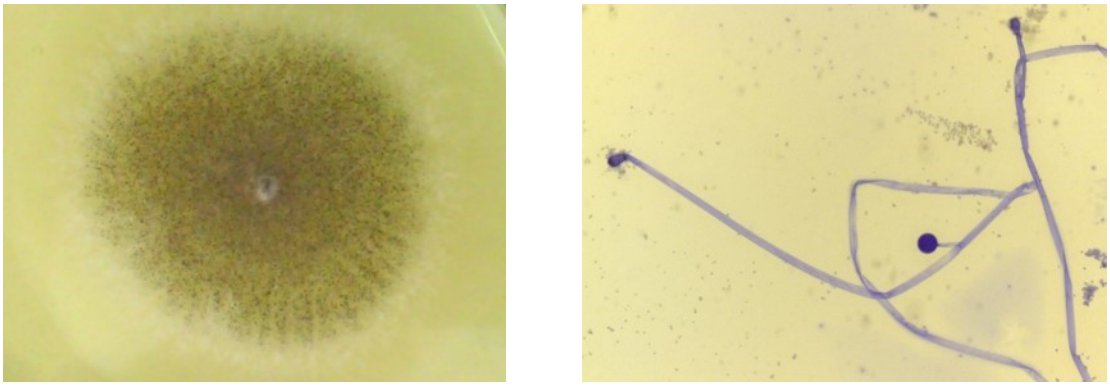


Figura 16: ***Mucor plumbeus*****.** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (100x) (b)

a. b.

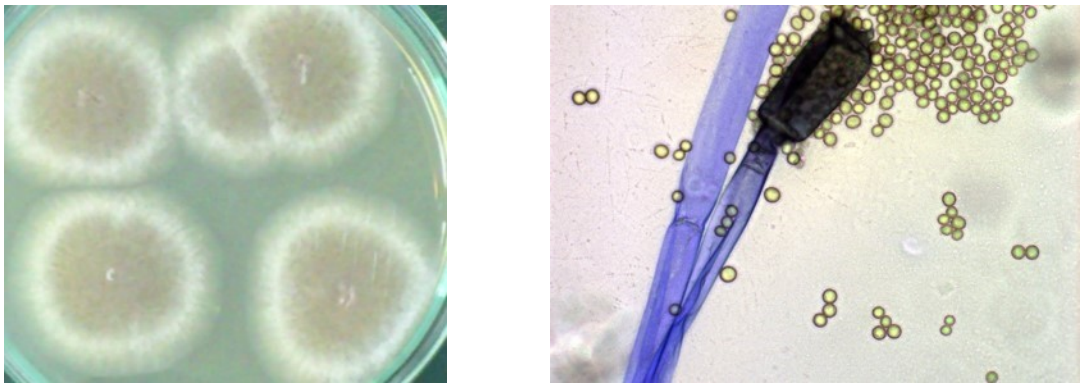


Figura 17: ***Mucor plumbeus.*** Crecimiento de la Colonia (a) microfotografía de la sp. (400x) (b)