

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



TRABAJO DE GRADUACIÓN TITULADO:
**DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS EDÁFICOS ASOCIADOS AL CULTIVO
DE CACAO (*Theobroma cacao*) EN EL VALLE DE ZAPOTITÁN, LA LIBERTAD, EL
SALVADOR.**

PRESENTADO POR:
IDALIA GUADALUPE CORNEJO DE GALICIA
MÉLIDA ELIZABETH RIVERA HERNÁNDEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA.

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, MAYO DE 2021.

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA



TRABAJO DE GRADUACIÓN TITULADO:
**DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS EDÁFICOS ASOCIADOS AL CULTIVO
DE CACAO (*Theobroma cacao*) EN EL VALLE DE ZAPOTITÁN, LA LIBERTAD, EL
SALVADOR.**

PRESENTADO POR:
IDALIA GUADALUPE CORNEJO DE GALICIA
MÉLIDA ELIZABETH RIVERA HERNÁNDEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA.

DOCENTE ASESORA:
LICDA. ÁNGELA GUDIELIA PORTILLO DE PÉREZ

ASESORA EXTERNA:
LICDA. BEATRIZ GABRIELA LÓPEZ LINARES

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, MAYO DE 2021

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA
ESCUELA DE BIOLOGÍA

**DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS EDÁFICOS ASOCIADOS AL CULTIVO
DE CACAO (*Theobroma cacao*) EN EL VALLE DE ZAPOTITÁN, LA LIBERTAD, EL
SALVADOR.**

PRESENTADO POR:

IDALIA GUADALUPE CORNEJO DE GALICIA
MÉLIDA ELIZABETH RIVERA HERNÁNDEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE:
LICENCIADA EN BIOLOGÍA.

TRIBUNAL CALIFICADOR:



LICDA. ÁNGELA GUDELIA PORTILLO DE PÉREZ



LICDA. YANCI BEATRÍZ ANGEL CERÓN



ING. AGR. OSCAR ALEJANDRO LEMUS

CIUDAD UNIVERSITARIA SAN SALVADOR, MAYO DE 2021

AUTORIDADES UNIVERSITARIAS

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

M. Sc. ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

VICERRECTOR ACADÉMICO

PhD. RAÚL ERNESTO AZCÚNAGA LÓPEZ

VICERRECTOR ADMINISTRATIVO

ING. JUAN ROSA QUINTANILLA

FISCAL GENERAL

LIC. RAFAEL HUMBERTO PEÑA MARÍN

SECRETARIO GENERAL

ING. FRANCISCO ALARCÓN

FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICA

DECANO

LIC. MAURICIO HERNÁN LOVO CÓRDOVA

VICEDECANA

M. Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

SECRETARIO

LIC. JAIME HUMBERTO SALINAS ESPINOZA

DIRECTORA INTERINA ESCUELA DE BIOLOGÍA

M. Sc. ZOILA VIRGINIA GUERRERO MENDOZA

DEDICATORIA

Idalia Guadalupe Cornejo de Galicia

Cada minuto de trabajo invertido en esta investigación la dedico a cada persona que desee desde su perspectiva aportar al equilibrio ecológico de la naturaleza.

Mi más grande deseo es que esta investigación sirva para incentivar en las nuevas generaciones el deseo de cuidar a los microorganismos y estudiar su desempeño en los ecosistemas y fomentar así la agricultura orgánica.

Mélida Elizabeth Rivera Hernández

A mis amados padres: José Antonio Rivera y Mélida Leonor Hernández de Rivera, por haberme forjado como la persona que soy en la actualidad, muchos de mis logros se los debo a ustedes. Sus bendiciones diarias a lo largo de mi vida me protegen y me llevan por el camino del bien, por su paciencia y amor incondicional, gracias.

A mis hermanos Braulio y Flor por su apoyo incondicional que día a día me brindaron en este proceso, también, de manera muy especial a mis queridas abuelas, sé que sus oraciones siempre me acompañaron en estos años demostrando su amor puro.

Además, dedicar este logro a una persona muy especial que llegó como un ángel a nuestra familia, ya que en vida fue ejemplo de ser una persona extraordinaria y tuve la dicha de conocer su calidad humana, excelente profesional, íntegro en todos los aspectos. Con cariño al Ing. Agr. Ricardo Antonio Barahona.

AGRADECIMIENTOS

Idalia Guadalupe Cornejo de Galicia

Al Ser Supremo creador de todo lo que nos rodea.

A la Universidad de El Salvador: por la educación a lo largo de la formación académica, a CENTA: por abrir sus puertas en el Laboratorio de Microbiología Agrícola para la realización de esta investigación, y FUNDESYRAM por la confianza depositada para la realización de esta investigación.

A nuestras asesoras de tesis, por creer en nuestro proyecto y colaborar en su realización brindando sus conocimientos, aportes, correcciones y ánimos en cada etapa.

A mi compañera de tesis por la paciencia a lo largo del proceso

Al Tribunal Calificador por su tiempo, sus observaciones, aportes y dedicación en ayudarnos en forjar este documento.

A mis padres por creer en mis sueños y por la presión justa para poder llegar a este día.

A mi adorado esposo, por la forma ideal de creer en mis deseos de cumplir esta meta.

A mi pasado por continuar paso a paso para llegar a presente, y lograr así un avance en mi futuro.

Mélida Elizabeth Rivera Hernández

Agradezco a la vida por haberme otorgado una familia maravillosa, quienes siempre han creído en mí y me han motivado a buscar la superación, el triunfo en la vida, la humildad, el sacrificio, la honestidad y enseñándome a valorar todo lo que tengo. Espero contar siempre con su valioso apoyo incondicional y ayudarme a cumplir mis objetivos.

A las instituciones de estudio por la formación académica que me brindaron todos estos años, en especial a la Universidad de El Salvador, por permitir desarrollarme como profesional. A los docentes por compartir sus conocimientos y apoyarme durante mi proceso de obtención del título.

A CENTA y a FUNDESYRAM, por ser las instituciones que nos apoyaron en todo el proceso de nuestro proyecto, confiaron en nuestras capacidades y habilidades. Les agradecemos mucho.

A las asesoras que durante la realización de este trabajo nos guiaron y ayudaron en cada etapa, ya que sus orientaciones, sugerencias, y consejos fueron fundamentales para finalizar con éxito.

A mi amiga y compañera de tesis Idalia por su comprensión, ánimo y paciencia durante toda la carrera y realización de nuestro proyecto.

Al Tribunal Calificador quienes nos brindaron su preciado tiempo para revisar, dar observaciones y compartir sus conocimientos para enriquecer nuestro trabajo.

En general a mi demás familia que son mis estimados tíos, mis primos y amigos que de alguna manera me apoyaron para culminar esta meta. Los aprecio de todo corazón.

CONTENIDO

ÍNDICE DE TABLA	iv
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	vi
INDICE DE GRÁFICOS	viii
I. RESUMEN.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
III. JUSTIFICACIÓN.....	3
IV. OBJETIVOS.....	4
4.1. General.....	4
4.2. Específicos.....	4
V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	5
VI. MARCO TEÓRICO.....	6
6.1. Contextualización del cultivo de cacao.	6
6.2. Producción mundial y nacional del cacao.	6
6.3. Descripción botánica.....	7
6.3.1. Requerimientos del cultivo de cacao.....	8
6.4. El suelo.....	9
6.4.1. Formación del suelo.	10
6.4.2. Componentes del suelo.....	11
6.5. Rizósfera.....	12
6.6. Población microbiana del suelo.....	13
6.7. Ecología microbiana.....	14
6.8. Relación entre nutrición microbiana y las plantas.	15
6.8.1. Nutrición microbiana.....	15
6.9. Hongos.....	17

6.9.1.	Hongos del suelo.	19
6.9.2.	Descripción de géneros fúngicos con importancia agrícola.	21
6.10.	Bacterias.	25
6.10.1.	Las bacterias en el suelo.	26
6.10.2.	Descripción de familias bacterianas con importancia agrícola.	28
6.11.	Importancia de la agroecología.	29
VII.	METODOLOGÍA.	31
7.1.	Descripción del sitio de estudio.	31
7.2.	Fase de campo.	32
7.2.1.	Diseño de muestreo.	32
7.2.2.	Duración de la fase de campo.	32
7.2.3.	Parcelas.	32
7.2.4.	Extracción de la muestra.	32
7.3.	Fase de laboratorio.	35
7.3.1.	Registro de parámetros físico-químicos.	36
7.3.2.	Diluciones.	38
7.3.3.	Contabilización de cepas y Unidades Formadoras de Colonias.	40
7.3.4.	Aislamiento de cepa.	41
7.3.5.	Tinción de Gram.	41
7.3.6.	Catalasa.	42
7.3.7.	Prueba SIM: Producción de Sulfuro, Indol y motilidad.	43
7.3.8.	Prueba TSI (Triple Sugar Iron Agar).	43
7.4.	Identificación microbiológica de hongos.	44
7.4.1.	Técnica de tinción con cinta adhesiva.	45
7.5.	Conservación de microorganismos.	46

7.6. Procesamiento de datos.....	47
7.6.1. Análisis estadísticos.	47
VIII. RESULTADOS.....	51
8.1. Resultados de diversidad bacteriana.	51
8.1.1. Identificación de bacterias.....	51
8.1.2. Caracterización de las cepas de bacterias aisladas.	56
8.1.3. Determinación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en bacterias.	62
8.1.4. Análisis de Diversidad.....	63
8.2. Resultados de diversidad de hongos.	65
8.2.1. Identificación de hongos.....	65
8.2.2. Caracterización de los géneros aislados de hongos.....	69
8.2.3. Determinación de Unidades Formadoras de Colonias de los hongos.	76
8.2.4. Análisis de Diversidad de especies en los hongos.....	78
8.3. Parámetros Físico-químicos del suelo.	80
8.3.1. Determinación de pH.....	80
8.3.2. Determinación de humedad.....	81
8.3.3. Determinación de textura.....	83
8.3.4. Temperatura ambiente.....	83
IX. DISCUSIÓN.....	85
X. CONCLUSIONES.....	91
XI. RECOMENDACIONES.	94
XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	95
XIII. ANEXOS	117

ÍNDICE DE TABLA

Tabla 1. Profundidad de toma de muestra según uso de suelo según el Manual de MINAM (2014).	34
Tabla 2. Consolidado de taxonomía de bacterias aisladas en los sitios de San Andrés y la Montañita del Valle de Zapotitán durante los meses de agosto a octubre del 2019....	52
Tabla 3. Número de cepas puras de bacterias presentes en cada sitio de estudio, San Andrés y La Montañita, durante el muestreo realizado en los meses de agosto a octubre de 2019. Además, el número de cepas presentes en ambos sitios y el número de cepas ausentes de cada sitio de estudio.....	54
Tabla 4. Caracterización de las cepas aisladas e identificadas en sus respectivas familias en los muestreos realizados en los sitios de estudio durante los meses de agosto a octubre del 2019.....	57
Tabla 5. Unidades Formadoras de Colonias de Bacterias en las áreas de San Andrés y la Montañita en el Valle de Zapotitán durante los tres meses de muestreo, de agosto a octubre del 2019.	62
Tabla 6. Valores obtenidos del Índice de Margalef, Shannon-Wiener, Simpson, coeficiente de similitud de Jaccard y Sorensen, además de la medición de complementariedad para la población de bacterias encontradas en los sitios de estudio de San Andrés y La Montañita.....	64
Tabla 7. Consolidado de taxonomía de hongos aislados en los sitios de San Andrés y la Montañita del Valle de Zapotitán durante los meses de agosto a octubre del 2019....	66
Tabla 8. Número de cepas puras de hongos presentes en cada sitio de estudio, San Andrés y La Montañita, durante el muestreo realizado en los meses de agosto a octubre de 2019. Además, el número de cepas presentes en ambos sitios y el número de cepas ausentes de cada sitio de estudio.....	67
Tabla 9. Caracterización de los géneros fúngicos presentes en los muestreos realizados en los sitios de estudio durante los meses de agosto a octubre del 2019.....	70
Tabla 10. Especies de <i>Aspergillus</i> aislados de los sitios de estudio, La Montañita y San Andrés, durante los meses de agosto a octubre de 2019.....	76

Tabla 11. Unidades Formadoras de Colonias de Hongos en los sitios de San Andrés y la Montañita en el Valle de Zapotitán durante los meses de agosto a octubre del 2019.	77
Tabla 12. Valores obtenidos del Índice de Margalef, Shannon-Wiener, Simpson, coeficiente de similitud de Jaccard y Sorensen, además de la medición de complementariedad en los sitios de La Montañita y San Andrés para la población de hongos.....	79
Tabla 13. Valores de pH registrados en cada punto de muestreo durante los tres meses de muestro (agosto, septiembre y octubre de 2019) en los sitios de La Montañita y San Andrés.	80
Tabla 14. Valores del porcentaje de humedad determinados en cada punto de muestreo de los dos sitios de estudio, durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019. ...	82
Tabla 15. Valores de la Temperatura ambiente registrados en los sitios de estudio, San Andrés y La Montañita, durante los meses de muestreo de agosto a octubre del 2019.....	83

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Mecanismo de formación de humos. Fuente: Navarro& Navarro (2003).	12
Ilustración 2. Mecanismo de acción de hongos en las raíces de las plantas, nótese la formación de vesículas y mecanismos Arbusculares dentro de la célula. Fuente: Barrer (2009).....	20
Ilustración 3. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo. (A) Parcela experimental San Andrés del CENTA. (B) Finca privada “La Montañita”. Elaborado en ArcGis, Junio 2020 por Carlos Amaya.....	31
Ilustración 4. Esquema representativo de los puntos de muestreo tomados al azar en forma de zig-zag. Tomado de Schweizer (2011).	33
Ilustración 5. Ejemplo de toma de sub-muestra en punto de muestreo según el Manual de MINAM (2014).....	34
Ilustración 6. Proceso de extracción de las submuestras en cada punto de muestreo y homogenización de la muestra compuesta. Fuente: fotografías del autor.	35
Ilustración 7. Toma de temperatura del ambiente en los sitios de muestreo. Fuente: fotografías del autor.	35
Ilustración 8. Pasos para determinación de pH de cada punto de muestreo. Fuente: fotografías del autor.	36
Ilustración 9. Pasos para determinar Humedad de muestras. Fuente: fotografías del autor. ...	37
Ilustración 10. Pasos para determinar textura de suelo. A: suelo humedecido, B: formación de bolita, C: formación de cilindro, D: formación de V, D1: V partida, E: formación de círculo, F: círculo entero, F1: círculo partido. Fuente: fotografías del autor.	38
Ilustración 11. Procedimiento para recuento de microorganismos utilizando diluciones seriadas de las muestras. Fuente: elaboración propia tomando ejemplo de Benintende <i>et al.</i> (2009).....	39
Ilustración 12. Procedimiento para contabilizar el crecimiento de colonias. Fuente: fotografías del autor.	40
Ilustración 13. Procedimiento de aislamiento y obtención de cepas puras de bacterias. Fuente: fotografías del autor.	41

Ilustración 14. (A) Prueba de tinción de Gram; (B) bacilos positivos; (C) cocos negativos. Fuente: fotografías del autor.	42
Ilustración 15. Prueba de catalasa: (A) catalasa negativa; (B y C) catalasa positiva. Fuente: fotografías del autor.	42
Ilustración 16. Lectura de prueba del Medio SIM: (A) producción de azufre; (B) motilidad de la bacteria; (C) producción de indol. Fuente: fotografías del autor.	43
Ilustración 17. Resultados de prueba de TSI. Fuente: fotografías del autor.	44
Ilustración 18. Aislamiento de hongos, esquema de siembra por punción en placa y cepa pura de hongo microscópico. Fuente: fotografías del autor.....	45
Ilustración 19. Procedimiento para la identificación de hongos microscópicos por técnica de cinta adhesiva: (A) gota de azul de lactofenol sobre portaobjetos; (B) extracción de micelio con cinta adhesiva; (C) fijación de micelio extraído sobre portaobjeto; (D) observación del microscopio. Fuente: fotografías del autor.....	45
Ilustración 20. Conservación de microorganismos: (A) materiales a utilizar, glicerol, solución salina, tubos Eppendorf, asa microbiológica, pipeta, tubos crioviales, microorganismo a conservar; (B) extracción de porción de colonia a preservar; (C) proceso de centrifugación; (D) traslado de sedimento a crioviales con glicerina; (E) refrigeración de colonias. Fuente: fotografías del autor.	46

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Representación gráfica en pastel del porcentaje de cepas bacterianas aisladas y distribuidas en los tres grupos identificados por Tinción Gram durante la investigación.....	52
Gráfico 2. Representación gráfica en pastel del porcentaje de los grupos bacterianos presentes en cada sitio de estudio durante la investigación.....	53
Gráfico 3. Representación gráfica en barra del número de cepas bacterianas por familia presentes en los dos sitios de estudios durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.....	55
Gráfico 4. Representación gráfica en barra del número de cepas bacterianas presentes en cada punto de muestro de los dos sitios de estudio, San Andrés y La Montañita, durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.....	56
Gráfico 5. Representación gráfica de la curva de rango-abundancia de las familias de bacterias aisladas. (A) Rango-abundancia de bacterias presentes en el sitio San Andrés, (B) Rango-abundancia de bacterias presentes en el sitio La Montañita.	63
Gráfico 6. Representación gráfica en forma de árbol de la similitud/disimilitud de las cepas bacterianas presentes en los sitios de estudio durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.	65
Gráfico 7. Representación gráfica en barra del número de cepas fúngicas de los géneros identificados presentes en los dos sitios de estudio: La Montañita y Estación experimental San Andrés.....	68
Gráfico 8. Representación gráfica en barra del número de cepas de hongos microscópicos aisladas por punto de muestreo en cada sitio de estudio durante los meses de agosto a octubre del 2019.....	68
Gráfico 9. Representación gráfica de la curva de rango-abundancia de los géneros de hongos aislados. (A) Rango-abundancia de hongos presentes en el sitio La Montañita, (B) Rango-abundancia de hongos presentes en el sitio San Andrés.....	78
Gráfico 10. Representación gráfica en forma de árbol de la similitud/disimilitud de las cepas fúngicas presentes en los sitios de estudio durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.....	80

Gráfico 11. Representación gráfica en barra del promedio de rango de pH en los puntos de muestreo de los sitios la Montañita y San Andrés, entre los meses de agosto a octubre del 2019.	81
Gráfico 12. Representación gráfica en barra del porcentaje promedio de humedad en los puntos de muestreo de los sitios La Montañita y San Andrés, entre los meses de agosto a octubre del 2019.	83

I. RESUMEN.

La diversidad microbiana es considerada como un indicador de la salud de los suelos, además, tiene un papel fundamental en el desarrollo de las especies vegetales presentes en los ecosistemas. No obstante, las prácticas agrícolas limitan y condicionan la diversidad de microorganismos al modificar el equilibrio que se da en los ecosistemas naturales. Sin embargo, son pocos los estudios enfocados en identificar esta diversidad. El objetivo de este trabajo ha sido determinar la diversidad de microorganismos edáficos asociados al cultivo de cacao (*Theobroma cacao*), realizando tres muestreos durante la época lluviosa en dos áreas del Valle de Zapotitán: finca la Montañita con manejo agroecológico y la otra ubicada en el centro experimental de San Andrés del CENTA con manejo convencional. Las áreas se dividieron en 4 puntos: A, B, C y D, y se extrajeron 40 submuestras por área cada mes, de agosto a octubre del 2019. Para su análisis las muestras se trasladaron al Laboratorio de Microbiología Agrícola del CENTA, donde se utilizó el método de diluciones y siembra en placa para aislar las colonias con características morfológicas diferentes, posteriormente, fueron sometidos a análisis bioquímicos para la identificación de microorganismos (bacterias), tales como tinción de Gram, catalasa, motilidad, producción de sulfuro, Indol y fermentación de azúcares en medio TSI, resultando 13 familias de bacterias identificadas, donde, las más abundantes fueron: *Micrococcaceae* (25%), *Moraxellaceae* (11%), *Nocardiaceae* (9%), *Actinomycetaceae* (7%) y *Staphylococcaceae* (6%), perteneciendo la mayoría al grupo Actinobacteria. Para la identificación de los hongos microscópicos, se utilizó la técnica de cinta adhesiva y con apoyo de claves taxonómicas se identificaron 16 géneros fúngicos, en donde el mayor número de cepas fueron de los géneros: *Aspergillus* (25%), *Penicillium* (24%), *Trichoderma* (13%) y *Fusarium* (8%), siendo estos muy habituales en otros estudios de diversidad fúngica. Los valores de los análisis estadísticos obtenidos en la parcela de manejo agroecológico son ligeramente superiores a los valores obtenidos en la parcela con manejo convencional, así lo confirman los análisis físico-químicos de suelo. Los resultados obtenidos fueron similares a otros estudios de diversidad de microorganismos en suelos agrícolas y naturales donde se afirma no existir diferencia de biodiversidad en ambos sitios, sin embargo, en este estudio los análisis mostraron que la Montañita poseía valores ligeramente superiores al área en San Andrés, en cuanto a la diversidad de cada área ambos sitios mostraron ser diversos en su composición de especies.

II. INTRODUCCIÓN.

La diversidad y el número de microorganismos que se encuentran en el suelo dependen en gran medida de la composición y concentración de los nutrientes exudados por las raíces de las plantas. Así, la interacción entre los microorganismos y los cultivos puede ser beneficiosa, dañina o neutral, en ocasiones esto puede variar en función de las condiciones del suelo. Conocer a los microorganismos asociados al cultivo de interés es un aspecto de particular atención para desarrollar una agricultura ecológica, ya que es posible favorecer la aplicación de inoculantes sin perjudicar el equilibrio biológico de los suelos.

En El Salvador, uno de los cultivos que ha estado presente desde la época prehispana y colonial es el cacao, según el Censo Agropecuario 2007/08 la superficie total nacional del cultivo de cacao es de 450 hectáreas en todo el país, con un déficit de producción ya que importa tres veces su producción nacional para utilizar en diversos productos, siendo retomado con el fin de generar nuevas divisas económicas y la demanda mundial de sus productos.

Esta investigación tuvo como objetivo principal determinar la diversidad de microorganismos edáficos en el cultivo de cacao en el Valle de Zapotitán. Se llevó a cabo en dos sitios de muestreo, divididos en cuatro puntos (A, B, C y D), extrayendo en cada lugar 4 muestras compuestas durante 3 meses. En el laboratorio se procesaron en diluciones seriadas y se incubaron de acuerdo al protocolo para bacterias y hongos correspondientes.

Los análisis resultaron en la caracterización morfológica a un total de 106 cepas de hongos microscópicos, de los cuales se identificaron 16 géneros fúngicos y los más abundantes destacan *Aspergillus* (25%), *Penicillium* (24%) y *Trichoderma* (13%), además se caracterizaron a 129 cepas de bacterias, resultando 13 grupos bacterianos y la cepa más abundante pertenece a la Clase Actinobacteria o llamados actinomicetos. Los factores físico-químicos analizados mostraron ser similares a otros estudios donde exponen que no influyen en la composición de las comunidades bacterianas y por tanto no existe diferencia significativa entre parcelas con sistema de manejo agroecológico con otras parcelas con un sistema de manejo convencional. Y los análisis de diversidad indicaron mayor diversidad de microorganismos presentes en la finca La Montañita con manejo agroecológico en comparación con San Andrés con manejo convencional.

III. JUSTIFICACIÓN.

El suelo es uno de los elementos principales para el desarrollo de la vida en el planeta tierra, entre los organismos que forman parte de las cadenas tróficas del suelo podemos encontrarlos de forma macro y microscópica, entre ellos las bacterias y hongos microscópicos, plantas y diversidad de animales, independientemente de su tamaño todos forman parte importante en el equilibrio del mismo.

Gracias a las funciones de algunas bacterias y hongos microscópicos, las plantas pueden obtener de una forma más asimilable diversidad de nutrientes, dotando así de cierta fertilidad a los suelos, ayudando también a la riqueza y bienestar de los organismos superiores.

En términos generales se conocen los aportes de los hongos microscópicos y bacterias a los ecosistemas como los principales agentes degradadores de la materia orgánica. La actividad y diversidad de la microbiota además de condicionar la fertilidad del suelo, también determinan la estabilidad y funcionamiento de los ecosistemas naturales y agroecosistemas. Son considerados seres esenciales para garantizar los ciclos de los nutrientes mediante los fenómenos de descomposición de material vegetal, animal y sus funciones en los ciclos geoquímicos.

No obstante, en nuestro país, se carecen de estudios microbiológicos enfocados en la identificación de estos seres vivos, motivo principal de este estudio en el que se llevó a cabo la identificación de la diversidad de microorganismos edáficos asociados al cacao, cultivo de gran potencial económico debido a su gran demanda nacional e internacional. Donde, además, se estudió dos parcelas de manejo agronómico diferente, comparando los resultados obtenidos.

IV. OBJETIVOS.

4.1. General

Determinar la diversidad de microorganismos edáficos asociados al cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) en el Valle de Zapotitán, La Libertad, El Salvador.

4.2. Específicos

1. Aislar los microorganismos edáficos presentes en el cultivo de cacao en los dos sitios de estudio.
2. Identificar los microorganismos edáficos presentes en el cultivo de cacao de acuerdo al manejo agronómico de los dos sitios de estudio.
3. Comparar la diversidad de microorganismos edáficos asociados al cultivo de cacao en los dos sitios de estudio.

V. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

En el modelo de Agricultura Convencional, el recurso suelo es considerado simplemente como un soporte inerte (fuente de nutrientes) para el desarrollo de las plantas, hasta el momento, no se ha logrado comprender que este recurso tiene vida y su dinámica está estrechamente relacionada con los ciclos de la naturaleza y es un recurso no renovable a corto plazo.

Las condiciones económicas, sociales y culturales en las que se ha encontrado sumergido nuestro territorio, sumado a los efectos del cambio climático y el uso desmedido de químicos sobre el suelo han perjudicado en gran medida las condiciones naturales del mismo. Debido a estos mismos factores el enriquecimiento de información científica ha sido frenado en gran medida, razón por la cual iniciar con estudios de identificación de la diversidad es de gran importancia para desvelar el estado en el que se encuentran nuestros suelos agrícolas, que ha sido uno de los recursos más afectados, y del cual dependemos como seres vivos.

El análisis del valor de importancia de las especies cobra sentido si recordamos que el objetivo de medir la diversidad biológica es, además de aportar conocimientos a la teoría ecológica, contar con parámetros que nos permitan tomar decisiones o emitir recomendaciones en favor de la conservación de taxas o área amenazadas, o monitorear el efecto de las perturbaciones en el ambiente.

Basados en modelos de ecosistemas estables nace la agricultura ecológica, práctica en realce y de gran impacto en los diversos ámbitos de las sociedades y de los ecosistemas modificados antropogénicamente; en donde su base fundamental es sustituir el uso de químicos sobre el suelo por la utilización de los recursos preexistentes, tales como bacterias y hongos microscópicos que son controladores naturales de patógenos, participantes activos de los ciclajes de nutrientes, desintegradores de nutrientes, entre otros.

VI. MARCO TEÓRICO.

6.1. Contextualización del cultivo de cacao.

El cultivo de cacao se remonta a tiempos de las antiguas civilizaciones, excavaciones arqueológicas han encontrado semillas en templos ceremoniales probablemente utilizadas para fiestas o sacrificios; según la mitología Maya, ellos creían que Hunahpú les dio el cacao después de ser creados del maíz por la abuela Ixmucané, y desde entonces en abril celebraban para agradecer a su dios del cacao. Con las interpretaciones de jeroglíficos, análisis químicos y arqueobotánicos se plantean hipótesis sobre el inicio del uso de este fruto allá por el Formativo inicial hasta el Clásico tardío (García 2011, IICA 2017).

El cacao es un cultivo que se establece entre las latitudes 10° N y 10° S del ecuador, es decir en las regiones más cálidas y húmedas del globo, pertenece a la Familia Malvaceae y se pretende que su origen es Sur Americano y que fue domesticado en Mesoamérica (IICA & CATIEJ 2016). Además, se cree que existen tres tipos de cacao según la dominancia genética; el cacao criollo que es el más antiguo originario después de la dispersión desde Venezuela hacia Mesoamérica. El cacao forastero tiene una distribución entre la parte norte de Brasil y las Guyanas y por último el cacao trinitario que se produce del cruce espontáneo entre cacao criollo y forastero (Quintero & Díaz 2004, Batista 2009, García 2011, Dostert *et al.* 2012).

6.2. Producción mundial y nacional del cacao.

En datos de IICA & CATIEJ (2016) en los últimos diez años la producción del cacao a nivel mundial ha aumentado un 2% anual, pasando desde la producción de 8, 500,000 de ha de en el 2006 hasta 10, 000,000 ha de cultivo en el año 2013. Para el caso de América Latina y el Caribe la superficie pasó de 1, 450,000 ha a 1, 700,00 ha del área cultivada, es decir un crecimiento equivalente a un 17% de la superficie destinada al cacao. Sin embargo, El Salvador ha tenido muy poco crecimiento en comparación de los demás países Centroamericanos, quedando solo un lugar arriba de Belice, con una producción de menos de 1,000 ha. Este reducido crecimiento está relacionado a los sectores de producción que son principalmente cultivos de subsistencia, no obstante, gracias a las divisas que atrae lo convierte en un impulso para el establecimiento empresarial emergente, haciendo necesario plantear políticas y servicios de apoyo a la

cacaocultura y así no solo ayudar a la economía familiar, sino también a la producción como país.

Nuevamente en la región Centroamericana se está apostando al cultivo del cacao debido a las características que posee, una de las cuales lo destaca como uno de los cacaos más finos en sabor, gracias a ello atrae a los gustos más exigentes en cuanto a sabores exóticos y aromas frutales. No obstante, pese al resurgimiento del cultivo no se satisface ni la mitad de la demanda. Por ejemplo: El Salvador posee una demanda de 2,703.31 TM y produce sólo 800.45 TM, cubriendo solo 29.61% del total de demanda y el 70.39% restante lo cubre con importaciones Centroamericanas que en su mayoría son de origen nicaragüense (Méndez *et al.* 2011).

Según registros del Banco Central de Reserva (2018) menciona que entre los años 2000 y 2017 El Salvador paso de exportar US\$2.9 millones de cacao a US\$5.7 millones; produciendo un crecimiento en volumen de 2.4% en promedio durante estos años. No obstante, al crecimiento económico, para el 2018 se cultivó una superficie de 1,123 mz de cacao, que produjeron 7,988 quintales de semilla de cacao; equivalentes a US\$1, 079,178.8 en el mercado mayorista, es decir US\$ 135.1 por quintal. Sin embargo, a nivel internacional el valor por quintal nos supera por US\$ 60.1, muy superior a los precios nacionales.

6.3. Descripción botánica.

Reino: Plantae.
Clase: Magnoliopsida.
Orden: Malvales.
Familia: Malvaceae.
Género: *Theobroma*
Especie: *Cacao*

Con alrededor de 22 especies, una de las más importantes es *Theobroma cacao L.*, son árboles ramificados con hojas simples y con un fruto indehiscente carnosos, esta especie comprende una gran variedad de formas y poblaciones muy diferentes. Sin embargo, se han clasificado en tres variables que son: criollo, forastero y trinitario. La diferencia entre los tres tipos radica en la variabilidad genética, siendo el cacao forastero el más variable y el cacao criollo el mejor

definido, mientras que el cacao trinitario es el resultante en el cruce de cacao criollo y forastero definidas (Quintero & Díaz 2004, García 2011, Méndez *et al.* 2011, Dosert *et al.* 2012).

6.3.1. Requerimientos del cultivo de cacao.

Con base a su origen, el cacao es una planta de estrato bajo de los bosques húmedos tropicales en donde el clima es cálido y húmedo durante casi todo el año (Malespín 1982). De manera general el cultivo de cacao desarrolla su nivel de producción dependiendo de la expresión de dos factores climáticos: la temperatura y la precipitación (Cueto *et al.* 2007, Arvelo *et al.* 2016), sin embargo, existen otros factores ambientales que se deben considerar, como son: viento, humedad, luz, sombra, latitud, y el tipo de suelo (Malespín 1982, Paredes 2003, Quintero & Díaz 2004).

- **Temperatura:** Las zonas óptimas para el cultivo presentan media anual de 25 ° C, 21°C es el límite inferior y a una máxima no mayor de 30°C (Malespín 1982, Paredes 2003, Dubón & Sánchez 2011, Dostert *et al.* 2012, Arvelo *et al.* 2016, 2017).
- **Precipitación:** Se recomienda que sean menores entre 1800 mm/año hasta 2500 mm/año, precipitaciones mayores induce a enfermedades criptogámicas tales como la pudrición negra de la mazorca (*Phytophthora palmivora*), y en suelos con mal drenaje ocasiona un bloqueo de la respiración y absorción de nutrimentos conduciendo eventualmente a la muerte de la planta (Dubón & Sánchez 2011, Dostert *et al.* 2012, Arvelo *et al.* 2016, 2017).
- **Viento:** Se considera que las velocidades de viento de 1 m/seg no son perjudiciales para el cacao, pero velocidades superiores a 4 m/seg pueden ocasionar daños graves (Malespín 1982, Paredes 2003, Dubón & Sánchez 2011).
- **Humedad:** La humedad relativa adecuada para el cacao es aquella que se mantiene entre 70 % y 80 %. Porcentajes mayores de humedad favorece la incidencia de enfermedades fungosas como la mazorca negra y la moniliasis, los factores que influyen en la humedad son también el tipo de suelo y la sombra de otros árboles (Paredes 2003, Dubón & Sánchez 2011, Arvelo *et al.* 2016, 2017).
- **Luz:** El cacao es una especie umbrófila, es decir, para su desarrollo y producción requiere sombra (Malespín 1982, Cueto *et al.* 2007, Aguirre *et al.* 2010, Dubón &

Sánchez 2011), y se han utilizado diversas plantas para este fin, de acuerdo a los intereses, condiciones agroecológicas y socioeconómicas de cada región (Aguirre *et al.* 2010).

- **La sombra del cacao se agrupa en dos:** La sombra temporal que es utilizada mientras la planta llega a la altura apropiada, y la sombra permanente que es la que durará durante toda la vida de la planta, dichos árboles deben crecer mucho más rápido que la planta de cacao. La mayor radiación solar se requiere durante la floración y el llenado de frutos, por lo consiguiente, la regulación de la sombra debe hacerse en forma sincronizada, manipulando arreglos, podas y considerando los espaciamientos de los maderables, ya que este factor influye en los porcentajes de humedad del cultivo (Paredes 2003, Aguirre *et al.* 2010).
- **Latitud y altitud:** Según autores como Dubón & Sánchez (2011) y Arvelo *et al.* (2016, 2017) la zona tropical donde se dan condiciones para el cultivo de cacao se encuentra comprendida entre los 20° latitud norte y 20° latitud sur del ecuador. Así mismo, en áreas cercanas al ecuador las plantaciones desarrollan y producen normalmente hasta altitudes que llegan a 1400 msnm.
- **El tipo de suelo:** Desde el punto de vista físico el suelo del cultivo de cacao requiere suelos profundos (1.5 m), bien drenado, ricos en Nitrógeno, Fósforo, Potasio, con textura suelta, arcillosos agregados, franco arenoso y franco-limosos, que varían desde arcillas pesadas muy erosionadas hasta arenas volcánicas recién formadas y limos, con pH que oscile entre 4 y 7. (Denys 1962, Malespín 1982, Paredes 2003, Cueto *et al.* 2007, Johnson & Agüero 2008, Dubón & Sánchez 2011, Dostert *et al.* 2012, Arvelo *et al.* 2016, 2017).

6.4. El suelo.

El suelo es un cuerpo natural y complejo, el resultado de múltiples interacciones como el tiempo, el material parental, el clima, la vegetación, los organismos y la topografía, este flujo de energía es el que lo convierten en un sistema dinámico y de mucha importancia por su ubicación entre las capas de la tierra. Además, en el suelo se dan un sinnúmero de reacciones químicas que tienen una gran influencia en la formación y en la vida del mismo y demás habitantes (Ferrera & Alarcón 2001, Arroyave & Correa 2009, Elizalde 2009, Narváez *et al.* 2015).

El Suelo según USDA (1998) es por mucho la parte más diversa biológicamente de la Tierra. La red alimenticia del suelo incluye escarabajos, colémbolos, ácaros, gusanos, arañas, hormigas, nematodos, hongos, bacterias y otros organismos. Estos organismos mejoran la entrada y el almacenamiento de agua, la resistencia a la erosión, la nutrición de las plantas y la descomposición de la materia orgánica. Una amplia variedad de organismos proporciona controles y equilibrios a la red alimentaria del suelo a través del control de la población, la movilidad y la supervivencia de una estación a otra.

6.4.1. Formación del suelo.

Según Navarro & Navarro (2003) y Elizalde (2009), existen once componentes sólidos principales de la tierra y ocho componentes líquidos que se enlazan en un gran ciclo geológico que está dividido en una fase superficial y una fase profunda. En la fase superficial se llevan a cabo aportes de materia y energía que están determinados por los factores como los materiales parentales, las condiciones de relieve, condiciones del clima, características de la biota, el tiempo de evolución y las actividades humanas. Sin embargo, en este gran ciclo geológico muy pocos toman en cuenta las interacciones que realiza la biosfera, y por lo tanto tampoco al suelo.

En la fase superficial y profunda del ciclo geológico podemos diferenciar que están formados por ciclos o secuencias que forman parte de un todo, entre ellos se pueden mencionar: la secuencia de meteorización que es dada por diversos cambios atmosféricos, híbridos y bióticos en las rocas, luego tenemos al ciclo de erosión-sedimentación en el que se da la separación directa de elementos o iones o el desprendimiento físico de partículas individuales o agregados. La dilución se da en elementos y compuestos bastante solubles como Fe^{++} , CaCO_3 , NaCl , contenidos del suelo, biomasa o sedimentos. Este proceso es llevado a cabo principalmente por agua, sin embargo, en presencia de sustancia orgánica como los ácidos acético, cítrico, oxálico, entre otros, se acelera dicho proceso (Navarro & Navarro 2003, Elizalde 2009).

El siguiente paso es el ciclo biogeoquímico en el que interactúa la actividad biológica con el suelo, las rocas y las sustancias líquidas, y aunque ocurre en ambientes terrestres y acuáticos está condicionado siempre por la macro y microbiota presente. Por último, tenemos al ciclo sedimentario; o también llamado litogénesis exógena que, aunque incluye los ciclos anteriores,

termina siendo más complejo que los mismos, ya que se dan numerosas transformaciones y reincorporaciones a los demás ciclos (Navarro & Navarro 2003, Elizalde 2009).

6.4.2. Componentes del suelo.

Entre los componentes del suelo podemos encontrar elementos bióticos y abióticos, los cuales podemos dividir en físicos, químicos y biológicos; en los factores físicos encontramos la textura del suelo, infiltración y densidad aparente del suelo y la capacidad de retención del agua; en los factores químicos están: la materia orgánica, el pH, la conductividad eléctrica y la disponibilidad de elementos como Fósforo, Nitrógeno y Potasio; por último encontramos los elementos biológicos como bacterias, hongos, nematodos, lombrices, anélidos y artrópodos (Bautista *et al.* 2004, Narváez *et al.* 2015).

La riqueza nutricional de los suelos está estrechamente relacionada con el contenido de materia orgánica que es aportada por los seres vivos presentes en el suelo. Cuando la materia orgánica es muy escasa o no existe, las raíces se desarrollan muy cerca de la superficie sin llegar a profundizarse por la estructura compacta del suelo provocando un reducido crecimiento de las plantas y mala nutrición de la misma (Denys 1962, Paredes 2003, Narváez *et al.* 2015).

El contenido de materia orgánica depende de los residuos de las plantas, y los suelos cultivados no son la excepción. Sumado a estos restos se encuentran los cadáveres de los microorganismos, insectos, animales, entre otros. Al producto obtenido de la degradación de estos restos se le denomina humus; proceso llevado a cabo primeramente por las bacterias celulolíticas que conducen a la simplificación de la molécula y la formación de glúcidos sencillos; luego un conjunto de actinomicetos y hongos inducen una ciclación de los compuestos obtenidos, que con el tiempo se estabilizan para estar disponibles para la absorción de las plantas es por ello que el humus (Ilustración. 1) está constituido por diversas sustancias como glúcidos, taninos, resinas, grasas, aceites, pigmentos, compuestos nitrogenados, etc. (Navarro & Navarro, 2003).

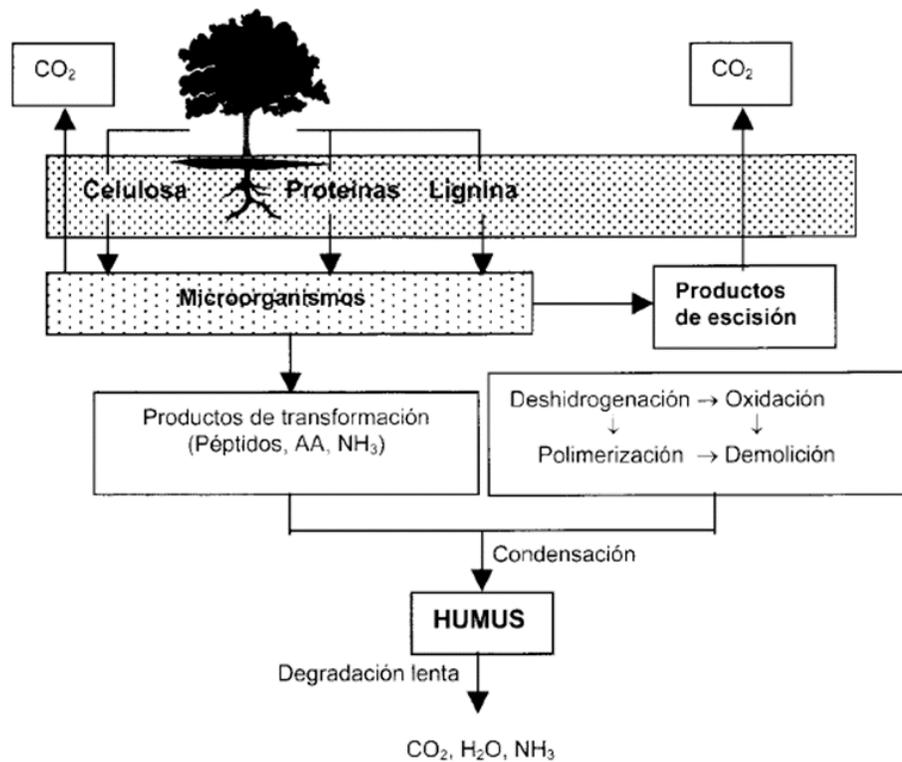


Ilustración 1. Mecanismo de formación de humos. Fuente: Navarro & Navarro (2003).

6.5. Rizósfera.

La rizósfera es definida por diversos autores, entre ellos la Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo (2001), Salazar & Ordoñez (2013) y López *et al.* (2015) como el área del suelo vecina a las raíces de las plantas, además es lugar donde se da la mayor actividad microbiana del suelo, y depende en gran medida del metabolismo de la planta, por tanto, se puede encontrar una gran cantidad de seres vivos. En otras palabras, es el producto de la transformación de la materia orgánica e inorgánica bajo los efectos del clima a través del tiempo y otros factores antes mencionados.

Según la naturaleza del material original (materia parental) y los cambios que éste sufra por acción del ambiente, surgen suelos con diferentes propiedades físicas, químicas (Dubón & Sánchez 2011, López *et al.* 2015), existen también los procesos biológicos que actúan simultáneamente para mejorar o empobrecer la condición del suelo y las funciones que éste desempeña en beneficio de las plantas que crecen en el (Aguirre *et al.* 2010, Franco 2009, Salazar & Ordoñez 2013).

6.6. Población microbiana del suelo.

La densa población microbiana de la rizósfera es responsable de la descomposición, mineralización de complejos orgánicos, translocación de bioproductos y minerales (Salazar & Ordoñez 2013, Pacasa *et al.* 2017). Para llevar a cabo estas funciones son necesarias las relaciones que establecen el ecosistema-planta que son de tipo interacciones específicas y son expresadas de acuerdo a los diferentes genotipos de las especies presentes que también dependen de la disponibilidad nutricional del suelo. Las relaciones que se establecen entre los hongos microscópicos y bacterias son esenciales en el equilibrio ecológico del suelo porque participan en la degradación de nutrientes, facilitando así el proceso de absorción de las plantas (Higa & Wididana 1991, Higa & Parr 1994, Franco 2009, López *et al.* 2015).

A pesar de la importancia de los microorganismos y de sus relaciones en el suelo son pocos los estudios del área, se estima que en el suelo existen miles de especies organizadas en poblaciones y en comunidades, y que dichas comunidades pueden contener aproximadamente 35.000 especies de bacterias y 1500000 especies de hongos, aunque solo se han identificado entre un 8% de bacterias y un 1% de hongos (Higa & Parr 1994, Franco 2009, Swift *et al.* 2011, López *et al.* 2015, Ordoñez 2017) y según Hawksworth (1991) y Pfenning (2012), no existe una estimación fidedigna del número total de microorganismos presentes en el suelo. En un suelo rico en nutrientes lo adecuado es encontrar cantidades de bacterias en un rango aproximado de 10^6 a 10^8 células por gramo de suelo pesado, es decir, aproximadamente 10,000 kg/ha, que representa un 5% de total de materia orgánica, para el caso de los hongos debido a su mayor tamaño, representa de un 10 a un 20% de un total de materia orgánica, sería al menos 10^5 a 10^6 organismos por gramo de suelo (Calvo *et al.* 2008, Ortiz 2010, Salazar & Ordoñez 2013, Crespo 2013).

Entre esta diversidad de microorganismos se les ha clasificado como benéficos o perjudiciales, de acuerdo en cómo afectan la calidad del suelo, el crecimiento, rendimiento y salud de las plantas; se consideran microorganismos benéficos aquellos que son capaces de descomponer desechos y residuos orgánicos, desintoxican suelos tratados con pesticidas, suprimen enfermedades en las plantas y patógenos transmitidos por el suelo, además mejoran el ciclo de los nutrientes y producen compuestos bioactivos como: vitaminas, hormonas y enzimas que estimulan a la planta. Por el contrario, los microorganismos que se consideran dañinos al cultivo

son aquellos que inducen enfermedades en las plantas, estimulan patógenos, inmovilizan nutrientes y producen tóxicos al cultivo afectando negativamente el crecimiento y producción. Siguiendo esa perspectiva es necesario conocer el mecanismo de acción de los microorganismos sobre las plantas (Higa & Wididana 1991, Franco 2009), tal como se desarrolla en este trabajo con la relación de la ecología microbiana y el cultivo del cacao.

6.7. Ecología microbiana.

Mediante estudios realizados a los microorganismos en su hábitat o ambiente natural, la ecología microbiana ha podido reconocer multitud de funciones de gran trascendencia para la continuidad de la vida sobre el planeta y para el desarrollo económico del hombre (Frioni 2006), tales como su función fotosintetizante de microorganismos cloróticos y la incorporación al suelo de millones de toneladas de desechos orgánicos, cadáveres de animales, restos vegetales, excrementos y basuras. Estos materiales son transformados por la actividad microbiana, en moléculas simples, tales como el anhídrido carbónico y los nitratos, dos de las materias primas de fácil asimilación por las plantas imprescindibles para la sustentación de la vida (Ferrera & Alarcón 2001, Frioni 2006, Mora 2006).

En general, **las bacterias** descomponen los sustratos de fácil uso, los compuestos de carbono simples tales como las exudaciones de las raíces y los residuos frescos de las plantas. Los desechos producidos por las bacterias se convierten en materia orgánica. Este desecho es menos descomponible que el material original de plantas y animales, pero puede ser utilizado por un gran número de organismos. Algunos de estos “descomponedores” pueden incluso, descomponer pesticidas y agentes contaminantes en el suelo. Son especialmente importantes en la inmovilización y retención de nutrientes en sus células y, por lo tanto, previenen la pérdida de nutrientes de la zona de las raíces (Soroa *et al.* 2009, Montiel 2016).

Los hongos descomponen la materia orgánica más resistente, reteniendo en el suelo los nutrientes obtenidos bajo forma de biomasa y liberación de dióxido de carbono (CO₂). El material menos resistente es descompuesto primero mientras que el material más resistente, como la lignina y las proteínas, es descompuesto en varias etapas. Muchos de los productos de desecho secundario son ácidos orgánicos, por ello los hongos ayudan a incrementar la

acumulación de materia orgánica rica en ácidos húmicos, resistentes a una degradación posterior (Soroa *et al.* 2009, Burgos 2014, Montiel 2016).

6.8. Relación entre nutrición microbiana y las plantas.

6.8.1. Nutrición microbiana.

La nutrición microbiana en los microorganismos se da mediante la absorción de sustancias químicas que estimulan su crecimiento, nutrición, desarrollo y que además son empleadas en la síntesis de sus materiales celulares y que también brindan energía, a los efectos de realizar sus procesos metabólicos, dividirse, moverse, esporular (Frioni 2006). La célula microbiana está constituida por agua en su mayor parte y otra fracción se distinguen los macroelementos: C, O, H, N, S, O, K, Ca, Mg, Fe, que la célula toma en cantidades relativamente grandes, mientras que los llamados micronutrientes se requieren en niveles muy bajos (Higa & Parr 1994, Montiel 2016).

La disposición de estos elementos se encuentra en dos fuentes generales de nutrientes que son provenientes de las rocas parentales de donde se van degradando hasta convertirse en aniones de los que una parte son absorbidos por los coloides y otra parte está disuelta en el suelo, pero a pesar de esta fuente de nutrientes solo un 2% está disponible para la planta, el otro 98% se encuentra en los restos orgánicos, materiales húmicos y compuestos inorgánicos de difícil solubilidad o minerales (Higa & Parr 1994, Soroa *et al.* 2009, Montiel 2016).

Los principales elementos utilizados para la nutrición microbiana son el Carbono, Nitrógeno y Azufre; obtenidos de fuentes orgánicas e inorgánicas. El N lo obtienen desde fuentes inorgánicas reducidas como amonio (NH_4^+) pasando por el N-orgánico (R-NH₂), N₂ (diazótrofas o fijadores de N₂), NO₃⁻. La fuente más sencilla de asimilar la constituyen las sales de amonio, ya que el N se encuentra en el mismo estado de óxido-reducción que los aminoácidos. La célula emplea energía creciente al asimilar nitratos y nitrógeno molecular. El S puede ser nutriente como sulfuros en general tóxicos para la mayoría de los MO), S-orgánico (puentes sulfuro o disulfuro), S⁰, formas inorgánicas de S hasta sulfatos. El Fe es asimilado en estado reducido (Fe⁺⁺) o en complejos orgánicos (EDTA-Fe) (Montiel 2016).

6.8.2. Nutrición vegetal.

Principalmente para Navarro & Navarro (2003) las plantas obtienen de dos formas sus nutrientes, el dióxido de carbono proveedor de carbono y oxígeno del ambiente pasa a través de los estomas de las hojas y el agua y demás elementos químicos a través de las raíces, no obstante, también las hojas pueden absorber pequeñas cantidades. La mayor parte de nutrientes es absorbida por los pelos radicales de las raíces de las plantas, se cree que al menos existen de 200 a 300 pelos por milímetro cuadrado de raíz, y además de este papel, también son los encargados de secretar sustancias para solubilizar algunos elementos como fosfatos, carbonatos, óxidos de hierro, ente otros (Frioni 2006, Montiel 2016).

6.8.3. El papel fundamental de los microorganismos para la nutrición vegetal.

Las exudaciones producidas en las raíces de las plantas son descompuestas por las bacterias que producen materia orgánica que es utilizado por otros organismos importantes en la inmovilización y retención de nutrientes en sus células, previniendo así la perdida de nutrientes en la zona de la raíz (Frioni 2006, Mora 2006, Soroa *et al.* 2009).

Uno de estos organismos son los hongos que descomponen la materia orgánica más resistente producida por las bacterias transformándolos en biomasa y liberando dióxido de carbono (CO₂), otros de los compuestos transformados son la lignina y las proteínas (Ferrera & Alarcón 2001, Frioni 2006, Mora 2006, Burgos 2014).

Otro de los papeles fundamentales de los microorganismos es la participación en el ciclaje de nutrientes. En el ciclo del Carbono, los hongos juegan un papel fundamental puesto que son los organismos responsables de transformar alrededor del 80% de la celulosa que se produce y ésta es la mayor reserva de carbono en el mundo y el polisacárido más abundante de la naturaleza. La degradación de la celulosa se hace por las celulasas producidas por los organismos que la transforman a glucosa libre o a oligosacáridos. Cabrera (2000) encontró especies de *Trichoderma*, *Penicillium* y *Clonostachy* con alta actividad celulítica, también encontró especies de *Aspergillus*, *Fusarium*, *Verticillium*, *Beauveria*, *Chaetomium*, *Lentinus*, y *Poria*. Algunas bacterias como *Bacillus*, *Clostridium*, *Nocardia* y *Streptomyces*.

El Nitrógeno es otro elemento esencial, relacionado con el crecimiento vegetal, su ausencia provoca el descenso de la producción de los cultivos, este elemento se encuentra disponible en la atmósfera y mayormente en los restos vegetales; no obstante, no todos los organismos son capaces de fijarlo y disponer de este elemento, de ahí el papel fundamental de los microorganismos del suelo que mediante un conjunto de procesos bioquímicos lo transforman a compuestos amónicos, nitrosos y nítricos que son asimilables por las plantas. Algunos de los microorganismos capaces de estas funciones son algunas cianobacterias, y organismos capaces de generar simbiosis. Organismos no simbióticos que destacan en esta función son pertenecientes a los géneros *Azotobacter*, *Azomonas*, *Azotococcus*, *Beijerinckia*, *Derxia*, *Clostridium*, *Nostoc*, *Anabaena* y *Gleocapsa* (Navarro & Navarro 2003).

En el ciclo del Fósforo (P) hay algunos microorganismos, principalmente hongos y bacterias, que son capaces de solubilizarlo mediante la acidificación del medio liberando protones y/o ácidos orgánicos como cítrico, oxálicos o succínicos. Cabrera (2000) encontró especies de hongos como *Penicillium*, *Aspergillus*, *Scytalidium* y *Paecilomyces*, presentando una alta actividad solubilizadora de Fósforo.

Para Navarro & Navarro (2003) y Frioni, (2006), las deficiencias de todos estos elementos en la nutrición de las plantas provocan diversas enfermedades como clorosis en las hojas, retraso de crecimiento, necrosis, baja producción, entre otras. Y de ahí la importancia de las reacciones y relaciones que ocurren en el suelo gracias a los microorganismos.

6.9. Hongos.

Los hongos son microorganismos eucariotas cuya forma de reproducción puede ser sexual o asexual, unas de las principales características de estos microorganismos es la ausencia de clorofila y la presencia de un compuesto polisacárido llamado quitina en su pared celular; la ausencia de clorofila obliga a estos organismos a nutrirse de una forma diferente, para ello deben obtener los nutrientes del ambiente que los rodea como glucosa, lactosa y galactosa, almidón y celulosa, además de aprovechar la disponibilidad de Nitrógeno (Arias & Piñeros 2008).

Los hongos microscópicos poseen una estructura llamada micelio formado por hifas, en estado latente o de reposo suelen formar las esporas que son las células reproductoras, que al

reproducirse de forma sexual difieren en la estructura que las contiene, en cambio, al reproducirse de manera asexual simplemente se dividen de la hifa (Agrios 2005, Arias & Piñeros 2008).

Estos microorganismos crecen en alrededor de 5-7 días en condiciones de pH óptimo de 5-6, se puede describir el crecimiento en tres fases; la fase de crecimiento no visible que consta de la germinación de las esporas y un crecimiento no perceptible, el crecimiento visiblemente rápido del micelio a partir de las extremidades de las hifas, en esta fase es donde utiliza los compuestos adquiridos por el medio ambiente y muy probablemente al finalizar esta etapa producirá esporas y la fase de disminución de peso seco y la autólisis que produce aminoácidos, amoníaco y compuestos de Fosforo orgánico y Azufre (Arias & Piñeros 2008).

Autores como Arias & Piñeros (2008) y Kuhar *et al.* (2013) describen que el reino de los hongos está compuesto por cinco Phylum:

- Phylum Chitridiomycota: clasificados según la estructura de la zoospora, con micelio cenocítico, reproducción sexual o asexual, sus paredes celulares están compuestas principalmente por quitina y glucano.
- Phylum Zigomycota: micelio cenocítico, zigosporas sexuales contenidas en un zigosporangio, pared celular compuesta por quitina, quitosano y ácido poligalacturónico.
- Phylum Ascomycota: hifas septadas con un poro a ambos lados, un ascosporangio contiene sus ascosporas que provienen ascas, con paredes compuestas por quitina.
- Phylum Basidiomycota: hifas septadas, con basidiosporas producidas por basidios.
- Hongos mitospóricos: conocidos como hongos imperfectos o Deuteromycetes, caracterizados por la ausencia de la fase sexual, reproduciéndose por división nuclear mitótica.

Organismos parecidos a los hongos son los del Phylum Oomycota, Reino Straminipila o Heterokonta, patógenos de plantas con paredes compuestas por glucano con núcleo diploide a diferencia de los hongos que es haploide, además de la composición de las membranas que en los hongos es de ergosterol y de los Oomycetes son de esteroides de plantas (Agrios 2005, Arias & Piñeros 2008, Kuhar *et al.* 2013).

6.9.1. Hongos del suelo.

A los hongos microscópicos presentes en el suelo se le puede dividir también en especies que son saprofitas y simbióticas. Se considera hongos saprofitos a los que obtienen sus nutrientes a partir de los restos vegetales y animales, con la descomposición de esta materia orgánica estos organismos aportan grandes cantidades de CO₂ a la atmósfera y colaboran al reciclaje de nutrientes que son esenciales para el suelo y las plantas (Heredia & Arias 2008, Faggioli & Cabello 2014, Burgos 2014, Cruz 2015).

Las especies de hongos simbióticos, considerados así por su forma de vida, confieren resistencia a las plantas de otros organismos patógenos, dichos organismos también reciben el nombre de Hongos Micorrízicos Arbusculares (HMA) u hongos endomicorrízicos (Ferrera & Alarcón 2001, Román 2003, Hogg 2005, Heredia & Arias 2008, Franco 2009, Domínguez *et al.* 2013, Montiel 2016).

Una forma de actuar de los HMA es explicada por Brundrett & Kendrick (1989), Barrer (2009), Domínguez *et al.* (2013) y Montiel (2016) mediante el mecanismo de acción del efecto rizosférico (Ilustración 2): primero ocurre la germinación de esporas del hongo para luego colonizar las células corticales de la planta huésped, posteriormente ocurre una invaginación del plasmalema que termina en vesículas de almacenamiento de lípidos dentro de las células. Es así como produce una estructura ramificada en donde el hongo extiende su micelio conectando el suelo rizosférico con el suelo no rizosférico.

El hongo coloniza biotróficamente la corteza de la raíz, sin causarle daño a la planta formando parte fisiológica y morfológicamente de la misma, logrando así incrementar la superficie de absorción de la radícula, también, permite la protección frente estrés biótico y abiótico. Se ha demostrado que este tipo de simbiosis hace que las plantas puedan obtener elementos como Fósforo, Cobre y Zinc (Brundrett & Kendrick 1989, Harrison 1997, Ferrera & Alarcón 2001, Román 2003, Barrer 2009, Franco 2009, Domínguez *et al.* 2013, Montiel 2016).

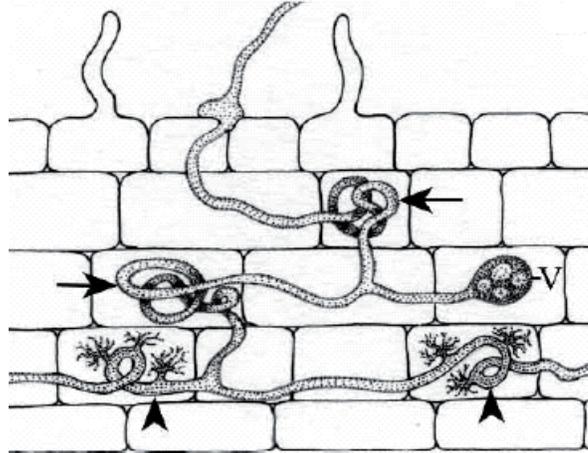


Ilustración 2. Mecanismo de acción de hongos en las raíces de las plantas, nótese la formación de vesículas y mecanismos Arbusculares dentro de la célula. Fuente: Barrer (2009).

Además del mecanismo de acción de los HMA, Barrer (2009), Fajardo *et al.* (2011) y Montiel (2016) también resaltan el papel que juegan en la remediación de suelos perturbados, y la información que aportan acerca del estado de resiliencia de los ecosistemas y de los avances en la vegetación.

Estudios como el de Ortiz (2010), han logrado identificar una gran abundancia de hongos lignolíticos y con actividad peroxidasa en suelos agrícolas los cuales se agrupan en 9 géneros diferentes: *Aspergillus spp.*, *Verticillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Mortierella spp.*, *Penicillium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Memmoniella spp.*, *Humicola spp.* y *Trichoderma spp.* Además, estos organismos son capaces de hidrolizar la celulosa y la hemicelulosa (Uribe & Melgarejo 2012).

Algunos hongos fitopatógenos corresponden a los géneros como *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, *Rhizoctonia spp.* y *Colletotrichum spp.*, ellos producen diversas enfermedades como marchitez en las hojas, disminución de la producción, mala calidad de la cosecha, entre otros (Reyes *et al.* 2015).

6.9.2. Descripción de géneros fúngicos con importancia agrícola.

Género: *Aureobasidium*.

Tiene distribución mundial, más común en zonas templadas del planeta y se aísla frecuentemente del suelo, hojas y madera de los árboles. Género de amplia distribución, considerado un saprofito de gran importancia en el ciclaje de nutrientes (Iza & Díaz 2017, INSPQ 2019d).

Género: *Acremonium*

El género *Acremonium* tiene una distribución mundial: se encuentra comúnmente en el suelo y en el material vegetal muerto, así como en el heno y los hongos en descomposición; algunas especies también se pueden encontrar en los productos alimenticios. Muchas especies de *Acremonium* son principalmente saprófitas y no patógenas. Sin embargo, ciertas especies son patógenas para las plantas y los humanos. (Arias & Piñeros 2008, INSPQ 2019e).

Género: *Alternaria*

El género *Alternaria* abarca cientos de especies. La mayoría son saprofitas, encontrándose en el suelo, material en descomposición y aire. Como patógeno reducen el rendimiento de las cosechas o afectan a los vegetales almacenados. Es necesaria una identificación precisa de las especies porque cada nombre entraña un conjunto de características (preferencias para el crecimiento, patogenicidad, producción de metabolitos secundarios) que permiten predecir el comportamiento del hongo (Rivas & Mühlauser 2014).

Género: *Aspergillus*

El género *Aspergillus* juega un papel importante en el ciclo del carbono en el suelo ya que desdoblan el almidón, además de participar en la descomposición de la celulosa, la hemicelulosa y la quitina; además participa en el ciclo del fósforo, degradando compuestos carbonados y nitrogenados del suelo, y liberan el fósforo como fosfato asimilable para las plantas (Castellanos *et al.* 2006). Sin embargo, es denominado junto a otros géneros como “patógenos fúngicos”, representan una amenaza común tanto para la producción agrícola como para la salud de las personas sanas o inmunodeficientes. Pueden causar enormes pérdidas económicas en la

agricultura y pérdidas alimenticias por deterioro, también producen la inhibición de la germinación junto con cambios de color, calentamiento, amohosado, apelmazado y finalmente podredumbre de las semillas (Carrillo 2003, De Lucca 2007).

Género: *Beauveria*

B. bassiana, es uno de los patógenos más importantes que afectan los insectos. Es común encontrarlo en restos de insectos o bien en insectos que quedan adheridos a las hojas de la planta. Es un parásito facultativo, esto es que puede crecer tanto en su hospedante como sobre medios artificiales. En condiciones favorables para el entomopatógeno se desarrolla micelio, conidióforos y conidias sobre la cutícula del insecto, proporcionando otra fuente de inóculo para afectar otros individuos (Castillo *et al.* 2012, Damas 2012).

Género: *Curvularia*

El género *Curvularia* agrupa un gran número de especies capaces de ser patógenos facultativos de las plantas y del suelo. Pueden causar diferentes tipos de daños en hojas, tallos, flores y semillas, que abarcan desde pequeñas manchas hasta lesiones de mayor tamaño. Estas afectaciones abarcan un gran número de cultivos, muchos de ellos de gran importancia económica (Estrada & Sandoval 2004).

Género: *Chaetomium*

Chaetomium es una especie fúngica común, con una distribución mundial omnipresente y está muy extendida en el suelo y en los materiales vegetales en descomposición, pero las concentraciones de esporas en el aire exterior no son muy altas. En los sitios de interior, estos hongos viven en la celulosa, y se encuentran en la madera, el compost, las láminas de roca, la paja y materiales similares. También es conocido como un hongo de podredumbre blanda para madera blanda y dura (INSPQ 2019a).

Género: *Cladosporium*

Son mohos dematiáceos, ampliamente prevalentes en el aire exterior y en material orgánico en descomposición; Estos hongos se encuentran frecuentemente como contaminantes en los alimentos. Este género comprende especies comunes saprófitas, fitopatógenas y patógenas

humanas. Los miembros saprófitos comunes de *Cladosporium* se encuentran en muchos tipos diferentes de suelo, así como en todo tipo de senescencia y materia vegetal muerta; También se sabe que algunas especies crecen en materiales de construcción húmedos (Iza & Díaz 2017).

Género: *Fusarium*

El género tiene distribución mundial, varias de sus especies son fitopatógenas e infectan una amplia gama de cultivos, por lo que es un problema agrícola importante debido a que reduce la calidad y el rendimiento, y más importante por producir micotoxinas responsables de enfermedades graves en los seres humanos y animales (Carrillo 2003, Leyva *et al.* 2017). Es un patógeno facultativo con alta capacidad de sobrevivir en materia orgánica y a la vez tiene la capacidad de atacar la planta cuando ésta tiene algún tipo de desbalance (Retana *et al.* 2018).

Género: *Gliocladium*

Entre las especies de *Gliocladium* que se han caracterizado por ser potentes agentes de control biológico, se destacan dos registrados como biofungicidas comerciales: *G. catenulatum* y *G. virens*. Otros estudios han demostrado su potencial como agente inhibidor del crecimiento de patógenos asociados a leguminosas (garbanzos, lentejas y frijol negro), entre los que se mencionan *Alternaria alternata*, *Chaetomium spp.*, *Penicillium citrinum*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Rhizopus nigricans* y *Fusarium oxysporum*. *G. virens* inhibe de manera significativa el crecimiento radial de dichos hongos patógenos (Castillo *et al.* 2015).

Género: *Paecilomyces*

Este hongo es el enemigo natural de muchas plagas que pertenecen a los órdenes Hemíptero y homóptera, dentro de los que se encuentran las moscas blancas *Trialeurodes* y *Bemisia*. También tiene efecto contra dípteros y lepidópteros (Chan 2009, Iza & Díaz 2017).

Género: *Penicillium*

El potencial solubilizador de *Penicillium* lo vuelve un hongo de suma importancia para la fertilización de fósforo en los suelos, cuya capacidad reside en excreción de ácidos orgánicos, como los ácidos fórmicos, acético, propiónico, láctico, fumárico, entre otros que ayudan a solubilizar los fosfatos inorgánicos y las enzimas como fosfatasas y nucleasas que liberan el

Fosforo de la materia orgánica proporcionando así este elemento a la planta (Ñústez & Acevedo 2005)

Una de las características significativas de este género, es la producción de metabolitos secundarios entre ellos ácido penicílico, ocratoxina A, cicloclorotina, entre otros, cabe mencionar que la producción de estos metabolitos es con el fin de competir por el sustrato ante situaciones adversas, siendo muchos de ellos dañinos a la salud de las plantas y difícilmente posible inactivarlas (Carrillo 2003, Allende *et al.* 2013).

Género: *Phytophthora*

Las especies del género *Phytophthora* son patógenos hemibiotróficos de gran importancia en cultivos agrícolas y forestales ya que causan grandes pérdidas económicas en un amplio rango de especies vegetales en el mundo. La pudrición negra de la mazorca es una de las enfermedades más devastadoras causada por varias especies ocasionadas al cultivo de cacao (Fernández *et al.* 2018). Es un patógeno que habita el suelo capaz de ocasionar diferentes enfermedades en los hospederos tales como pudrición en raíces y frutos, marchitamiento de la planta en general, esto ocasiona pérdidas a escala mundial debido a la reducción de producción del cultivo afectado (Mendoza M. 2015, Pabón & Castaño 2015).

Género: *Pythium*

El género *Pythium* incluye especies ubicuas que ocupan variados nichos ecológicos. La mayoría de éstas se comportan como saprótrofes en varios tipos de suelos y en ambientes acuáticos como lagos y canales, o sistemas de irrigación; otras son importantes patógenos de plantas: altamente patógenos o de mediana patogenicidad, causando enfermedades, reduciendo los rendimientos y su calidad. Infectan principalmente almácigos de diferentes cultivos provocando muerte de semillas y plántulas en pre y post emergencia por afectar al embrión, hipocótilo y radícula. En plantas herbáceas y adultas causan menor crecimiento, síntomas de deficiencia de nutrientes y reducción del rendimiento, por disminuir la biomasa radicular debido a la destrucción de raíces de absorción y pelos radicales (Palmucci 2015).

Género: *Trichoderma*

Martínez *et al.* (2013) registran la capacidad antagónica y estimulante de las cepas de *Trichoderma* aisladas en cada área; entre las características hacia los patógenos, cabe destacar la producción de antibióticos, micoparasitismo, desactivación de enzimas de patógenas. Además de acelerar el desarrollo de las raíces en las plantas huésped, induciéndoles resistencia al estrés generado por el medio ambiente que la rodea, facilita la solubilización y absorción de nutrientes, lo que colabora en gran medida al crecimiento vegetal (Argumedo *et al.* 2009, Infante *et al.* 2009).

6.10. Bacterias.

Las bacterias son organismos unicelulares procariontes, carente de núcleo por lo que su ADN se encuentra disperso en el citoplasma, con ausencia de organelos como mitocondrias, cloroplastos o aparato de Golgi. No obstante, su sencilla organización cuenta con una capa de polisacáridos que forman su pared celular que le brinda rigidez y protección, además, son capaces de sobrevivir a ambientes hostiles gracias a la formación de endosporas. Se reproducen asexualmente por medio de división celular denominada fisión binaria, que produce copias genéticamente idénticas a la célula original. En condiciones ideales, algunas bacterias se duplican en cuestión de minutos por lo que podrían en principio, dar origen a una población de millones de bacterias en poco tiempo (Junco & Rodríguez 2001, Frioni 2006).

El crecimiento microbiano puede estar influido por una variedad de factores, tanto físicos como nutricionales. Los factores físicos incluyen: pH, la temperatura, concentración de oxígeno y la humedad. Los factores nutricionales comprenden: la disponibilidad de carbono, nitrógeno, azufre, fósforo y otros minerales, y en algunos casos vitaminas (Higa & Wididana 1991, Junco & Rodríguez 2001, Ramos & Zúñiga 2008, Eilers *et al.* 2012, Ordoñez 2017).

La acidez o alcalinidad de un medio es expresada en términos de pH, los microorganismos tienen un pH óptimo en el cual se obtiene el mejor crecimiento. Las bacterias son clasificadas como acidófilas, neutrófilas y alcalinófilas de acuerdo con las condiciones de acidez o alcalinidad que ellas puedan tolerar. Las acidófilas se desarrollan en un rango que va desde pH 0.0 hasta 5.4. Las neutrófilas crecen en un rango de pH 5.4 hasta 8.5; incluyéndose en este grupo a la mayoría

de bacterias que causan enfermedades en el hombre. Las alcalinófilas se desarrollan entre un pH 7.0 hasta 11.5 (Junco & Rodríguez 2001, Eilers *et al.* 2012, Ordoñez 2017).

La mayoría de las bacterias se desarrollan a un rango de temperatura por encima de 30 °C, pero las temperaturas mínimas y máximas varían considerablemente para las especies. Las bacterias pueden ser clasificadas de acuerdo con el rango de temperatura al cual se desarrollan: psicrófilas 15-20 °C, mesófilas 30-37 °C y termófilas 50 y 60 °C; y a su vez subclasificadas como obligadas o facultativas. Obligada significa que el organismo debe tener las condiciones ambientales específicas, y facultativa que el organismo es capaz de tolerar las condiciones ambientales, pero puede desarrollarse, además, en otro ambiente. Y las bacterias, especialmente las heterótrofas, pueden ser divididas en aerobias que requieren oxígeno para crecer, y anaerobias, las cuales no lo requieren (Ramos & Zúñiga 2008, Ordoñez 2017).

6.10.1. Las bacterias en el suelo.

Así como los hongos establecen una simbiosis con las raíces de las plantas también existe un grupo de bacterias endófitas que colonizan diferentes compartimientos de las plantas como lo son el apoplasto, los espacios intracelulares y los vasos del xilema. Estas bacterias estimulan el crecimiento de las plantas gracias a la movilización de nutrientes. Además, producen reguladores de crecimiento vegetal, protegen de fitopatógenos y colaboran a mejorar la estructura del suelo (Ferrera & Alarcón 2001, Jaizme & Rodríguez 2008, Franco 2009, Soler *et al.* 2012, Pérez & Chamorro 2013, Porcel 2017).

También, se ha demostrado que las bacterias juegan un papel importante en la biorremediación del suelo a través de tres mecanismos, el incremento de la superficie de la raíz y la producción de pelos radiculares, el incremento de la disponibilidad de los metales y el incremento de la transferencia de metales solubles de la rizósfera hasta la planta (Pérez & Chamorro 2013). Ejemplo de este proceso son las bacterias Gram negativas por medio de los transportadores ABC y la proteína TonB secretan sideróforos y eliminan los complejos de sideróforos de Fe (III) luego estos están disponibles para ser absorbidos por los pelos radiculares de las plantas (Aguado *et al.* 2012, Sessitsch *et al.* 2013). Es así como las bacterias juegan un papel muy importante desde la descomposición, transporte y absorción de nutrientes para el desarrollo de las plantas.

Además, *Azospirillum* spp. es uno de los géneros más estudiados como promotores de crecimiento vegetal gracias a la producción de fitohormonas como el Ácido Indol Acético este microorganismo logra aumentar el desarrollo radicular de las plantas para una mejor absorción de nutrientes (Soler *et al.* 2012, Prado 2013).

Pseudomonas son solubilizadoras del fósforo presente en los herbicidas con base de glifosfato (Martínez N. *et al.* 2012, Pérez & Chamorro 2013), además producen metabolitos bioactivos fitoestimulantes y también producen metabolitos tóxicos que actúan como biopesticidas.

Bacillus spp., son los más abundantes en la rizósfera y son productoras de fitohormonas, solubilizan y movilizan el fósforo, inhiben la síntesis de etileno en las plantas e inducen la resistencia sistémica de patógenos (Porcel 2017, Kumar *et al.* 2017). Estos géneros de bacterias que coloniza la rizósfera, son conocidas por la producción de fitohormonas que ayudan al crecimiento vegetal, influyen inhibiendo indirectamente los agentes patógenos y que además las enzimas líticas actúan como biocontroladores; una de las fitohormonas más conocida es el Ácido Indol Acético: responsable de la división, expansión y diferenciación de las células (Soler *et al.* 2012, Pérez & Chamorro 2013).

Cabe mencionar que también participan en el ciclo del Nitrógeno, elemento importante en la composición de proteínas, material genético, clorofila, entre otros (Cubillos 2009), gracias a procesos enzimáticos de óxido-reducción estos microorganismos disponen a las plantas y al suelo de Nitrógeno asimilable, debido a las implicaciones funcionales o fisiológicas, se puede decir que estos organismos pueden ser “fijadores de Nitrógeno, proteolíticos, amonificantes, nitrificantes y desnitrificantes”. Entre los géneros de bacterias edáficas que destacan podemos encontrar *Nitrosomas* spp., *Nitrosococcus* spp., *Nitrosospira* spp., *Nitrobater* spp., *Nitrospira* spp., *Citrobacter*, *Comamonadaceae*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Microvirgula*, *Pantoea*, entre otros (Cubillos 2009, González S. 2012).

Otro de los grupos más importantes de bacterias que podemos encontrar en el suelo son los actinomicetos: bacterias Gram positivas, caracterizados por formar filamentos ramificados como los hongos, se pueden identificar en las placas debido a su apariencia seca, su olor a suelo húmedo debido a la producción del metabolito llamado geosmina. Su gran importancia radica en la diversidad de sus productos: antibióticos, antifúngicos, enzimas, inhibidores enzimáticos,

pesticidas, sustancias promotoras de crecimiento vegetal, entre otros. Se cree que aproximadamente un 20-60% de la microbiota del suelo está formada por géneros del orden de los Actinomycetales (Soler *et al.* 2012, Martínez *et al.* 2017, Parada *et al.* 2017). Un estudio realizado por Dávila *et al.* (2013) demostró que los actinomicetos son bio-controladores de patógenos como *Alternaria spp.*, *Rhizoctonia spp.* (Díaz *et al.* 2018), *Fusarium spp.* y *Colletotrichum spp.* (Salazar & Ordoñez 2013, Pérez & Chamorro 2013, Reyes *et al.* 2015).

Entre los géneros que más destacan de los actinomicetos son: *Streptomyces spp.*, *Micromonospora spp.*, *Actinomadura spp.*, *Streptovercillium spp.*, *Actinoplanes spp.*, *Nocardia spp.*, *Saccharopolyspora spp.* y *Streptosporagium spp.* (Franco 2009, Reyes *et al.* 2015, Evangelista & Moreno 2007).

Streptomyces posee mayores estudios por la producción de metabolitos secundarios, que cumplen además funciones particulares relacionadas con la interacción bacteria-planta-ambiente y como sustancias tóxicas y señalizadoras (Pérez & Chamorro 2013).

6.10.2. Descripción de familias bacterianas con importancia agrícola.

Familia: Bacillaceae

El género *Bacillus spp.* está asociado al control de enfermedades fúngicas en las plantas causadas por *Fusarium spp.* (Rojas *et al.* 2011), además de producir cierta sustancia nociva para insectos.

Estudios como el de Borriss (2011) y Swain & Ray (2006) asocian a bacterias de esta familia con el grupo de rizobacterias promotoras de crecimiento (PGPRs), además, se les asocia como controladores biológicos (Iza & Díaz 2017).

Familia: Lactobacillaceae

En 1986 se registra la primera aplicación de probióticos para mejorar la calidad del agua y tratar infecciones bacterianas, Martínez C. *et al.* (2012) mencionan que bacterias de la familia Lactobacillaceae pueden mejorar la digestibilidad de nutrientes, aumentar la resistencia al estrés y estimular la reproducción de las plantas.

Familia: Enterobacteriaceae

Algunos de estos géneros están relacionados con enfermedades humanas, pudiendo también causar enfermedades en los vegetales; pueden causar pudrición de tejidos que llevan a pérdidas en la producción de vegetales (Mendoza L. 2014, Iza & Díaz 2017).

Familia: Pseudomonadaceae

Estudios como los de Akintui *et al.* (2015) afirman demostrar la capacidad de este género en degradar el herbicida conocido como 2,4 Diclorofenoxiacético utilizado en la agricultura como controlador de maleza en los cultivos, responsable también de influenciar negativamente en la biodiversidad del suelo.

Familia: Actinomycetaceae

Esta familia de bacterias ha sido explotada durante mucho tiempo debido a la producción de metabolitos secundarios bioactivos que incluyen gran cantidad de antibióticos microbianos para el control de fitopatógenos (Iza & Díaz 2017, Hemant & Bhushan 2011).

Familia: Streptomycetaceae

El grupo de las Actinobacterias, incluye a la familia de los Streptomicetos que son microorganismos rizosféricos ampliamente distribuido en los ecosistemas naturales, participan en la degradación y mineralización de una gran cantidad de compuestos bioactivos de auxinas y giberelinas, por lo que son catalogadas como promotores del crecimiento vegetal (PGP) (Condori *et al.* 2019)

6.11. Importancia de la agroecología.

La sostenibilidad agrícola ha cobrado especial interés en los últimos años, ya que este tipo de manejo de los agroecosistemas repercute en beneficios para el hombre, así como para el balance ecológico y agroecológico. Gran parte de la productividad de los cultivos está determinada por la fertilidad del suelo, que puede ser evaluada con base en sus características físicas (densidad, estructura, porosidad, etc.), químicas (actividad de las arcillas, potenciales de óxido-reducción, materia orgánica, etc.) y biológicas (microorganismos que conforman la microflora y microfauna, además de la meso y macrofauna) (Restrepo *et al.* 2000).

Las interacciones que se derivan de estas tres características producen cambios significativos en los ciclos biogeoquímicos del suelo y en la disponibilidad de nutrientes para las plantas. De esta forma y con base en el manejo de los diversos elementos que componen a los sistemas agrícolas, es posible generar agroecosistemas sostenibles cuyo flujo de energía (entrada y salida) sea balanceado, lo que permite que la funcionalidad del agroecosistema se autorregule y que requiera cada vez menos la aplicación de insumos energéticos (fertilizantes y otros agroquímicos) (Restrepo *et al.* 2000, Ferrera & Alarcón 2001).

Una estrategia para regular permanentemente las actividades nocivas que empeoran el estado actual del suelo, es el uso de instrumentos como políticas públicas que limiten el uso de agentes tóxicos y promuevan la agricultura orgánica. El Movimiento Agroecológico Latinoamericano (MAELA) lo define como “cambiar a una visión que conjugue aspectos sociales, ambientales, económicos y culturales que se transforme en un elemento indispensable para un modelo de desarrollo sustentable” (Ferrera & Alarcón 2001, Arroyave & Correa 2009, ICCA 2017).

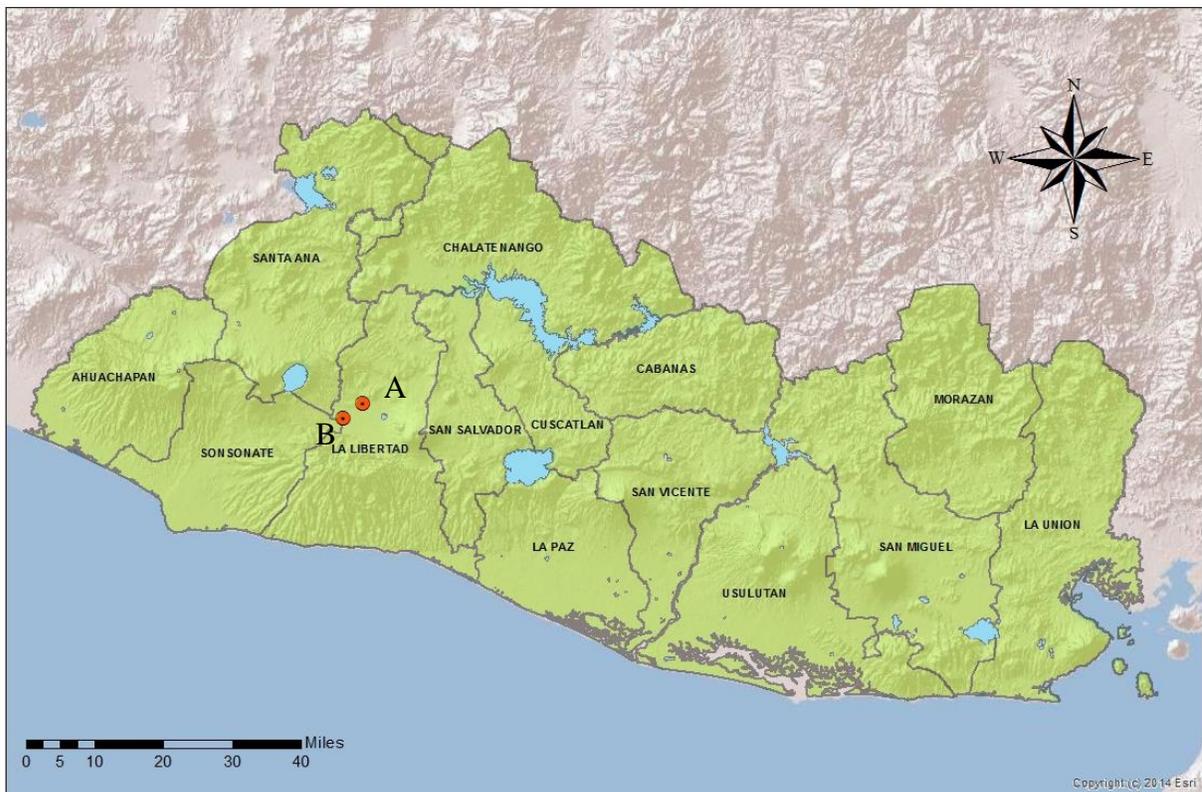
La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura en su documento Políticas Públicas a favor de la Agroecología en América Latina y el Caribe (2017), establece algunas regulaciones que conducirían a una agroecología, entre ellos destacan una regulación ambiental, reducción y uso de plaguicidas, regulación de la agrobiodiversidad y de los organismos genéticamente mejorados y la regulación del uso de la tierra. Además, propone un programa de incentivos para que las personas practiquen actividades amigables con el medio ambiente. En la sostenibilidad agrícola es de gran importancia tomar en cuenta el rol que desempeñan los microorganismos que habitan en él, a partir del funcionamiento equilibrado de los ecosistemas.

Para apoyar esta iniciativa se hacen necesarios estudios que identifiquen la presencia de agentes ecológicos que colaboren a la implementación de sistemas agrícolas ecológicos.

VII. METODOLOGÍA.

7.1. Descripción del sitio de estudio

Este estudio se llevó a cabo en dos sitios de muestreo de El Valle de Zapotitán, situado en el plano alto occidental entre el Lago de Coatepeque y el Volcán de San Salvador, el área está formada por una parte del municipio del Congo del departamento de Santa Ana; parte de los municipios de Izalco, San Julián y Armenia del departamento de Sonsonate y parte de los municipios de Ciudad Arce, San Juan Opico, Colón y Sacacoyo del departamento de la Libertad. El Valle de Zapotitán, (Ilustración 3) cuenta con una elevación de 460 msnm, con promedios de precipitación anual de 1695 mm, lluvias regulares entre los meses de mayo a octubre, con máximas en julio. La temperatura de esta área varía entre los 22.3 a 25.5 °C y de 30 a 34.5 °C (OEA & CONAPLAN 1974, SNET 2010, MARN 2015).



Fuente: Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales (MARN) y Centro Nacional de Registros (CNR) (2005)

Elaborado por: Carlos Alberto Amaya (2020)

Ilustración 3. Ubicación geográfica de los sitios de muestreo. (A) Parcela experimental San Andrés del CENTA. (B) Finca privada “La Montañita”. Elaborado en ArcGis, junio 2020 por Carlos Amaya.

7.2.Fase de campo

7.2.1. Diseño de muestreo

El estudio constó de dos fases: fase de campo y fase de laboratorio. En la fase de campo se tomaron cuatro muestras compuestas de cada sitio de muestreo por mes, haciendo un total de 24 muestras compuestas tomadas durante la investigación. En la fase de laboratorio ejecutada posterior a cada extracción, se procesaron las muestras en el Laboratorio de Microbiología Agrícola del Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova” CENTA, ubicado en el Km 33 ½, carretera a Santa Ana, municipio de Ciudad Arce, departamento de La Libertad.

7.2.2. Duración de la fase de campo

La fase de campo tuvo una duración de 3 meses, comprendido entre los meses de agosto a octubre de 2019, durante este periodo se realizaron tres muestreos en cada sitio, llevándose a cabo la extracción de muestras compuestas, las cuales fueron trasladadas al Laboratorio de Microbiología Agrícola para procesarlas.

7.2.3. Parcelas

Los dos sitios de muestreo se ubican en el Valle de Zapotitán, la parcela experimental de San Andrés del CENTA, en el municipio de Ciudad Arce con coordenadas: latitud 13,805604 y longitud -89,398726, con un área de 2 manzana de cultivo; la segunda parcela ubicada en el municipio de Sacacoyo, en la finca privada “La Montañita”, con coordenadas: latitud 13.774502 y longitud -89.440354, con un área delimitada de 2 manzanas. Ambas parcelas separadas por una distancia de 5.5 Km.

7.2.4. Extracción de la muestra.

Como parte del protocolo de inocuidad y previo a la extracción, fue importante tomar en cuenta la desinfección de las herramientas con alcohol al 70 % (pala, barreno y cubeta), los demás materiales: bolsas y guantes, fueron desechables (Mckean 1993, Latorre 2007, Calvo *et al.* 2008).

En los dos sitios de muestreo se establecieron cuatro puntos: A, B, C y D. Siguiendo el método de Schweizer (2011) de cada punto se extrajeron 10 submuestras al azar trazando un patrón en zig-zag (Ilustración 4), haciendo un total de 40 submuestras por sitio de muestreo. De cada punto las submuestras fueron homogenizadas para obtener una muestra compuesta de aproximadamente 1 Lb, al finalizar fueron transportadas las cuatro muestras compuestas de cada sitio de muestreo en una hielera para su análisis en el laboratorio de Microbiología Agrícola.

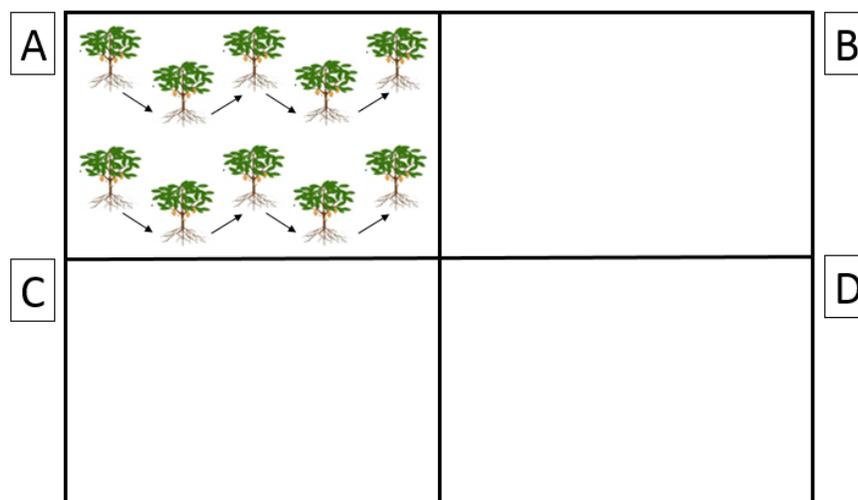


Ilustración 4. Esquema representativo de los puntos de muestreo tomados al azar en forma de zig-zag. Tomado de Schweizer (2011).

En la ilustración 5 se muestra el proceso para la extracción de cada submuestra, donde se introdujo el barreno a 50 cm de la planta de cacao a una profundidad de 20-30 cm como lo indica MINAM (2014) y se muestran los parámetros en la Tabla 1. Luego se colocó la submuestra en una bolsa plástica, proceso para la extracción de las 10 submuestras que al finalizar fueron mezcladas homogéneamente (Ilustración 6) y de ahí se extrajo alrededor de una libra para formar la muestra compuesta. Las cuatro muestras compuestas de cada sitio fueron transportadas en una hielera al laboratorio (Mckean 1993, Latorre 2007, CENTA 2005, Calvo *et al.* 2008, Schweizer 2011, Salazar & Ordoñez 2013, Mendoza & Espinoza 2017).

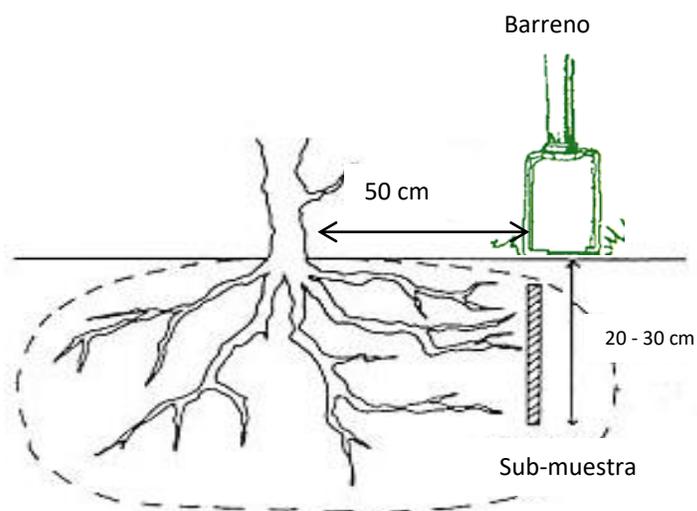


Ilustración 5. Ejemplo de toma de sub-muestra en punto de muestreo según el Manual de MINAM (2014).

Tabla 1. Profundidad de toma de muestra según uso de suelo según el Manual de MINAM (2014).

Usos del suelo	Profundidad del muestreo (capas)
Suelo agrícola	0 – 30 cm (1)
	30 – 60 cm
Suelo Residencial / Parques	0 – 10 cm (2)
	10 – 30 cm (3)
Suelo Comercial / Industrial / Extractivo	0 – 10 cm (2)

- 1) Profundidad de aradura.
- 2) Capa de contacto oral o dermal de contaminantes.
- 3) Profundidad máxima alcanzable por niños.



Ilustración 6. Proceso de extracción de las submuestras: (A) Selección del árbol, (B) Limpieza del área, (C) Obtención de la muestra, (D) Mezcla y homogenización. Fuente: fotografías del autor.

7.2.5. Temperatura del ambiente.

Se registraron las temperaturas del ambiente en cada sitio de muestreo, colocando durante cinco minutos un termómetro portátil en el área cercana de donde se extrajo la muestra.



Ilustración 7. Toma de temperatura del ambiente en los sitios de muestreo. Fuente: fotografías del autor.

7.3. Fase de laboratorio.

Después de trasladar las muestras al laboratorio, se realizaron las diferentes mediciones de los parámetros físicos-químicos de las muestras y fueron analizadas con técnicas microbiológicas para determinar la presencia de microorganismos bacterianos y fúngicos que luego fueron aislados, identificados y preservados de cada uno de los sitios de muestreo.

7.3.1. Registro de parámetros físico-químicos.

Con motivo de sustentar los resultados, fueron medidos algunos parámetros físico-químicos de las muestras de suelo obtenidas.

Determinación de pH.

Para determinar el pH se pesaron 10 gramos de suelo de cada punto de muestreo y cada uno se diluyeron en 50 mL de agua destilada, luego se agitó por 5 minutos a 225 rpm en el agitador de plataforma orbital para Erlenmeyer, luego se determinó el pH con el potenciómetro medidor de PH THERMO SCIENTIFIC ORION STAR A211 (Ilustración 8) (Mckean 1993, Latorre 2007, Calvo *et al.* 2008).

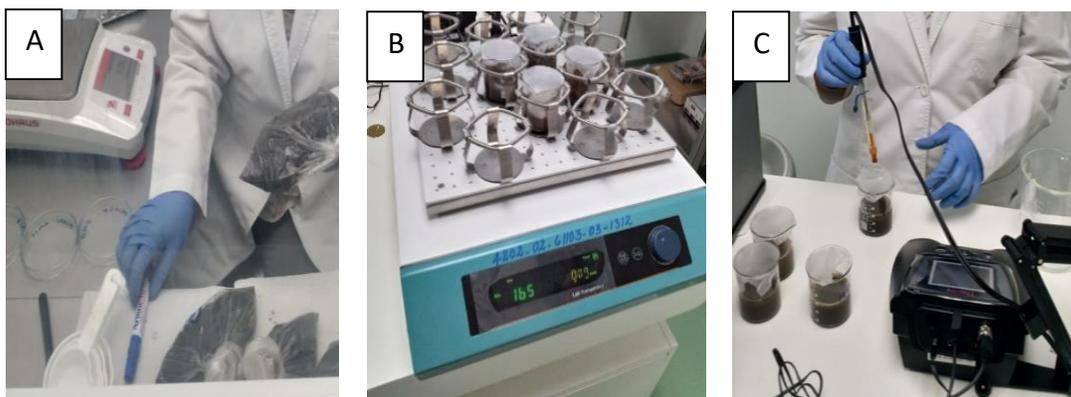


Ilustración 8. Pasos para determinación de pH de cada punto de muestreo. Fuente: fotografías del autor.

La Humedad.

Para determinar la Humedad de la muestra se pesaron 10 gramos de suelo fresco en placas Petri, que luego se llevaron a la estufa MMM GROUP STERILICELL (Ilustración 9) a 105° por 24 horas. Finalizado el tiempo de evaporación del agua en la muestra, se pesó nuevamente la placa con el suelo seco y se determinó el porcentaje de Humedad de cada sitio de muestreo con la ayuda de la fórmula de Porcentaje de Humedad (Mckean 1993, Latorre 2007, Calvo *et al.* 2008).

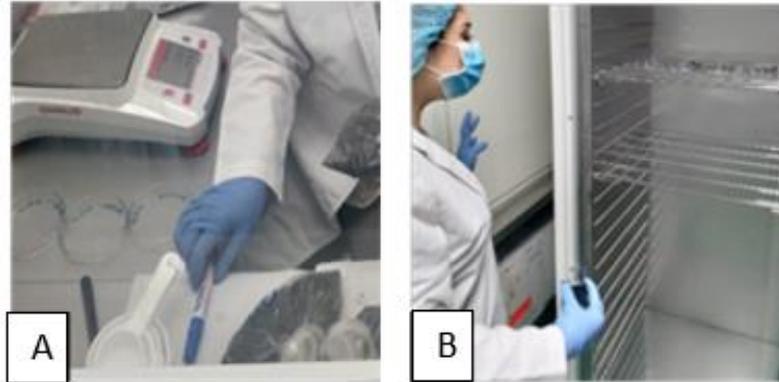


Ilustración 9. Pasos para determinar Humedad de muestras. Fuente: fotografías del autor.

Fórmula de Porcentaje de Humedad:

$$W (\%) = \left(\frac{W_w - W_s \text{ a } 105^\circ \text{C}}{W_s \text{ a } 105^\circ \text{C}} \right) \times 100$$

Dónde:

W: contenido de humedad expresado en porcentaje.

W_w: peso del agua existente en la masa de suelo.

W_s: peso de las partículas sólidas.

W_{ag}: masa del agua.

Ejemplo: para el caso del primer muestreo en San Andrés en el punto A los resultados fueron:

W_w= 10gramos

W_s= 6.81 gramos

$$\text{Entonces: } W (\%) = \left(\frac{10 - 6.81}{6.81} \right) \times 100 = 46.84\%$$

Textura.

La textura del suelo se determinó mediante la Prueba de manipulación según la FAO (2009) y con apoyo de la Guía resumen (Anexo 3) presentado por Frioni (2016) siguiendo los pasos:

Como se muestra en la Ilustración 10, tomando con la mano una pequeña porción de suelo se humedeció poco a poco con una piseta (A) hasta formar una bolita (B), la cual sí al dejarse caer se desmoronaba representaba la cantidad de arena en la muestra, el siguiente paso fue determinar un suelo franco-arenoso formando un cilindro (C) y un semicírculo (D). El último paso consistió en formar un círculo completo (E) que dejaba en evidencia la cantidad de arcilla en el suelo.



Ilustración 10. Pasos para determinar textura de suelo. A: suelo humedecido, B: formación de bolita, C: formación de cilindro, D: formación de V, D1: V partida, E: formación de círculo, F: círculo entero, F1: círculo partido. Fuente: fotografías del autor.

7.3.2. Diluciones.

Por cada punto de muestreo, se pesaron 10 gramos de suelo y se diluyó en 90 mL de agua estéril, posterior se agitó por 10 minutos a 225 rpm en el Agitador de Plataforma Orbital. Con una pipeta se tomó 0.1 mL de la dilución y se mezcló en 0.9 mL de agua estéril en crioviales, desde la dilución 10^2 a 10^6 . Con otra pipeta de cada serie de diluciones se tomaron 0.1 mL para inocular sobre las placas Petri, se esparció la solución con ayuda de una espátula de Digralsky en Agar Nutritivo para el crecimiento de bacterias y en PDA para el crecimiento de hongos (Ilustración 11). El medio de Agar Nutritivo se preparó con 250 mg de fluconazol para inhibir el crecimiento de hongos y el medio de PDA se preparó con 500 mg de amoxicilina para inhibir el crecimiento de bacterias.

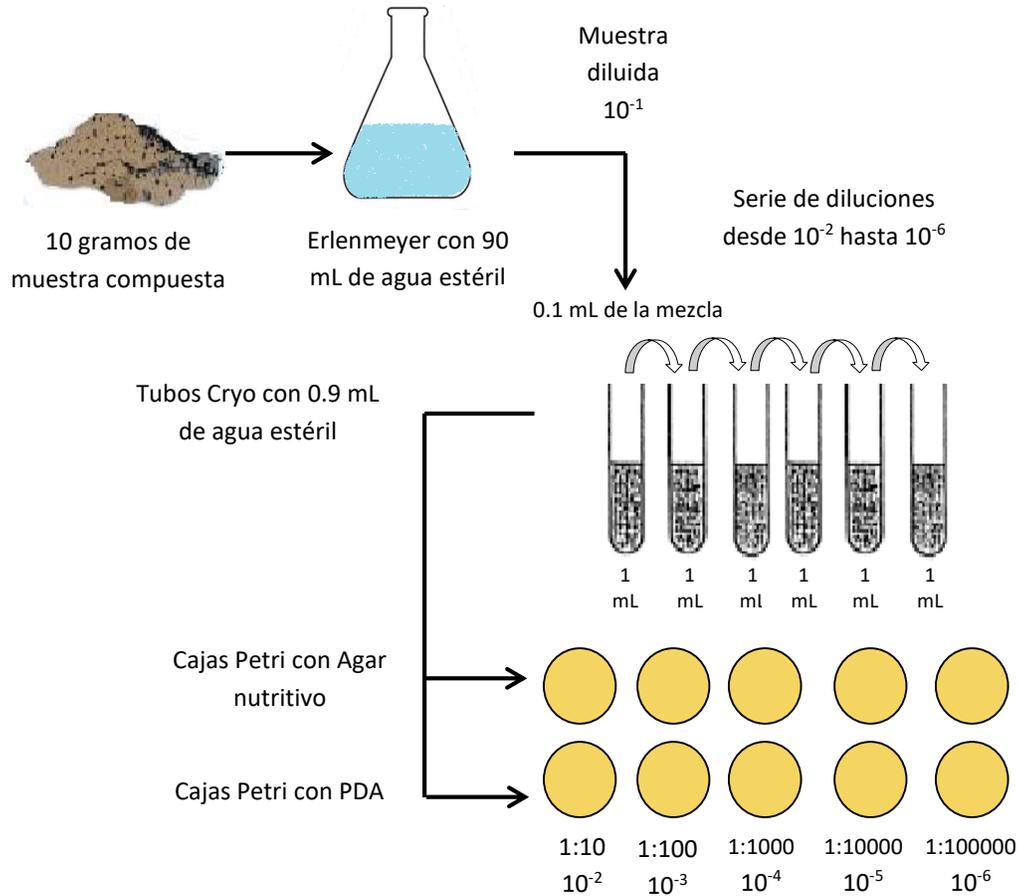


Ilustración 11. Procedimiento para recuento de microorganismos utilizando diluciones seriadas de las muestras. Fuente: elaboración propia tomando ejemplo de Benintende *et al.* (2009).

La incubación para bacterias fue por 24-48 horas a 37 °C y para hongos fue por 5 días a 28 °C sin acceso a luz. Al término de las 48 horas de incubación de las bacterias se procedió a la observación y descripción del crecimiento bacteriano. Seguido se hizo la aislación o purificación de cada bacteria descrita. Los hongos después de incubarse por 5 días, se procedió a la observación y descripción de cada colonia, luego se hizo el aislamiento o purificación de cada hongo (Calvo *et al.* 2008, Latorre 2007).

7.3.3. Contabilización de cepas y Unidades Formadoras de Colonias.

Se determinó las UFC mediante la contabilización de las colonias (Ilustración 12) que crecieron en los medios de cultivos, además con la ayuda del Factor de Corrección de Humedad se calculó las UFC en peso seco del suelo (Izurieta 2011, Maite & Barcina 2011).

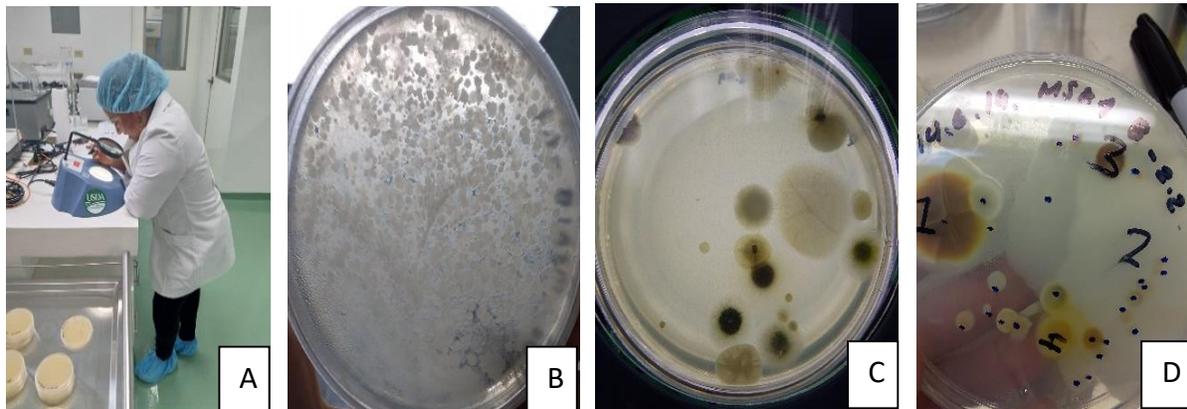


Ilustración 12. Procedimiento para contabilizar el crecimiento de colonias. Fuente: fotografías del autor.

Formula porcentaje de Humedad relativa:

$$H (\%) = \frac{W_{ag}}{W_s} \times 100$$

Dónde:

Ws: peso de las partículas sólidas.

Wag: masa del agua.

Ejemplo: Primero se contabilizó el número de colonias que crecieron en las placas duplicadas y se dividió entre dos, para obtener las UFC de la dilución:

MSA1A dilución -5: Placa 1= 69

Placa 2= 68

Proceso: $69+68= 137/2= 68.5 \times 10^5 = 6.8 \times 10^6$

Luego se multiplicó por el Factor de Corrección de Humedad, que para el caso se obtuvo mediante la fórmula:

$$FCH = \frac{\% H + 100}{100} = 1.46$$

Es decir: $6.8 \times 10^6 (1.46) = 9.8 \times 10^6$ UFC

7.3.4. Aislamiento de cepa.

Se aislaron las colonias con características diferentes entre sí, considerando: la forma, color, textura, elevación, entre otras, como algunas particularidades de cada colonia, (consultar Anexo 1 y 2). Para obtener las cepas puras de bacterias se procedió a tomar una porción de la colonia con la ayuda de un asa microbiológica en argolla y utilizando la técnica de siembra por agotamiento en estrías se sembró en placas Petri con Agar Nutritivo (Ilustración 13), incubándose a 33°C por 24-48 horas (Calvo *et al.* 2008, Latorre 2007).

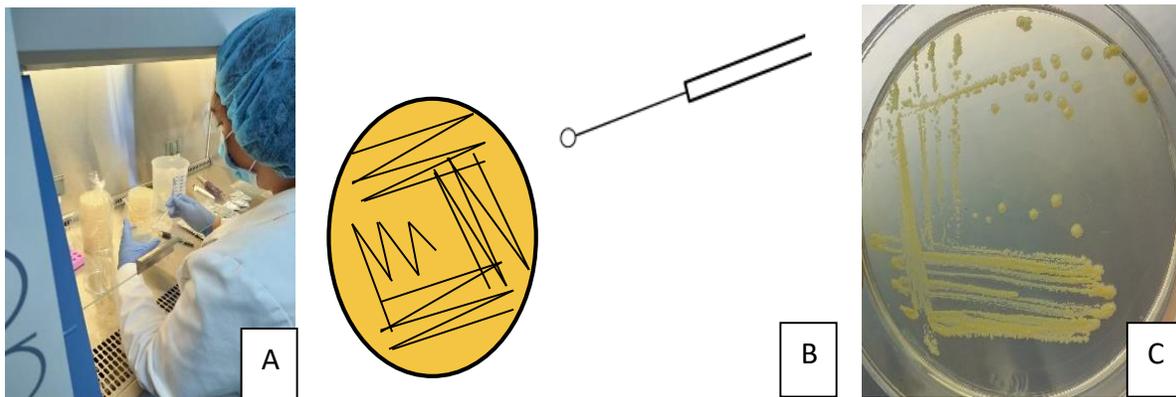


Ilustración 13. Procedimiento de aislamiento y obtención de cepas puras de bacterias. Fuente: fotografías del autor.

Para la identificación de bacterias se utilizaron pruebas bioquímicas que apoyaron a la identificación de las colonias aisladas las cuales se detallan:

7.3.5. Tinción de Gram.

La tinción de Gram es una de las pruebas microbiológicas rutinarias para la identificación de bacterias, procedimiento basado en las características de la pared celular, la cual le confiere

propiedades determinantes a cada microorganismo y las clasifica en dos grandes grupos: bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas (Ilustración 14) (López *et al.* 2015).

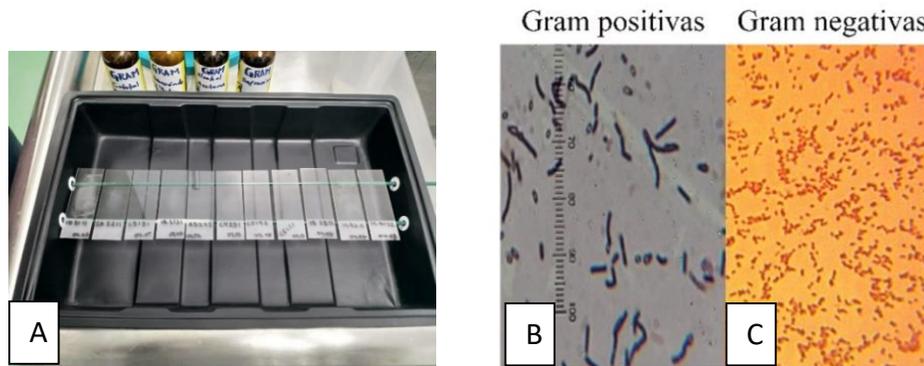


Ilustración 14. (A) Prueba de tinción de Gram; (B) bacilos positivos; (C) cocos negativos.

Fuente: fotografías del autor.

7.3.6. Catalasa.

Para la prueba de catalasa se procedió tomando una porción de la colonia en cuestión y depositándola en una gota de agua estéril sobre un portaobjetos; si al añadir una gota de peróxido de hidrógeno se evidencia la formación de burbujas, la reacción es catalasa positiva, caso contrario es catalasa negativa, caracterizando así, la acción de la enzima en la bacteria, como se muestra en la Ilustración 15 (Fernández *et al.* 2010).

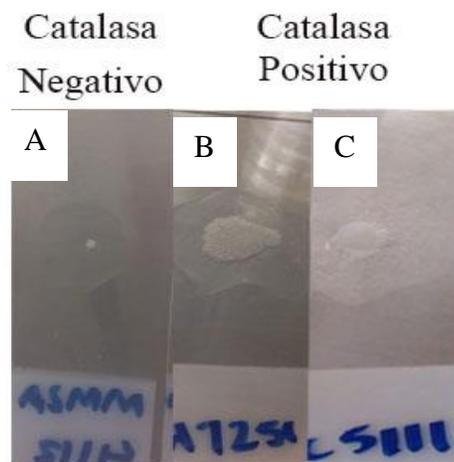


Ilustración 15. Prueba de catalasa: (A) catalasa negativa; (B y C) catalasa positiva. Fuente:

fotografías del autor.

7.3.7. Prueba SIM: Producción de Sulfuro, Indol y motilidad.

El SIM Medium (Sulfide, Indole, Motility) o Medio de Sulfuro Indol es utilizado para la identificación de Enterobacterias Gram negativas por medio de la producción de sulfuro, la formación de turbidez en el tubo y el viraje de color al agregar unas gotas del reactivo de Kovacs (Benavides 2007).

En tubos con medio SIM fueron inoculadas las cepas puras de las bacterias que fueron caracterizadas según su morfología, y se incubaron a 37 °C por 24 horas. La producción de azufre se evidencia con el cambio de coloración del medio, de amarillo a oscuro. La motilidad de la bacteria se observa por la turbidez que se forma alrededor de la línea de siembra. Y la producción de Indol se evidencia al añadir unas gotas del reactivo de Kovacs y se observa la formación de un anillo de coloración rosada a naranja sobre el medio, como se puede ver en la Ilustración 16.

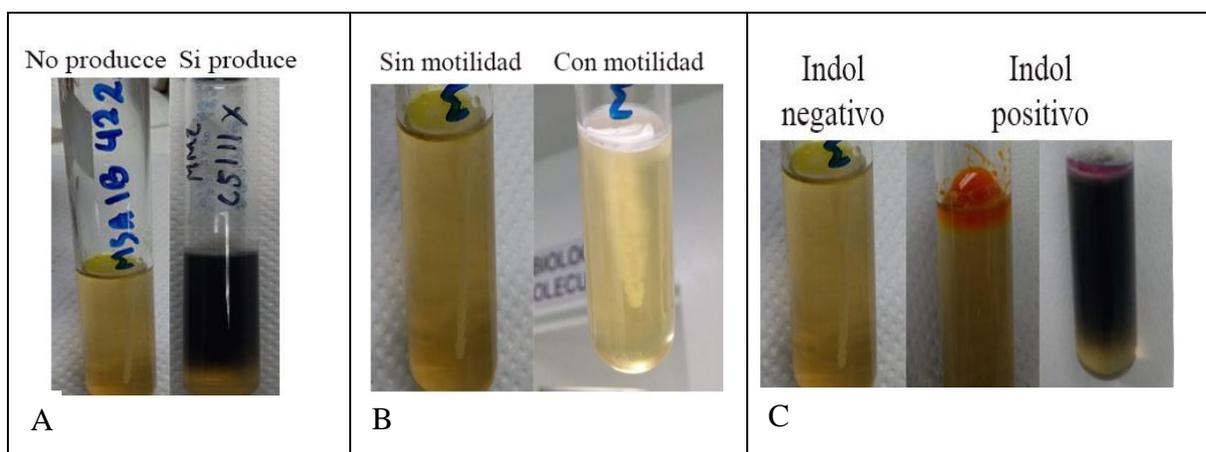


Ilustración 16. Lectura de prueba del Medio SIM: (A) producción de azufre; (B) motilidad de la bacteria; (C) producción de indol. Fuente: fotografías del autor.

7.3.8. Prueba TSI (Triple Sugar Iron Agar).

Para la identificación de Enterobacterias usualmente se utiliza la prueba de medio TSI, cuya tipificación radica en la capacidad de bacterias de fermentar glucosa, lactosa y sacarosa, además de observarse la producción de sulfuro ferroso por la formación de un precipitado oscuro (Benavides 2007).

Se inocularon las cepas puras de las bacterias en tubos con medio TSI de forma inclinada, y se incubaron a 37°C durante 24 horas. Los resultados fueron interpretados según la coloración de cada tubo como lo muestra la Imagen 17: si la bacteria en cuestión fermenta glucosa, acidificará el medio haciendo virar a color amarillo el fondo del tubo, mientras que si no es fermentadora de glucosa el medio permanecerá de color rojo; si la bacteria es fermentadora de lactosa o sacarosa, acidifica el medio en su superficie volviéndolo de color amarillo, mientras que si no lo es, la superficie permanecerá de color rojo; si la bacteria produce ácido sulfhídrico se producirá un ennegrecimiento del tubo; y finalmente si la bacteria es productora de gas, aparecerá rotura o desplazamiento del medio (Ilustración 17).



Ilustración 17. Resultados de prueba de TSI. Fuente: fotografías del autor.

7.4. Identificación microbiológica de hongos.

La identificación de hongos fue llevada a cabo mediante la descripción morfológica de las colonias macroscópicas y la descripción microscópica de la porción de micelio obtenida durante la técnica de cinta adhesiva (Calvo *et al.* 2008, Latorre 2007) con la ayuda de las claves taxonómicas de Barnett & Hunter (1998), Carrillo (2003), Agrios (2005) y Kirk *et al.* (2008).

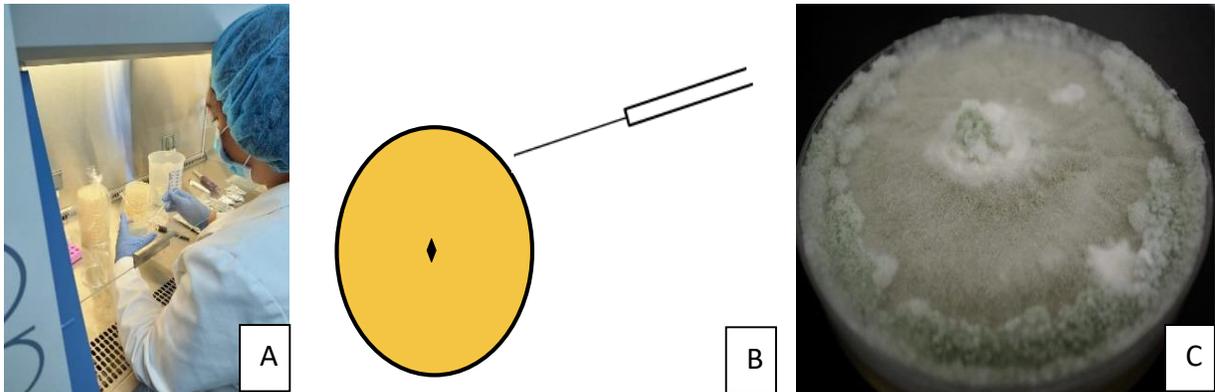


Ilustración 18. Aislamiento de hongos, esquema de siembra por punción en placa y cepa pura de hongo microscópico. Fuente: fotografías del autor.

7.4.1. Técnica de tinción con cinta adhesiva.

La Ilustración 19 muestra la técnica que se llevó a cabo para la identificación de hongos, tomando una porción de cinta adhesiva de un extremo y presionándola ligeramente sobre la periferia de la colonia a identificar, se garantiza la observación de la mayoría de las estructuras de los hongos microscópicos tales como conidióforos, conidios, esporangios y rizoides, muy importantes para la identificación, luego se colocó sobre un porta objetos con una gota de azul de lactofenol y se hicieron las observaciones al microscopio al 40X y al 100X (Benavides 2007).

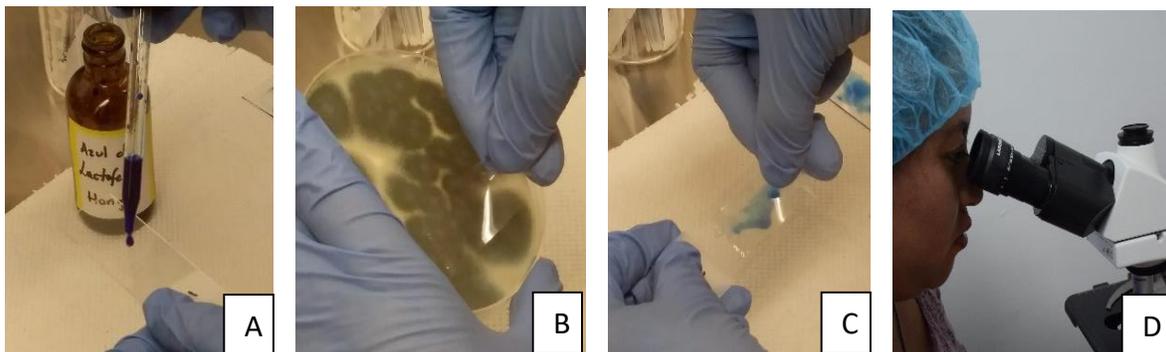


Ilustración 19. Procedimiento para la identificación de hongos microscópicos por técnica de cinta adhesiva: (A) gota de azul de lactofenol sobre portaobjetos; (B) extracción de micelio con cinta adhesiva; (C) fijación de micelio extraído sobre portaobjeto; (D) observación del microscopio. Fuente: fotografías del autor.

7.5. Conservación de microorganismos.

Con el fin de la implementación de un protocolo de conservación de microorganismos se seleccionó el método por Congelación (1 año de conservación) debido a que sólo paraliza el crecimiento de las células microbianas, garantizando así la estabilidad genética de las cepas (Arencibia *et al.* 2008).

Proceso llevado a cabo preparando una solución de glicerol en agua destilada al 30% (V/V), con un asa microbiológica en argolla se tomó una porción de la colonia a preservar y se depositó en 10 mL de solución salina al 0.85% (p/v) en un tubo Eppendorf (Fig. 24) posteriormente se centrifugó a 4000 rpm por 10 minutos. Al decantarse el sobrenadante, el sedimento se trasladó a tubos crioviales con 1.3 mL de glicerol al 30% (agente crio-protector) (Ilustración 20). Concluido el proceso, se preservaron en un congelador a $-62\text{ }^{\circ}\text{C}$, hasta por un periodo de un año o hasta ser reactivadas (García & Uruburu 2001, Ortíz *et al.* 2016).

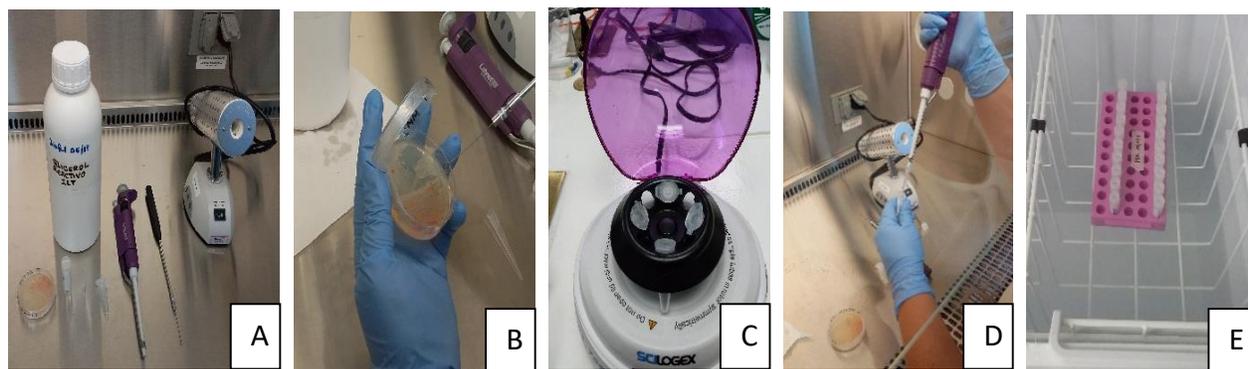


Ilustración 20. Conservación de microorganismos: (A) materiales a utilizar, glicerol, solución salina, tubos Eppendorf, asa microbiológica, pipeta, tubos crioviales, microorganismo a conservar; (B) extracción de porción de colonia a preservar; (C) proceso de centrifugación; (D) traslado de sedimento a crioviales con glicerina; (E) refrigeración de colonias. Fuente: fotografías del autor.

La activación de las cepas se realiza tomando alrededor de 0.5 ml de solución salina y agregándolo al tubo con la cepa preservada a $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, después de ser homogenizada se inocula en el medio respectivo para observar el crecimiento y viabilidad de las células (Ortíz *et al.* 2016).

7.6. Procesamiento de datos.

Para la organización de los datos obtenidos en todo el proceso de la investigación se dispuso de hojas en el programa Excel donde se especificó las características de cada cepa aislada, dicha información fue utilizada para la descripción de cada punto de muestreo y la diferenciación estadística de cada sitio de estudio.

Para la representación de los resultados se utilizaron tablas y gráficos: diagramas de barra, pastel y lineal, de acuerdo a la naturaleza de los datos en el programa Excel y GraphPad Prism 8.

7.6.1. Análisis estadísticos.

Las mediciones de Diversidad Alfa utilizados para evaluar la diversidad de especies dentro de los sitios de estudio fueron: 1) Método basado en la cuantificación del número de especies presentes (Riqueza específica); 2) Métodos basados en la estructura de la comunidad, es decir, la distribución proporcional del valor de importancia de cada especie (abundancia relativa, dominancia y equidad en la comunidad) (Moreno 2001).

Medir la abundancia relativa de cada especie permite identificar aquellas especies que por su escasa representatividad en la comunidad son más sensibles a las perturbaciones ambientales. Además, identificar un cambio en la diversidad, ya sea en el número de especies, en la distribución de la abundancia de las especies o en la dominancia, nos alerta acerca de procesos empobrecedores (Magurran 1988). Por ello se utilizó el diagrama “curva de rango-abundancia o de Whittaker” para mostrar la abundancia relativa de las especies en cada sitio de estudio, a la vez que se visualiza la riqueza y equidad de especies.

Las mediciones de Diversidad Beta o diversidad entre hábitats basadas en proporciones o diferencias se evaluaron con base en índices o coeficientes de similitud a partir de datos cualitativos (presencia o ausencia de especies).

7.6.1.1. Medición de la riqueza específica.

La riqueza específica (S) es la forma más sencilla de medir la biodiversidad, ya que se basa únicamente en el número de especies presentes, sin tomar en cuenta el valor de importancia de

las mismas. La determinación de la riqueza específica fue calculada mediante el **Índice de Margalef** (Alcolado 1998, Moreno 2001, Ulanowicz 2002, Carmona & Carmona 2013), donde:

$$D_{Mg} = \frac{S - 1}{\ln N}$$

Dónde:

S: número de especies

N: número total de individuos.

Este índice de diversidad específica está basado en la relación de S y el número total de individuos encontrados (N).

7.6.1.2. Medición de la estructura.

Índice de dominancia y diversidad.

Los índices basados en la dominancia son parámetros inversos al concepto de uniformidad o equidad de la comunidad. Toman en cuenta la representatividad de las especies con valor de importancia sin evaluar la contribución del resto de las especies (Moreno 2001).

La probabilidad de que dos individuos tomados al azar fueran de la misma especie se calculó con el **Índice de Dominancia de Simpson** (Alcolado 1998, Moreno 2001, Carmona & Carmona 2013, Ferriol & Merle S. F.) su fórmula se describe:

$$\lambda = \sum p_i^2$$

Dónde:

Pi: es la abundancia proporcional de la especie i, es decir el número de individuos de la especie i divididos entre el número total de individuos de la muestra.

El índice es una representación de la probabilidad de que dos individuos, dentro de una misma región y seleccionados al azar, sean de la misma especie. Está fuertemente influido por la importancia de las especies más dominantes. El rango del índice de Simpson va de 0 a 1, así:

Cuanto más se acerca el valor de D a 1, menor es la diversidad del hábitat.

Cuanto más se acerca el valor de D a 0, mayor es la diversidad del hábitat.

Índice de equidad.

El **Índice de Shannon-Wiener (H')** expresa la uniformidad de los valores de importancia a través de todas las especies de la muestra (Magurran 1988, Moreno 2001)

Con este índice se midió el grado de incertidumbre de predecir a qué especie pertenecería un individuo escogido al azar de una colección. Asume que los individuos son seleccionados al azar y que todas las especies están representadas en la muestra (Alcolado 1998, Moreno 2001, Carmona & Carmona 2013, Ferriol & Merle, S. F.) es decir:

$$H' = - \sum_{i=1}^s (p_i \times \ln P_i)$$

Dónde:

S: es el número de especies

p_i : proporción de individuos de la especie i respecto al total de individuos o en otras palabras la abundancia relativa de la especie i .

n_i : número de individuos de la especie i .

7.6.1.3. Índices de similitud/disimilitud

Expresan el grado en que dos muestras son semejantes por las especies presentes en ellas. Se utilizaron los índices con datos cualitativos siguientes:

Coefficiente de similitud de Jaccard

Se midió el grado de similitud entre los dos sitios de estudio con la fórmula:

$$I_J = \frac{c}{a + b - c}$$

Dónde:

a: número de especies presentes en el sitio A.

b: número de especies presentes en el sitio B.

c: número de especies presentes en ambos sitios A y B.

El intervalo de valores va de 0 cuando no hay especies compartidas entre ambos sitios, y hasta 1 cuando los dos sitios tienen la misma composición de especies.

Coefficiente de similitud de Sorensen.

Se comparó la similitud de los dos sitios de estudios con la siguiente fórmula:

$$I_s = \frac{2c}{a + b}$$

Dónde:

a: número de especies presentes en el sitio A.

b: número de especies presentes en el sitio B.

c: número de especies presentes en ambos sitios A y B.

7.6.1.4. Complementariedad.

El concepto de complementariedad se refiere al grado de disimilitud en la composición de especies entre pares de biota (Colwell & Coddington 1994).

El valor de complementariedad se obtuvo primero de dos medidas

I. La riqueza total para ambos sitios combinados:

$$S_{AB} = a + b - c$$

Donde “a” es el número de especies del sitio A, “b” es el número de especies del sitio B, y “c” es el número de especies en común entre los sitios A y B.

II. El número de especies únicas a cualquiera de los dos sitios:

$$U_{AB} = a + b - 2c$$

A partir de estos dos valores calculamos la complementariedad de los sitios San Andrés (A) y la Montañita (B):

$$C_{AB} = \frac{U_{AB}}{S_{AB}}$$

La complementariedad varía desde cero, cuando ambos sitios son idénticos en composición de especies, hasta uno, cuando las especies de ambos sitios son completamente distintas.

VIII. RESULTADOS

8.1. Resultados de diversidad bacteriana.

8.1.1. Identificación de bacterias.

En el proceso de identificación bacteriana se detalla en la Tabla 2 la consolidación de las bacterias identificadas según su taxonomía en 13 familias de bacterias, distribuidas en 6 Órdenes. El Orden Bacillales representado por dos familias: la familia Bacillaceae con 85 colonias y la familia Staphylococcaceae con 236 colonias; el Orden Lactobacillales representado por dos familias: la familia Enterococcaceae con 205 colonias y la familia Lactobacillaceae con 95 colonias; el Orden Enterobacteriales representado por dos familias: la familia Enterobacteriaceae con 112 colonias y la familia Yersiniaceae con 36 colonias; el Orden Pseudomonadales representado por dos familias: la familia Moraxellaceae con 400 colonias y la familia Pseudomonadaceae con 91 colonias; el Orden Neisseriales representado por la familia Neisseriaceae con 214 colonias; el Orden Actinomycetales representado por cuatro familias: la familia Actinomycetaceae con 244 colonias, la familia Micrococcaceae con 934 colonias, la familia Nocardiaceae con 320 colonias y la familia Streptomycetaceae con 174 colonias.

Además, se aislaron 4 cepas Gram negativas que fueron descritas por sus características fenotípicas y propiedades bioquímicas pero que no pudieron ser identificadas taxonómicamente, la CEPA-1 con 192 colonias, la CEPA-2 113 colonias, la CEPA-3 con 121 colonias y la CEPA-4 con 92 colonias contabilizadas.

Basados en las características fenotípicas como su morfología, desarrollo y propiedades bioquímicas las bacterias fueron aisladas y distribuidas en tres grandes grupos como se representa en el gráfico 1 en porcentajes: los actinomicetos con un 44%, las bacterias Gram negativas con 33% y las bacterias Gram positivas con 23%.

Tabla 2. Consolidado de taxonomía de bacterias aisladas en los sitios de San Andrés y la Montañita del Valle de Zapotitán durante los meses de agosto a octubre del 2019.

GRUPO DE BACTERIAS	CLASE	ORDEN	FAMILIA	NÚMERO DE COLONIAS
Bacterias Gram Positivas	Bacilli	Bacillales	Bacillaceae	85
			Staphylococcaceae	236
		Lactobacillales	Enterococcaceae	205
			Lactobacillaceae	95
			Enterobacteriaceae	112
Bacterias Gram Negativas	Gammaproteobacteria	Enterobacterales	Yersiniaceae	36
			Moraxellaceae	400
		Pseudomonadales	Pseudomonadaceae	91
	Betaproteobacteria	Neisseriales	Neisseriaceae	214
	Cepas no identificadas taxonómicamente		CEPA-1	192
		CEPA-2	113	
		CEPA-3	121	
		CEPA-4	92	
Actinobacterias o actinomicetos	Actinobacteria	Actinomycetales	Actinomycetaceae	244
			Micrococcaceae	934
			Nocardiaceae	320
			Streptomycetaceae	174
Total de colonias de bacterias según familia				3664

Fuente: elaboración propia, clasificación tomada de Bergey's Manual Trust (2005).

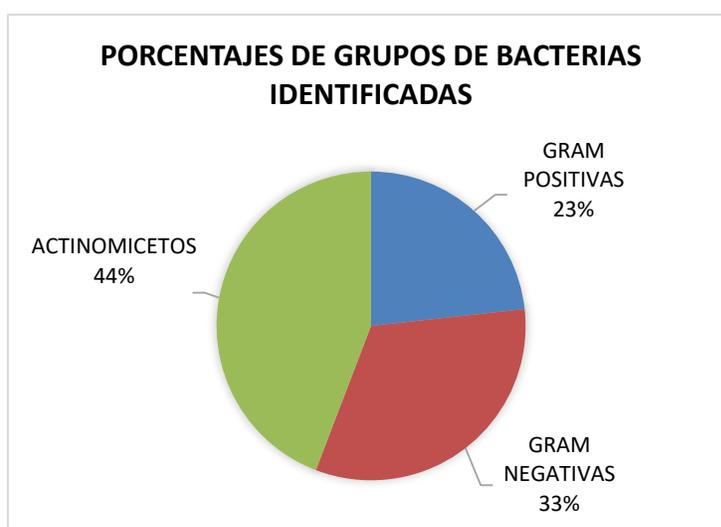


Gráfico 1. Representación gráfica en pastel del porcentaje de cepas bacterianas aisladas y distribuidas en los tres grupos identificados por Tinción Gram durante la investigación.

Con respecto a las bacterias presentes en cada sitio de estudio los porcentajes se muestran en el gráfico 2: en San Andrés el grupo de Actinomicetos presentes con el 35%, las bacterias Gram negativas con 36% y las bacterias Gram positivas con 29%; en La Montañita los Actinomicetos con 52%, las bacterias Gram negativas con 30% y las bacterias Gram positivas con 18%.

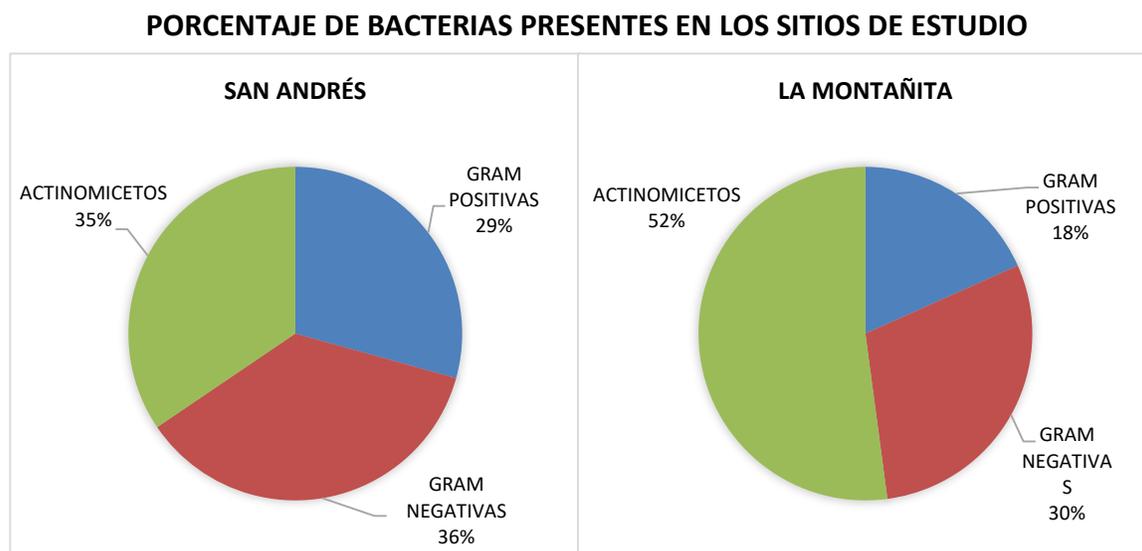


Gráfico 2. Representación gráfica en pastel del porcentaje de los grupos bacterianos presentes en cada sitio de estudio durante la investigación.

La identificación fenotípica bacteriana basada en las características observadas antes mencionadas de las 3664 colonias en los sitios de estudio, se aislaron un total de 129 cepas bacterianas de las cuales 71 cepas puras están presentes en el sitio de estudio La Montañita y 58 cepas puras están presentes en la Estación experimental de San Andrés. En la Tabla 3 se detalla el número de cepas por familia presentes en cada sitio de estudio y el número de cepas que están presentes en ambos sitios, así como también las cepas que difieren entre sitio de estudio.

Tabla 3. Número de cepas puras de bacterias presentes en cada sitio de estudio, San Andrés y La Montañita, durante el muestreo realizado en los meses de agosto a octubre de 2019. Además, el número de cepas presentes en ambos sitios y el número de cepas ausentes de cada sitio de estudio.

GRUPO	FAMILIA	SAN ANDRÉS	LA MONTAÑITA	TOTAL DE CEPAS	PRESENCIA	AUSENCIA
GRAM POSITIVAS	Bacillaceae	1	0	1	-	1
	Staphylococcaceae	8	7	15	1	-
	Enterococcaceae	7	6	13	1	-
	Lactobacillaceae	1	0	1	-	1
GRAM NEGATIVAS	Enterobacteriaceae	0	3	3	-	1
	Yersiniaceae	0	1	1	-	1
	Moraxellaceae	9	10	19	1	-
	Pseudomonadaceae	0	1	1	-	1
	Neisseriaceae	4	3	7	1	-
	CEPA 1	5	1	6	1	-
	CEPA 2	2	0	2	-	1
	CEPA 3	1	1	2	1	-
	CEPA 4	0	1	1	-	1
ACTINOMI CETOS	Actinomycetaceae	3	3	6	1	-
	Micrococcaceae	11	27	38	1	-
	Nocardiaceae	5	5	10	1	-
	Streptomycetaceae	1	2	3	1	-
		58	71	129	10	7

Fuente: elaboración propia.

En el gráfico 3 se muestra la distribución del número de cepas por familias presentes en los dos sitios de estudios: de manejo agroecológico “La Montañita” y la de manejo convencional Estación experimental de San Andrés, durante el muestreo en los meses de agosto y octubre de 2019.

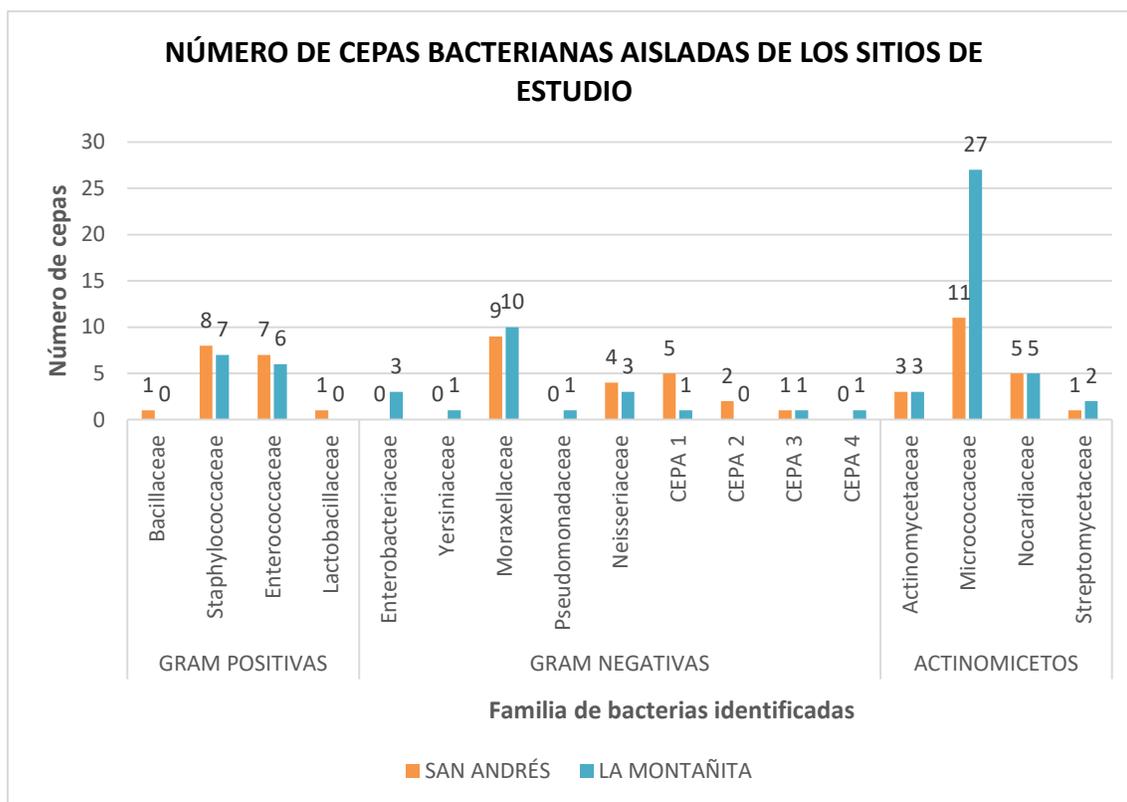


Gráfico 3. Representación gráfica en barra del número de cepas bacterianas por familia presentes en los dos sitios de estudios durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.

En el gráfico 4 se visualiza la distribución del número de cepas en los cuatro puntos de muestreo durante el estudio: en “La Montañita” se obtuvieron: punto A con 22 cepas; punto B con 19 cepas; punto C con 14 cepas; y punto D con 16 cepas. En la Estación experimental de San Andrés se obtuvieron en cada punto de muestreo: punto A con 17 cepas; punto B con 12 cepas; punto C con 21 cepas; y punto D con 8 cepas.

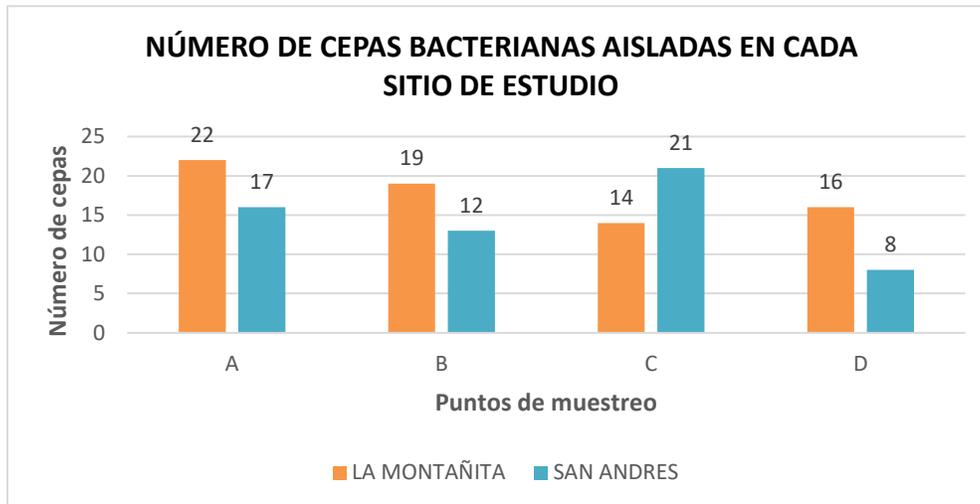
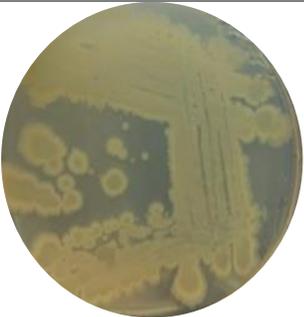
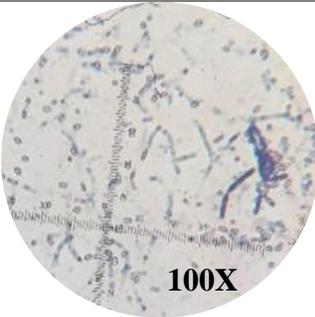
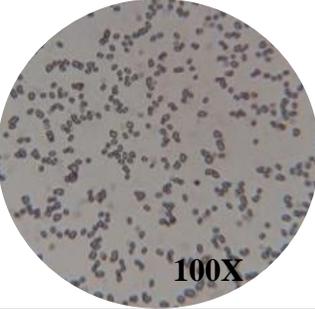
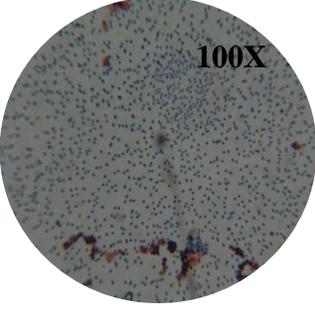


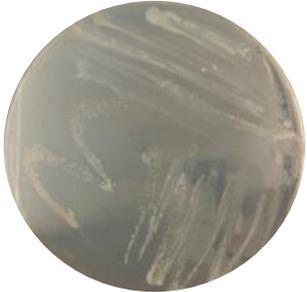
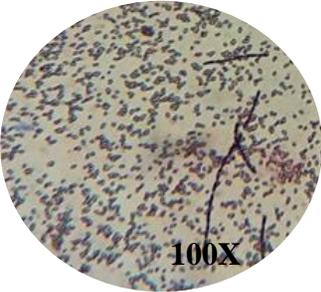
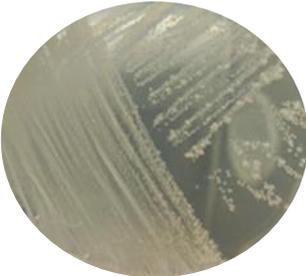
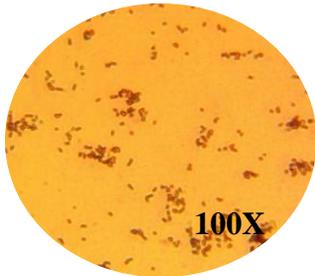
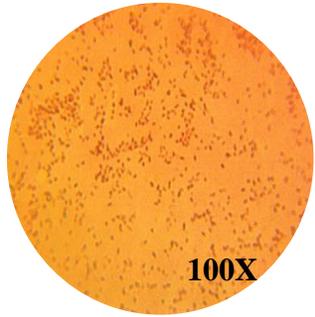
Gráfico 4. Representación gráfica en barra del número de cepas bacterianas presentes en cada punto de muestro de los dos sitios de estudio, San Andrés y La Montañita, durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.

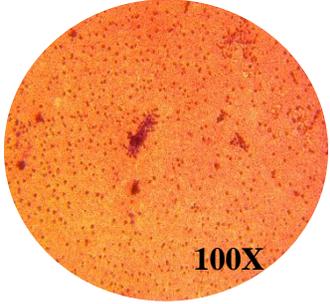
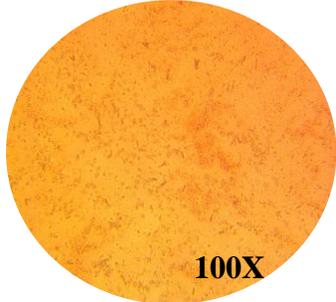
8.1.2. Caracterización de las cepas de bacterias aisladas.

De acuerdo a Bergey's Manual Trust (2005) la diversidad de colonias de bacterias que crecieron durante esta investigación, las de mayor representatividad fueron las colonias blanquecinas, planas y de bordes enteros, además el mayor número fueron bacterias del grupo de actinomicetos, seguidos por las bacterias Gram negativas. Con la descripción de las características fenotípicas, las pruebas bioquímicas, y demás herramientas se logró identificar las cepas bacterianas agrupándolas en 13 familias, así lo muestra la Tabla 4.

Tabla 4. Caracterización de las cepas aisladas e identificadas en sus respectivas familias en los muestreos realizados en los sitios de estudio durante los meses de agosto a octubre del 2019.

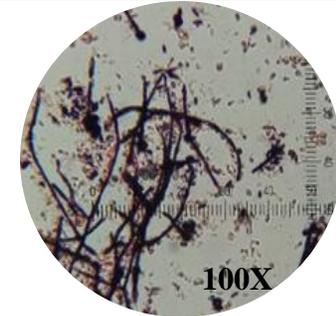
Familia	Morfología macroscópica	Morfología microscópica	Fotografía macroscópica	Fotografía microscópica
Bacillaceae	Colonias de crecimiento circular a irregular con bordes ondulados o enteros, con elevación plana o convexa, cremosas	Bacilos Gram positivos, catalasa positiva, aerobios estrictos.		 100X
Staphylococcaceae	Colonias circulares con pigmentación blanca a amarillo, lisas, de consistencia cremosa, con bordes enteros	Cocos Gram positivos, catalasa positiva, no formadora de esporas, inmóviles.		 100X
Enterococcaceae	Colonias de crecimiento irregular con bordes ondulados, con elevación convexa, cremosas con coloración blanquecinas a beige.	Cocos Gram positivos, catalasa negativa (varía entre especie), inmóviles, fermentadores de azúcares, no productores de ácido sulfhídrico.		 100X

Lactobacillaceae	Colonias circulares de consistencia cremosa y lisas, coloración blanca.	Bacilos en cadenas, inmóviles, catalasa negativa, no fermentadores, Indol negativo		 100X
Enterobacteriaceae	Colonias circulares, de bordes enteros y elevación plana, con pigmentaciones blanquecinas a amarillentas.	Bacilos, catalasa positivos, fermentadores de azúcares no obstante depende del género puede o no formar gas, además de producir o no Indol		 100X
Yersiniaceae	Colonias de crecimiento circular a irregular con bordes ondulados o enteros, con elevación plana, cremosas, coloración blanquecinas	Bacilo ovoide Gram negativo, catalasa positiva, inmóvil, fermentadores de glucosa, no productores de ácido sulfhídrico, varía la formación de gas.		 100X

Moraxellaceae	Colonias de crecimiento circular a irregular con bordes ondulados o enteros, con elevación plana, cremosos y amarillentas claras.	Bacilo o cocobacilo Gram negativo, catalasa positiva, inmóvil, no productores de ácido sulfhídrico, no productor de indol, no fermentadores de azúcares.		 100X
Pseudomonadaceae	Colonias irregulares, brillantes, de consistencia mucoide y pigmentaciones desde blanco a amarillentas.	Bacilo, aerobio, no fermentador, móvil, catalasa positiva, produce colonias circulares, lisas y brillantes.		 100X
Neisseriaceae	Colonias de crecimiento a irregular con bordes ondulados o enteros, con elevación plana, cremosos con coloración blanquecinos a beige.	Diplococo Gram negativo, catalasa positiva, inmóvil, fermenta o no azúcares.		 100X

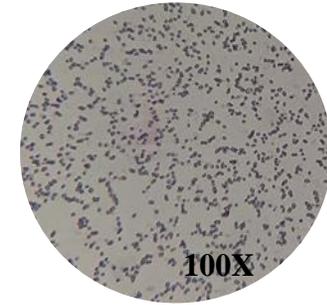
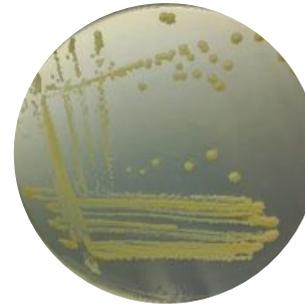
Actinomycetaceae Colonias de crecimiento lento, de aspecto rugoso o seroso, de diferentes coloraciones: blancas, grises, negras, entre otros, con bordes entados.

Cocos Gram positivo y con presencia de micelios, catalasa positiva.



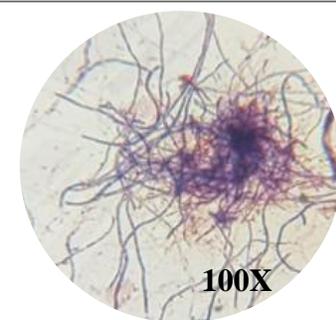
Micrococcaceae Colonias circulares, lisas o brillantes, planas de textura cremosa y de coloraciones amarillas, naranjas o rojas.

Cocos, algunas veces pueden estar agrupados en dúos, tétradas o racimos, catalasa positiva.



Nocardiaceae Colonias pueden ser blancas, beige, color salmón, entre otros, caracterizadas por un aspecto polvoriento, seco.

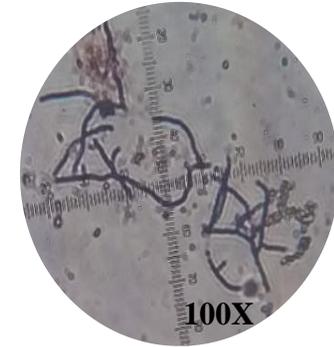
Bacterias filamentosas, abundantes en las zonas tropicales y subtropicales.



Streptomycetaceae

Sus colonias poseen hifas aéreas, usualmente presentan coloraciones, sus formas van desde circulares, irregulares u onduladas, convexas, elevadas.

Bacterias, esporuladoras, con amplia distribución en suelos y relaciones con la descomposición vegetal.



Fuente: elaboración propia.

8.1.3. Determinación de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en bacterias.

Con base a las contabilizaciones de las colonias realizadas se tabularon los resultados como lo muestra la tabla 5 de las UFC para determinar la riqueza de las áreas de muestreo, en el área de muestreo de la Montañita (MM) el mayor número de UFC fue en el primer muestreo, en el punto D, y el de menor número de UFC fue en el segundo muestreo en el punto D del sitio de estudio. En el sitio de San Andrés, la mayor cantidad de colonias contabilizadas fue en el primer muestreo en el punto B, y el menor número en el mismo muestreo, en el punto D. Además, la media de las ufc de cada sitio fue: La Montañita de 4×10^5 ufc y San Andrés de 4.6×10^5 ufc.

Tabla 5. Unidades Formadoras de Colonias de Bacterias en las áreas de San Andrés y la Montañita en el Valle de Zapotitán durante los tres meses de muestreo, de agosto a octubre del 2019.

PUNTO	UFC DE BACTERIAS					
	PRIMER MUESTREO		SEGUNDO MUESTREO		TERCER MUESTREO	
	(MM)	(SA)	(MM)	(SA)	(MM)	(SA)
A	6.4×10^4	1×10^5	7.5×10^4	8.3×10^4	1×10^5	1.2×10^5
B	5.4×10^4	3×10^5	7.6×10^4	2.5×10^5	9.9×10^4	1.2×10^5
C	1.5×10^5	4.7×10^4	1.4×10^5	6×10^4	9×10^4	1×10^5
D	2.1×10^5	3.4×10^4	5.3×10^4	5.2×10^4	8.7×10^4	1×10^5
PROMEDIO	4.8×10^5	4.8×10^5	3.4×10^5	4.5×10^5	3.8×10^5	4.4×10^5

En los sitios de muestreo quien presentó mayor abundancia fue la familia Micrococcaceae con un total de 633 colonias en el sitio La Montañita (MM) y 301 colonias en el sitio de San Andrés, seguido por la familia Moraxellaceae con 219 colonias en el sitio La Montañita y 181 colonias en el sitio de San Andrés. Estos datos se ordenaron de mayor a menor de acuerdo a su abundancia relativa para presentar la curva de rango-abundancia, diagrama utilizado para visualizar tanto la riqueza de especies y la equidad de las especies presentes en cada sitio de estudio (ver gráfico 5).

**Curva de rango-abundancia de las Familias de bacterias
aisladas en los dos sitios de estudio.**

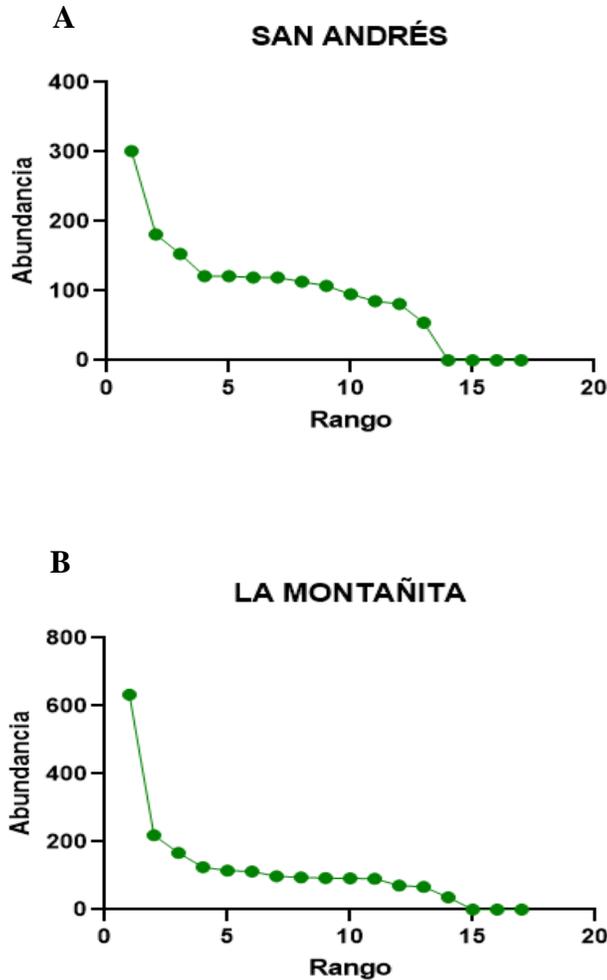


Gráfico 5. Representación gráfica de la curva de rango-abundancia de las familias de bacterias aisladas. (A) Rango-abundancia de bacterias presentes en el sitio San Andrés, (B) Rango-abundancia de bacterias presentes en el sitio La Montañita.

8.1.4. Análisis de Diversidad.

Las mediciones de diversidad nos proporcionaron los resultados que se detallan en la Tabla 6, donde el índice de Margalef para el sitio San Andrés fue de 2.96 y para el sitio de La Montañita fue de 3.05. El índice de Shannon-Wiener para el sitio San Andrés fue de 2.29 y para el sitio La Montañita fue de 2.07. El índice de Simpson para el sitio San Andrés mostró una dominancia

de 0.12 y una diversidad de 0.88, para el sitio La Montañita mostró una dominancia de 0.19 y una diversidad de 0.81. El coeficiente de similitud de Jaccard fue de 0.59, el coeficiente de similitud de Sorensen fue de 0.74 y la medición de complementariedad fue de 0.41.

Tabla 6. Valores obtenidos del Índice de Margalef, Shannon-Wiener, Simpson, coeficiente de similitud de Jaccard y Sorensen, además de la medición de complementariedad para la población de bacterias encontradas en los sitios de estudio de San Andrés y La Montañita.

Índices de Biodiversidad calculados	SAN ANDRÉS	LA MONTAÑITA
Índice de Margalef (Riqueza específica)	2.96	3.05
Diversidad Alfa (Shannon-Wiener)	2.29	2.07
Dominancia de Simpson	0.12	0.19
Diversidad de Simpson	0.88	0.81
Coeficiente de similitud de Jaccard		0.59
Coeficiente de similitud de Sorensen		0.74
Complementariedad		0.41

A manera de identificar y representar el grado de similitud o disimilitud de ambas parcelas de estudio, se utilizó el grafico en forma de árbol o también llamado Dendrograma, como se muestra en el gráfico 6, recordando la Ilustración 4 donde mostramos que ambas parcelas fueron divididas en 4 puntos de muestreo (A, B, C y D). Los puntos más similares en cuanto a las familias de bacterias identificadas fueron el punto C y D del área de San Andrés (CS y DS) con una distancia de 1.5, unido al punto B de la misma área, en la comunidad de la Montañita los más similares fueron los puntos A y B (AM y BM) por una distancia alrededor de 1.75, unido al punto D a una distancia de 3. El punto más distante fue el A de la comunidad de San Andrés (AS), seguido por el punto C de la Montañita con valores mayores a 4.5 de distancia entre los demás puntos.

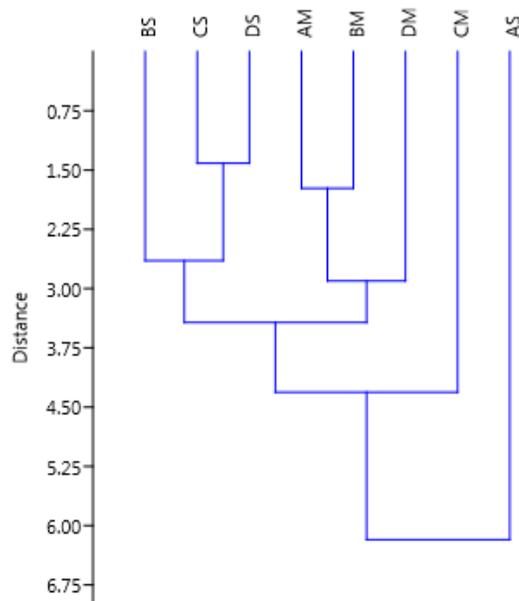


Gráfico 6. Representación gráfica en forma de árbol de la similitud/disimilitud de las cepas bacterianas presentes en los sitios de estudio durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.

8.2. Resultados de diversidad de hongos.

8.2.1. Identificación de hongos.

Se contabilizaron un total de 1,395 colonias de hongos microscópicos durante esta investigación, de las cuales se aislaron las colonias que se describieron con características morfológicas diferentes, resultando 106 cepas puras. En el proceso de identificación resultaron 16 géneros, los más representativos fueron *Aspergillus sp.* y *Penicillium sp.* con 342 y 337 colonias respectivamente, los géneros con menos abundantes fueron *Acremonium sp.* con 15 colonias y *Aureobasidium sp.* 12 colonias, los demás géneros oscilaron las 25 a 180 colonias, como se muestra en la Tabla 7.

Tabla 7. Consolidado de taxonomía de hongos aislados en los sitios de San Andrés y la Montañita del Valle de Zapotitán durante los meses de agosto a octubre del 2019.

DIVISION	CLASE	ORDEN	FAMILIA	GÉNERO	NÚMERO DE COLONIAS			
ASCOMYCOTA	Eurotiomycetes	Eurotiales	Trichocomaceae	<i>Aspergillus</i>	342			
				<i>Penicillium</i>	337			
				<i>Paecilomyces</i>	32			
	Dothideomycetes	Capnodiales	Davidiellaceae	Davidiellaceae	<i>Cladosporium</i>	53		
					Dothideales	Dothioraceae	<i>Aureobasidium</i>	12
					Pleosporales	Pleosporaceae	<i>Alternaria</i>	35
							<i>Curvularia</i>	59
	Sordariomycetes	Hypocreales	Cordycipitaceae	Cordycipitaceae	<i>Bauveria</i>	27		
					Hypocreaceae	<i>Acremonium</i>	15	
					<i>Gliocladium</i>	25		
			Nectriaceae	Nectriaceae	Nectriaceae	<i>Trichoderma</i>	180	
						<i>Fusarium</i>	113	
						Microascales	Microascaceae	<i>Scopulariopsis</i>
Sordariales	Chaetomiaceae	<i>Chaetomium</i>	25					
Heterokontophyta	Oomycetes	Pythiales	Pythiaceae	<i>Pythium</i>	44			
		Peronosporales	Peronosporaceae	<i>Phytophthora</i>	30			
NÚMERO TOTAL DE COLONIAS FÚNGICAS					1395			

Fuente: elaboración propia.

De las 106 cepas puras de hongos microscópicos aisladas, 71 cepas pertenecen a la Montañita y 35 cepas a San Andrés. En la Tabla 8 se detalla el número de cepas por familia presentes en cada sitio de estudio y el número de cepas que están presentes en ambos sitios, así como también las cepas que difieren entre sitio de estudio.

Tabla 8. Número de cepas puras de hongos presentes en cada sitio de estudio, San Andrés y La Montañita, durante el muestreo realizado en los meses de agosto a octubre de 2019. Además, el número de cepas presentes en ambos sitios y el número de cepas ausentes de cada sitio de estudio.

GÉNEROS FÚNGICOS	LA MONTAÑITA	SAN ANDRES	TOTAL DE CEPAS	PRESENCIA	AUSENCIA
<i>Acremonium</i>	1	0	1	-	1
<i>Alternaria</i>	1	0	1	-	1
<i>Aureobasidium</i>	1	0	1	-	1
<i>Aspergillus</i>	16	8	24	1	-
<i>Bauveria</i>	1	0	1	-	1
<i>Cladosporium</i>	4	0	4	-	1
<i>Chaetomium</i>	2	0	2	-	1
<i>Curvularia</i>	3	4	7	1	-
<i>Fusarium</i>	6	0	6	-	1
<i>Gliocladium</i>	1	1	2	1	-
<i>Paecilomyces</i>	3	0	3	-	1
<i>Penicillium</i>	17	12	29	1	-
<i>Pythium</i>	5	4	9	1	-
<i>Phytophthora</i>	3	1	4	1	-
<i>Scopulariopsis</i>	2	3	5	1	-
<i>Trichoderma</i>	5	2	7	1	-
	71	35	106	8	8

Fuente: elaboración propia.

En el gráfico 7 se muestra la distribución del número de cepas fúngicas presentes en los dos sitios de estudios: en el sitio de manejo agroecológico “La Montañita” están presentes los 16 géneros fúngicos identificados y en el sitio de manejo convencional Estación experimental de San Andrés están presentes 8 géneros fúngicos identificados.

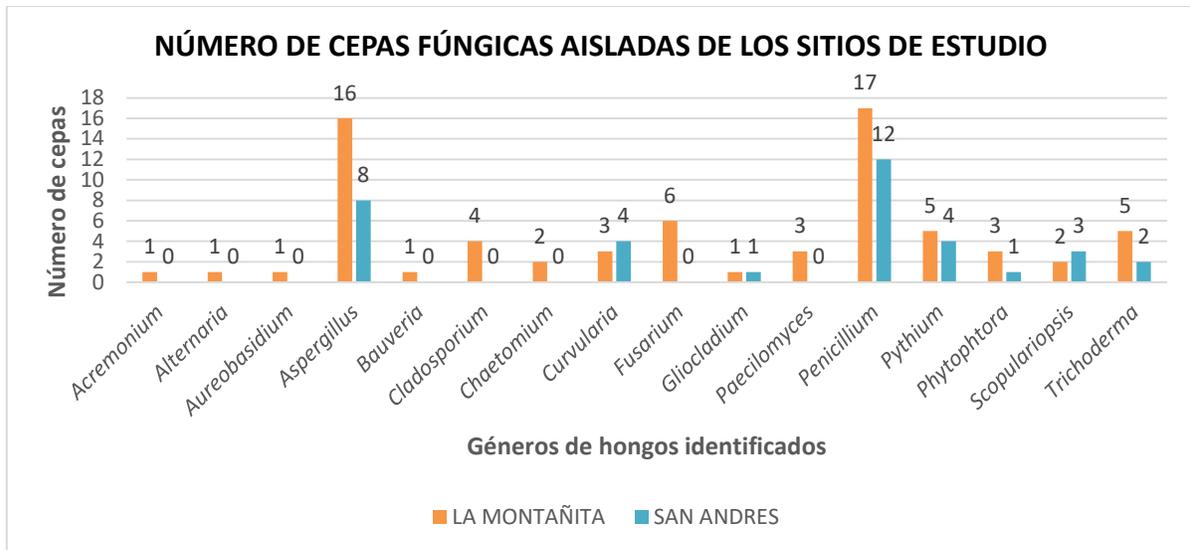


Gráfico 7. Representación gráfica en barra del número de cepas fúngicas de los géneros identificados presentes en los dos sitios de estudio: La Montañita y Estación experimental San Andrés.

En el gráfico 8 se observa la distribución de las cepas fúngicas presentes en los cuatro puntos de muestreo de cada sitio de estudio. El que mayor número de aislados tuvo fue el punto D de la Montañita obteniendo 34 cepas puras aisladas, para el caso de San Andrés el punto D se aislaron 12 cepas puras. Los puntos de muestreo con menor número de aislados en la Montañita fue el punto C con 10 cepas puras, y para San Andrés el punto A y C con 7 cepas puras aisladas.

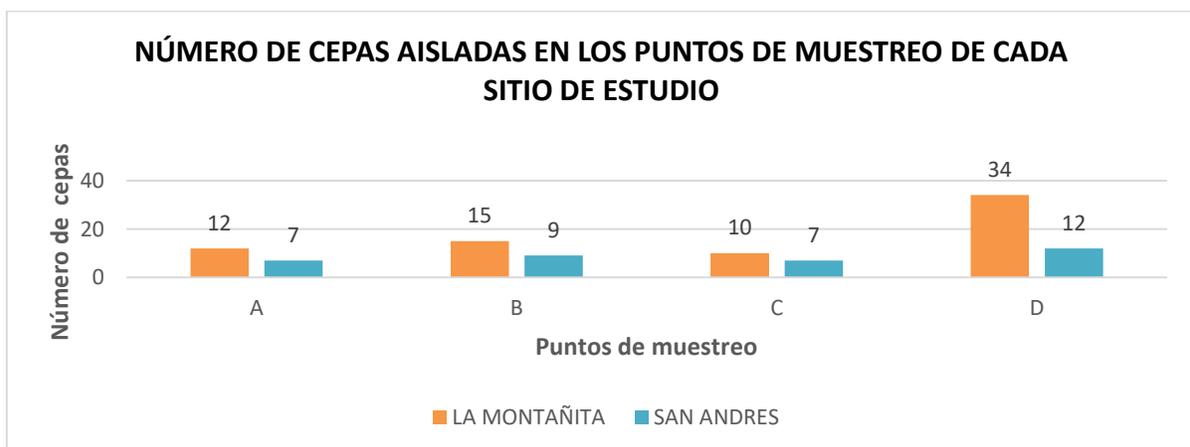
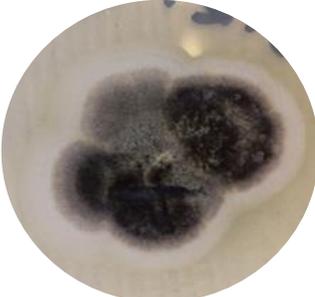
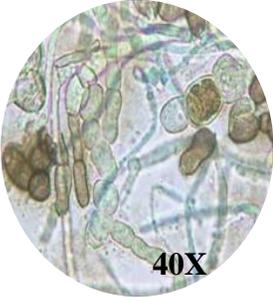
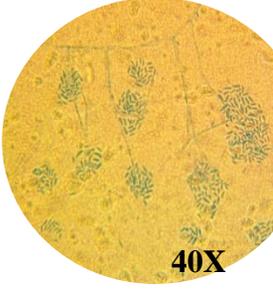
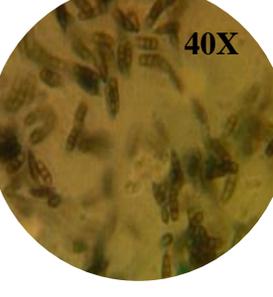


Gráfico 8. Representación gráfica en barra del número de cepas de hongos microscópicos aisladas por punto de muestreo en cada sitio de estudio durante los meses de agosto a octubre del 2019.

8.2.2. Caracterización de los géneros aislados de hongos.

En el proceso de identificación taxonómica de los géneros de hongos filamentosos se tomaron en cuenta las descripciones de las características macroscópicas por el anverso (color de la superficie y contorno de la colonia, textura, color del pigmento exudado, forma de la colonia y el margen) y las descripciones microscópicas donde se observaron al microscopio estructuras de los hongos filamentosos (morfología del micelio y estructuras reproductivas) (Watanabe 2010), que luego se compararon con la literatura de claves taxonómicas de Barnett & Hunter (1998), Carrillo (2003), Agrios (2005) y Kirk *et al.* (2008). Las descripciones de los 16 géneros de hongos filamentosos se detallan en la Tabla 9 a continuación y en la Tabla 10 se muestran las especies de *Aspergillus* reportadas en la investigación.

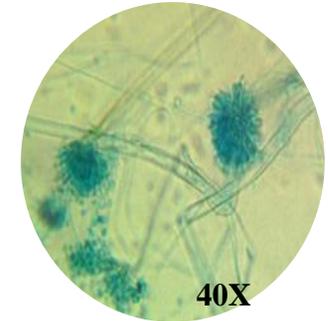
Tabla 9. Caracterización de los géneros fúngicos presentes en los muestreos realizados en los sitios de estudio durante los meses de agosto a octubre del 2019.

Género	Características macroscópicas	Características microscópicas	Fotografía macroscópica	Fotografía microscópica
<i>Aureobasidium</i>	Colonias blancas o cremosas, algunas son amarillas, posteriormente van ennegreciendo.	Micelio pigmentado con hifas de las que nacen numerosos conidios hialinos los cuales, una vez libres, forman por gemación otros.		 40X
<i>Acremonium</i>	Colonias de color blanco-amarillento, al principio son glabras plegadas, compactas, después se vuelven pulverulentas, algodonosas y húmedas.	Micelio septado, hialino del que se organizan conidióforos alargados hifas con su extremo terminal, conidios agrupados en forma de cabezas.		 40X
<i>Alternaria</i>	Colonias planas, algodonosas, de coloración blanca grisácea inicialmente y posterior se observa su superficie café o verde oliva oscuro.	Hifas y conidióforos septados con pared lisa o rugosa, simpodiales, únicos o en cadenas con forma ovoide u obclavada, septados.		 40X

Aspergillus

El color es la principal característica macroscópica para la identificación de los grupos de *Aspergillus*. Poseen distintos tonos de verde, pardo, amarillo, blanco, gris y negro.

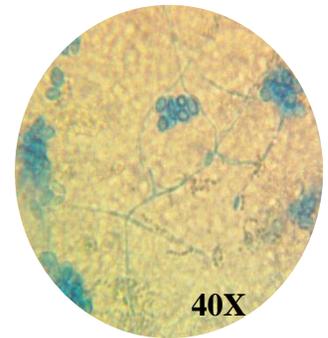
Hifas especializadas, denominadas conidióforos, sobre los que se encuentran con diversidad de formas. Los conidios constituyen cadenas que se originan en la célula conidiógena o fiálide.



Beauveria

Las colonias son de textura algodonosa a polvorientas. La superficie es de color blanco a amarillento pálido o blanco de color rosado. El reverso es de color blanco o pálido

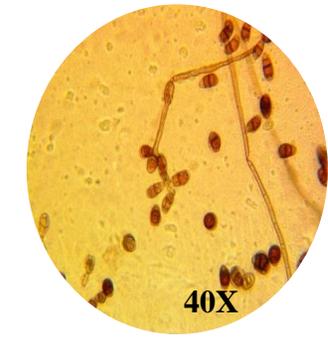
Las hifas son hialinas. Las células conidiógenas tienden a formar racimos densos porque tienen forma en zigzag.

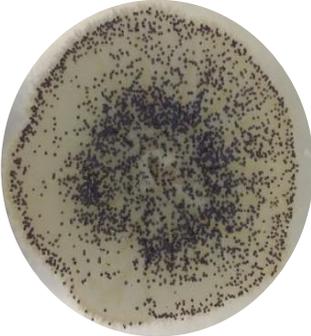
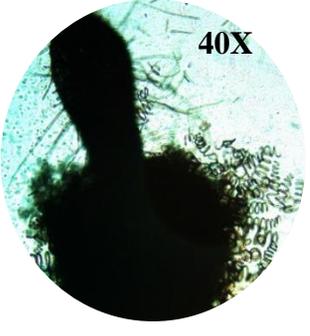
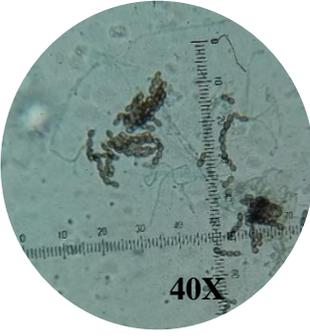


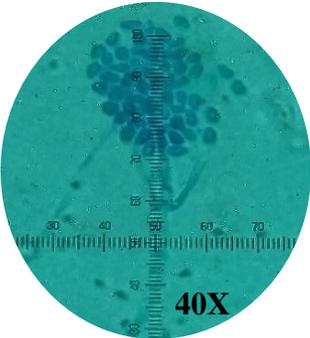
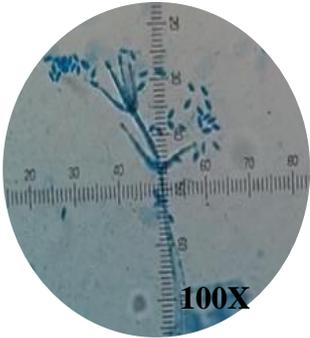
Curvularia

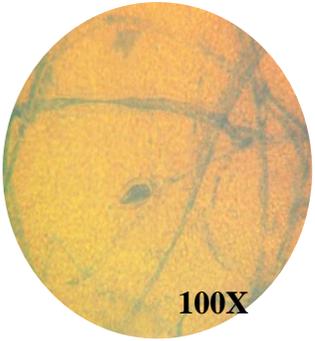
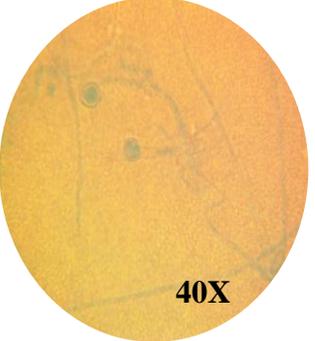
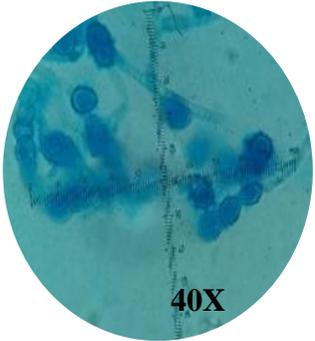
Colonias blancas a rosado gris inicialmente y se vuelve hacia oliva marrón o negro medida que avanza la colonia. De lo contrario, es de color marrón oscuro a negro

Hifas tabicadas de color marrón, conidióforos y conidios se visualizan. Los conidióforos son simples o ramificados y están doblados en los puntos donde los conidios se originan.



<i>Chaetomium</i>	Colonias algodonosas y de color blanco inicialmente. Las colonias maduras el color se vuelve de gris a oliva. De lo contrario, el color es marrón a rojo o marrón a negro	Hifas septadas, peritecios, ascos y ascosporas. Los peritecios son grandes, de color marrón oscuro a negro en color, frágil, globoso en forma de matraz y tienen filamentosos.		
<i>Cladosporium</i>	Las colonias se vuelven polvorientas o aterciopeladas debido a los abundantes conidios, verde oliva a marrón oliva. El reverso de la colonia es de color negro verdoso	Hifas oscuras septadas, conidióforos erectos y pigmentados y conidios, Las conidias en general son de forma elíptica a cilíndrica, de color marrón pálido a oscuro y tienen hilas oscuras.		
<i>Fusarium</i>	Hifas lanosas a algodonosa, plano. Desde el frente, el color de la colonia puede ser de color blanco, crema, moreno, el salmón, la canela, amarillo, rojo, violeta, rosa o púrpura.	Macroconidios hialinos, fusiformes (en forma de plátano) La fiálide es generalmente fina, con forma de botella; simple o ramificada; cortas o largas; monofialídica.		

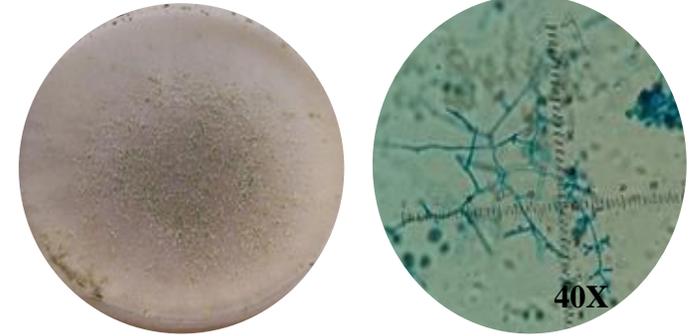
<i>Gliocladium</i>	Colonias inicialmente blancas, que pueden cambiar a tonos que varían de rosa a salmón; durante la esporulación se tornan de color verde.	Hifas hialinas y septadas, conidióforos, fiálides y conidios. Los conidióforos son erectos y se ramifican repetidamente en sus vértices. Conidios, formando una bola apretada.		 40X
<i>Paecilomyces</i>	Crece con micelio blanco, el color de la colonia puede ser rosado-gris, rosado-oscuro, gris o puede tener un aspecto polvoriento granular	Hifas hialinas a amarillosas, septadas. Presenta ramificaciones verticiladas o irregularmente ramificadas, llevan en su parte terminal en cada rama grupos de fiálides.		 100X
<i>Penicillium</i>	Las colonias planas, filamentosa, y aterciopelada, lanoso, o algodonoso en la textura, con diversidad La superficie a menudo exhibe algunos exudados.	Hifas, las fiálides pueden tener forma de ánfora o bien ser casi cilíndricas con la porción apical en forma de cono.		 40X

<i>Phytophthora</i>	En el medio de cultivo se observa micelio aéreo que puede ser radiado o estrellado, presentándose los bordes de la colonia redondeados o sinuosos y sumergido en el medio	Micelio hialino, cenocítico irregularmente calibrado donde pueden observarse abundantes gotas oleaginosas El esporangióforo no se diferencia normalmente de las hifas.		 100X
<i>Pythium</i>	Se caracteriza por un rápido crecimiento del micelio, colonias blancas algodonosas de bordes filamentosos	Presenta hifas carentes de tabiques, excepto en cultivos viejos o en los puntos de diferenciación de estructuras de fructificación. Los esporangios pueden ser varios tamaños y formas.		 40X
<i>Scopulariopsis</i>	Colonias de textura granular a polvorienta. Desde el frente, el color es blanco inicialmente y se vuelve marrón claro.	Hifas septadas, conidióforos, anélicos y conidios. Las clamidosporas pueden estar presentes ocasionalmente. Los conidióforos son similares a las hifas y simples o ramificados.		 40X

Trichoderma

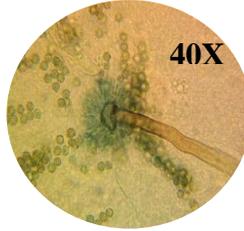
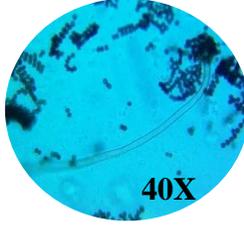
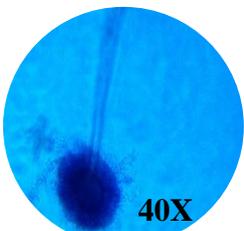
Colonias lanosas y se compactan en el tiempo. De frente, el color es blanco se hacen parches color verde azulado o verde amarillento. Estos parches a veces pueden formar anillos concéntricos

Hifas hialinas septadas, conidióforos, fiálides y conidios, también pueden producir clamidosporas. Los conidióforos son hialinos, ramificados y ocasionalmente pueden mostrar una disposición piramidal.



Fuente: elaboración propia.

Tabla 10. Especies de *Aspergillus* aislados de los sitios de estudio, La Montañita y San Andrés, durante los meses de agosto a octubre de 2019.

Especies	Superficie	Posterior de placa	Foto macroscópica	Foto de reverso de placa	Foto microscópica
<i>A. flavus</i>	Amarrillo verde.	Dorado a rojo marrón.			
<i>A. niger</i>	Negro	Blanco a amarillo.			
<i>A. terreus</i>	Canela a marrón	Blanco a marrón.			

Fuente: elaboración propia.

8.2.3. Determinación de Unidades Formadoras de Colonias de los hongos.

Para establecer la diversidad de hongos en los sitios de estudio se contabilizaron las UFC de hongos microscópicos, los datos obtenidos están resumidos en la Tabla 11 donde se muestra que en el sitio de la Montañita el muestreo con mayor número de crecimiento de colonias fue el tercer muestreo, en el punto D, y en el segundo muestreo se obtuvo el menor crecimiento de colonias en el punto C; en el sitio de San Andrés la mayor contabilización de colonias fue en el tercer muestreo, en el punto B y el menor crecimiento de colonias se registró en el primer

muestreo, en el punto C. Las medias de las ufc de cada sitio fueron: La Montaña de 2.53×10^4 ufc y San Andrés de 2.5×10^4 ufc.

Tabla 11. Unidades Formadoras de Colonias de Hongos en los sitios de San Andrés y la Montaña en el Valle de Zapotitán durante los meses de agosto a octubre del 2019.

UFC DE HONGOS						
PUNTO	PRIMER MUESTREO		SEGUNDO MUESTREO		TERCER MUESTREO	
	La Montaña	San Andrés	La Montaña	San Andrés	La Montaña	San Andrés
	A	2.6×10^4	2.3×10^4	2.2×10^4	2.6×10^4	2.7×10^4
B	3×10^4	2.3×10^4	1.6×10^4	2.8×10^4	2.9×10^4	3×10^4
C	3.1×10^4	1.5×10^4	1.2×10^4	2.4×10^4	1.4×10^4	2.6×10^4
D	2.8×10^4	2.3×10^4	3×10^4	2.8×10^4	3.7×10^4	2.7×10^4
PROMEDIO	2.9×10^4	2.1×10^4	2×10^4	2.7×10^4	2.7×10^4	2.7×10^4

En el gráfico 9 se observa la abundancia de colonias del género *Penicillium sp.* con 17 cepas puras encontradas en el área de la Montaña y 12 cepas puras en el área de San Andrés, seguido por el género *Aspergillus sp.* con 16 cepas puras en La Montaña y 8 cepas puras en San Andrés, los demás géneros oscilan entre 1 y 6 cepas puras en su abundancia. Estos datos se ordenaron de mayor a menor de acuerdo a su abundancia relativa para presentar la curva de rango-abundancia, diagrama utilizado para visualizar tanto la riqueza de especies y la equidad de las especies presentes en cada sitio de estudio.

**Curva de rango-abundancia de los géneros de hongos
aislados en los dos sitios de estudio.**

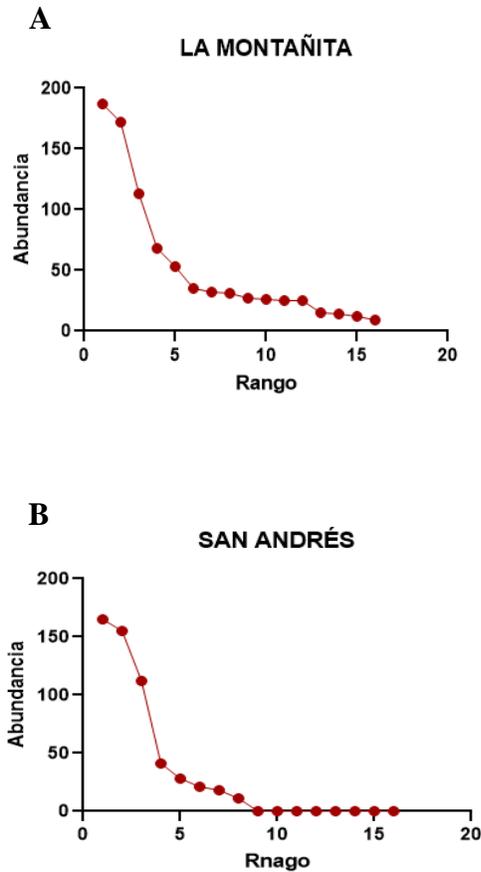


Gráfico 9. Representación gráfica de la curva de rango-abundancia de los géneros de hongos aislados. (A) Rango-abundancia de hongos presentes en el sitio La Montañita, (B) Rango-abundancia de hongos presentes en el sitio San Andrés.

8.2.4. Análisis de Diversidad de especies en los hongos.

Las mediciones de diversidad nos proporcionaron los valores que se detallan en la Tabla 12, donde el índice de Margalef para el sitio de La Montañita fue de 3.52 y para el sitio de San Andrés fue de 1.97. El índice de Shannon-Wiener para el sitio de La Montañita fue de 2.32 y para el sitio de San Andrés fue de 1.78. El índice de Simpson para el sitio de La Montañita mostró una dominancia de 0.14 y una diversidad de 0.86, para el sitio de San Andrés mostró una dominancia de 0.21 y una diversidad de 0.79. El coeficiente de similitud de Jaccard fue de

0.50, el coeficiente de similitud de Sorensen fue de 0.67 y la medición de complementariedad fue de 0.50.

Tabla 12. Valores obtenidos del Índice de Margalef, Shannon-Wiener, Simpson, coeficiente de similitud de Jaccard y Sorensen, además de la medición de complementariedad en los sitios de La Montañita y San Andrés para la población de hongos.

Índices de Biodiversidad calculados	La Montañita	San Andrés
Índice de Margalef (Riqueza específica)	3.52	1.97
Diversidad Alfa (Shannon-Weiner)	2.32	1.78
Dominancia de Simpson	0.14	0.21
Diversidad de Simpson	0.86	0.79
Coeficiente de similitud de Jaccard		0.50
Coeficiente de similitud de Sorensen		0.67
Complementariedad		0.50

De igual manera con la población de hongos para identificar y representar el grado de similitud o disimilitud de ambas parcelas de estudio, se utilizó el Dendrograma, como se muestra en el gráfico 10, recordando la Ilustración 4 donde mostramos que ambas parcelas fueron divididas en 4 puntos de muestreo (A, B, C y D). Los resultados obtenidos en el Dendrograma de la población de hongos arrojaron que los puntos de muestreo más similares fueron los del área de investigación de San Andrés (CS, BS y AS) a una distancia de 1.5 y unidos al punto de A de la Montañita a una distancia 3, donde además se muestra a similitud de los puntos DS y BM del área de la Montañita. El punto más distante fue el del área de la Montañita (DM) donde la distancia donde se une con los demás puntos sobrepasa el valor mayor a 10.5 de distancia.

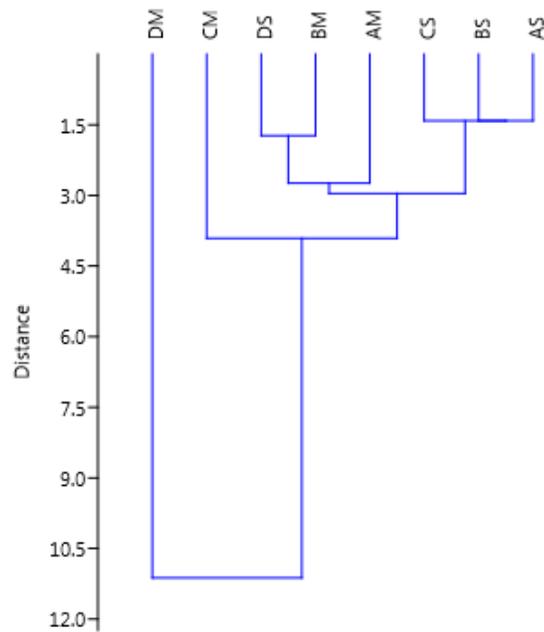


Gráfico 10. Representación gráfica en forma de árbol de la similitud/disimilitud de las cepas fúngicas presentes en los sitios de estudio durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.

8.3. Parámetros Físico-químicos del suelo.

8.3.1. Determinación de pH

Los resultados obtenidos del análisis de pH en los puntos de muestreo durante los tres meses de muestreo en cada sitio de estudio se detallan en la Tabla 13, donde el sitio de la Montañita en el primer muestreo se registró el pH promedio más alto con 7.07, y el pH promedio más bajo se registró en segundo muestreo con 7.02. Mientras que el sitio de San Andrés el pH promedio más alto lo obtuvo en el segundo muestreo con 6.29, y el pH promedio más bajo se registró en el segundo muestreo con 6.14.

Tabla 13. Valores de pH registrados en cada punto de muestreo durante los tres meses de muestro (agosto, septiembre y octubre de 2019) en los sitios de La Montañita y San Andrés.

DETERMINACION DE pH						
PUNTOS	PRIMER MUESTREO		SEGUNDO MUESTREO		TERCER MUESTREO	
	LA MONTAÑITA	SAN ÁNDRES	LA MONTAÑITA	SAN ÁNDRES	LA MONTAÑITA	SAN ÁNDRES
A	7.31	6.28	7.12	6.31	7.12	6.34
B	6.82	6.1	6.59	6.12	6.83	5.98
C	7.21	6.77	7.15	6.53	7.01	6.89
D	6.92	5.76	7.23	5.58	7.25	5.48
PROMEDIO	7.07	6.23	7.02	6.14	7.05	6.17

En el gráfico 11 se visualizan los promedios de los rangos de pH obtenidos en cada punto de muestreo durante los meses de agosto a octubre, para el caso del sitio de La Montañita el promedio de pH más alto se registró en el punto A con 7.18, y el más bajo en el punto B con 6.75. Para el sitio de San Andrés el punto C se obtuvo el promedio más alto con 7.12 y en el punto B el promedio más bajo con 6.07.

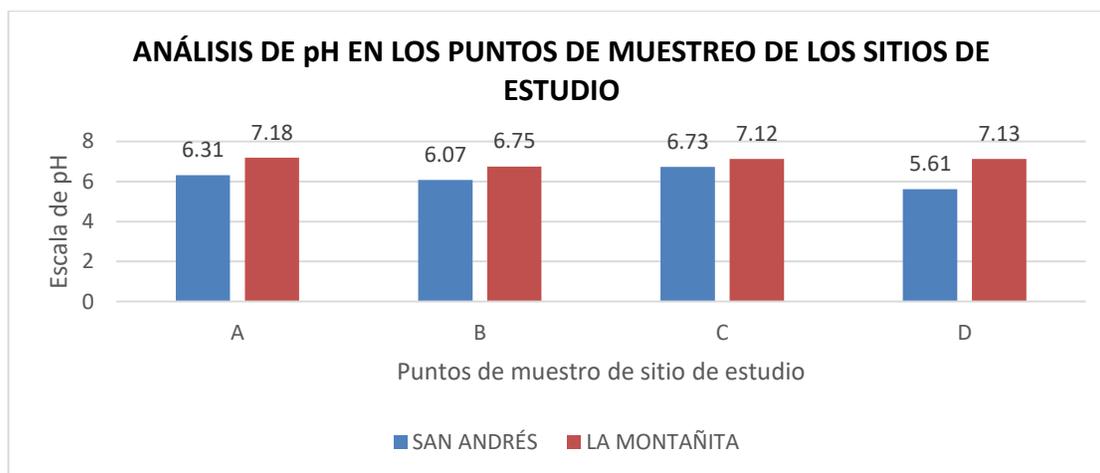


Gráfico 11. Representación gráfica en barra del promedio de rango de pH en los puntos de muestreo de los sitios la Montañita y San Andrés, entre los meses de agosto a octubre del 2019.

8.3.2. Determinación de humedad.

Se determinó el porcentaje de Humedad de cada punto de muestreo de los dos sitios de muestreo durante los tres meses de muestreo, de agosto a octubre de 2019; el primer muestreo del sitio La Montañita se registró el mayor promedio del porcentaje de humedad con 26.57% y el menor

porcentaje de tomó en el segundo muestreo con el 20.41%; mientras que el sitio de San Andrés también obtuvo su mayor porcentaje de humedad en el primer muestreo con el 28.44% y el menor porcentaje se registró en el segundo muestreo con 20.47%, como se detalla en la Tabla 14.

Tabla 14. Valores del porcentaje de humedad determinados en cada punto de muestreo de los dos sitios de estudio, durante los meses de muestreo de agosto a octubre de 2019.

DETERMINACION DE HUMEDAD						
PUNTOS	PRIMER MUESTREO		SEGUNDO MUESTREO		TERCER MUESTREO	
	LA MONTAÑITA	SAN ÁNDRES	LA MONTAÑITA	SAN ÁNDRES	LA MONTAÑITA	SAN ÁNDRES
A	29.36	46.84	13.37	25.15	26.26	30.03
B	25.94	29.87	27.71	14.28	19.47	24.37
C	23.9	24.06	23.45	18.06	17.09	26.42
D	27.06	12.99	17.09	24.37	24.06	29.19
PROMEDIO	26.57	28.44	20.41	20.47	21.72	27.50

En el gráfico 12 se visualizan los valores promedios de cada punto de muestreo, para el sitio de La Montañita fueron: en el punto A: 23 %, B: 24.37%, C: 21.48% y D: 22.74%, siendo el punto B con el mayor porcentaje de humedad y el punto C con el menor porcentaje de humedad. Los valores promedio del sitio San Andrés para cada punto fueron: en el punto A: 34.01 %, B: 22.84%, C: 22.85 % y D: 22.18, siendo el punto A el valor con más alto porcentaje de humedad y el punto D con el menor valor de porcentaje de humedad.

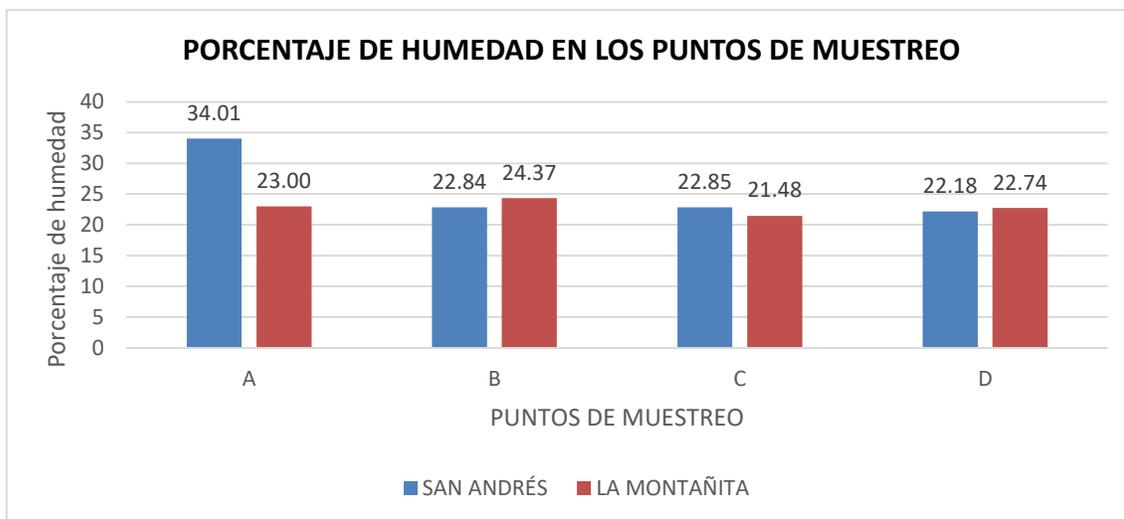


Gráfico 12. Representación gráfica en barra del porcentaje promedio de humedad en los puntos de muestreo de los sitios La Montañita y San Andrés, entre los meses de agosto a octubre del 2019.

8.3.3. Determinación de textura.

Según los resultados del proceso según la FAO (2009) se determinó que la textura de los sitios de estudio es: para la Montañita es un suelo franco-arcilloso y para San Andrés un suelo franco-arenoso.

8.3.4. Temperatura ambiente.

La temperatura promedio registrada en los sitios de muestreo fue de 26.77°C en la Montañita y de 28.07°C en San Andrés, se detalla en la tabla 15.

Tabla 15. Valores de la Temperatura ambiente registrados en los sitios de estudio, San Andrés y La Montañita, durante los meses de muestreo de agosto a octubre del 2019.

MUESTREO	SAN ANDRÉS	LA MONTAÑITA
1	28	26.50
2	27.6	26.30
3	28.6	27.50
PROMEDIO	28.07	26.77

Nota aclaratoria: con respecto a las cepas aisladas en este documento, se hace la aclaración sobre su viabilidad; debido al tiempo requerido para la comprobación de la metodología utilizada, y los efectos de la pandemia mundial causada por el virus COVID-19, se notifica al lector que las Cepas NO están disponibles en el Laboratorio de Microbiología Agrícola. En el periodo de cuarentena no se pudo proseguir con el mantenimiento y verificación de viabilidad correspondientes, causando la pérdida de estas cepas.

IX. DISCUSIÓN.

El suelo es un ecosistema complejo, muy diverso e importante del planeta, que ofrece y alberga una alta variedad de microhábitats (Frioni 2006, González 2010, Mau *et al.* 2011, Pfenning 2012, Swift *et al.* 2012, Ordoñez 2017, Pacasa *et al.* 2017). Los suelos especialmente los agrícolas, son sometidos a diversos manejos a lo largo del tiempo, modificando los microbiomas naturales. (Pfenning 2012, Hartmann *et al.* 2015), datos estadísticamente no confirmados en su totalidad en los resultados de esta investigación, acerca de la diversidad microbiana (bacterias y hongos), donde La Montañita con sistema de manejo agroecológico y San Andrés con sistema de manejo convencional, no muestran valores estadísticamente significativos para la comunidad bacteriana entre ambos lugares; en cambio en la comunidad fúngica los valores estadísticos obtenidos muestran las diferencias en la biodiversidad entre ambos lugares. No obstante, puedan existir otros factores, que no fueron considerados en este estudio que influyeron en los resultados.

Algunos factores ambientales edáficos que determinan la composición de las comunidades microbianas son humedad, textura, disponibilidad de O₂, niveles de nutrientes, materia orgánica y el pH (Samaniego & Chew 2007, González 2010, MINAM 2014, Ordoñez 2017), de los cuales en este estudio se tomó el potencial de Hidrógeno (pH), obteniendo promedios de 6.18 en el sitio de San Andrés y 7.05 en la Montañita, promedios encontrados en un rango óptimo para bacterias de suelo según Junco & Rodríguez (2001). Para el caso de los hongos, autores como Arias & Piñeros (2008), describen que el pH óptimo ronda entre 4 y 6, datos que concuerdan con los resultados obtenidos en esta investigación

González (2010) describe la humedad como un factor que influye sobre los microorganismos, estudios como el de Ordoñez (2017) indican que en un cultivo con manejo convencional la humedad ronda los 48.5%, y en un cultivo con manejo orgánico es 51.51%, comparado con los datos obtenidos en este estudio, los resultados promedios de cada punto de muestreo obtenidos fueron bajos ya que en San Andrés fueron de 25.47%, y 22.90% para la Montañita. Otro de los factores ambientales que influye en los microorganismos es la temperatura, para Frioni (2006), Arias & Piñeros (2008), y Junco & Rodríguez (2001) el rango óptimo para el crecimiento de bacterias del suelo agrícola es de 30°C, para Kavanagh (2005) y Arias & Piñeros (2008) la mayoría de los hongos crecen a temperaturas entre 25 y 30°C, similares datos fueron los

registrados en este estudio presentando una media de 28.07 °C para el sitio de San Andrés y una media de 26.77 °C para el sitio de La Montañita.

Como factor final registrado fue el de la textura del suelo donde se obtuvo en San Andrés un suelo franco arenoso y para La Montañita un suelo franco arcilloso, González (2010) confirma que los suelos franco arenosos, son los ideales para el crecimiento de los microorganismos, debido a la aireación y poca capacidad para retener agua. Por lo tanto, los análisis fisicoquímicos realizados demuestran que no hay diferencias significativas entre el sistema de manejo agroecológico y el convencional del suelo, al igual que los resultados de Shannon *et al.* 2002 y Ordoñez (2017) que estudiaron la diversidad microbiana en ambos sistemas de manejo de suelo.

Para la extracción de las muestras fueron tomados estudios de Frioni (2006), Rojas *et al.* (2013), Ordoñez (2017), Condori *et al.* (2019) y Marcos *et al.* (2019), donde es considerada a la rizósfera como el lugar de mayor abundancia de microorganismos, debido a que es ahí donde interactúan la mayoría de procesos biológicos y químicos entre microorganismos, nutrientes y plantas. Con base a eso, y la metodología recomendada por Samaniego & Chew (2007), Schweizer (2011) y MINAM (2014) se extrajeron las muestras a una profundidad entre 0-30 cm., y a una distancia de 50 cm de la planta.

Higa & Wididana (1991) establecen que en suelos con un alto contenido de materia orgánica estarán colonizados por microorganismos benéficos y dañinos, formando así la abundancia biótica de los suelos, como lo mencionan Calvo *et al.* (2008), Franco (2009), Ortiz (2010), Salazar & Ordoñez (2013) Crespo (2013), Moreno *et al.* (2013), Argüello & Moreno (2014) y López *et al.* (2015), dicha abundancia es medida en estos estudios como Unidades Formadoras de Colonias (UFC), que para bacterias, es normal encontrar de 10^5 a 10^8 UFC por gramo de suelo, para hongos los rangos normales entre 10^5 a 10^6 UFC por gramo de suelo seco. En este estudio, los datos obtenidos estuvieron en rangos normales de suelos agrícolas como lo menciona Argüello & Moreno (2014); en la Montañita las bacterias se encontraron en 4×10^5 UFC, en San Andrés 4×10^5 UFC y para hongos 2.53×10^4 y 2.5×10^5 respectivamente.

Para llevar a cabo la identificación de los microorganismos como bacterias y hongos autores como Hartmann *et al.* (2014), Pershina *et al.* (2015), Leyva *et al.* (2017), Ordoñez (2017), Condori *et al.* (2019), Marcos *et al.* (2019) utilizaron técnicas moleculares para la extracción de

ADN, a diferencia de las técnicas tintoriales y bioquímicas que se utilizaron en este estudio, logrando así, identificarlas hasta familia bacterianas y hasta géneros fúngicos.

De las 235 cepas aisladas, 129 fueron bacterias y 106 fueron hongos microscópicos, de las cuales el porcentaje de cepas bacterianas se distribuye en: 44% del grupo de las denominadas actinomicetos bacterias filamentosas esporuladoras Gram positivo, 33% de bacterias Gram negativo y 23% de bacterias Gram positivo, resultados que concuerdan con diversos estudios como el de Mau *et al.* (2011), la variación de la diversidad de bacterias está influenciada como lo menciona González (2010), Mau *et al.* (2011) y otros estudios similares en la influencia de los factores como pH, humedad relativa y las condiciones nutricionales. Cabe destacar los beneficios obtenidos por la planta con la presencia de bacterias rizosféricas como los actinomicetos: gracias a ellos la planta tolera mejor el estrés y favorecerá el desarrollo, así como lo menciona Argüello *et al.* (2016) y Condori *et al.* (2019).

En estudios recientes, a los actinomicetos se les agrupa entre los Promotores de Crecimiento Vegetal, gracias a la infinidad de beneficios causados a la planta, como la producción de auxinas y giberelinas (Reyes *et al.* 2015, Condori *et al.* 2019), además, son controladores biológicos, una de ellos es el género *Streptomyces spp.* aislado por González (2010) y Condori *et al.* (2019) donde demostró gran influencia antagónica sobre *Meloidogyne spp.* que causa grandes pérdidas económicas en hortalizas, plantas medicinales, frutales, entre otras.

Otros géneros como *Actinomyces* y *Nocardia* son reportados como productores de sideróforos (Aguado *et al.* 2012). Muy probablemente estos géneros se encuentren en las familias reportadas en este estudio, donde la familia Actinomycetaceae presentó 6 cepas, la familia Nocardiaceae 10 cepas y la familia Streptomycetaceae 3 cepas. Todas las familias destacadas por diversos autores como organismos de gran importancia en los suelos por producir metabolitos secundarios que confieren a las plantas beneficios en su desarrollo. Similar dato de los *Streptomyces* que fueron reportados por Soroa *et al.* (2009) con una población menos abundante con un 2% en su estudio.

En relación al grupo de las bacterias Gram negativas se encontraron 42 cepas caracterizadas morfológicamente en las familias Moraxellaceae (11%), familia Neisseriaceae (6%), familia Enterobacteriaceae (3%), familia Pseudomonadaceae (2%) y familia Yersiniaceae (1%), de las 42 cepas 37 tenía morfología de coco, 5 cepas de bacilos y 11 cepas con morfología cocoidal que no pudieron ser identificadas, Rojas *et al.* (2013) presentó datos similares en cuanto a la morfología, ellos encontraron 24 especies de *Neisseria*, 8 especies de *Moraxella*, y 7 especies de *Acinetobacter*, algunas especies patógenas y comunes en el suelo, pero que su presencia en el agua y suelo puede estar relacionada con el reciclamiento de los nutrientes. Entre las bacterias Gram negativas como promotoras de crecimiento vegetal se encuentra *Pseudomonas spp.* reportadas por Aguado *et al.* (2012) y Soroa *et al.* (2009) como productoras de sideróforos.

Argüello & Moreno (2014) destacan la importancia de las bacterias Gram negativas como fijadoras de Nitrógeno y con gran potencial biofertilizante, entre las familias reportadas en este estudio están las Enterobacterias.

El grupo de bacterias Gram positivas presentó menor abundancia en los dos sitios de estudio, se aislaron y purificaron 30 cepas, que pertenecen las familias: Staphylococcaceae 15 cepas, Enterococcaceae 13 cepas, Bacillaceae y Lactobacillaceae con 1 cepa cada una.

Pérez & Chamorro (2013) y Porcel (2017) expresan que la diversidad de Bacterias Promotoras del Crecimiento Vegetal (PGPBs) en la rizósfera varía en gran medida según el tipo de planta, suelo y de los nutrientes disponibles, entre la más conocida se encuentran el género *Bacillus spp.*, que es uno de los grupos más estudiado y de mayor uso como agente de biocontrol (*Rhizoctonia solani*, *Pythium aphanidermatum* (Edson) Fitzp. y *Sclerotium rolfsii*) por la capacidad colonizadora en raíces y la capacidad efectiva de esporulación, representando una alternativa a una variedad de fungicida; además es reportada por Cubillos (2009) como bacteria que participa durante el proceso de desnitrificación en el ciclo del Nitrógeno. En este estudio la familia Bacillaceae está presente con el aislamiento de una cepa en el sitio San Andrés, mientras que el estudio de Soroa *et al.* (2009), fue una población dominante con el 19%.

Ciertos microorganismos como *Lactobacillus* por la baja disponibilidad del hierro en el suelo se han adaptado a utilizar otros metales con menos problemas de adquisición que el hierro y debido a eso no es catalogado como productor de sideróforos (Aguado *et al.* 2012). En el estudio

de Cubillos (2009) los géneros *Bacillus* y *Lactobacillus* fueron reportados que presentan la capacidad para degradar hidrocarburos. La familia Lactobacillaceae está representada por una cepa aislada en el sitio San Andrés.

En el proceso de aislamiento e identificación de los hongos se encontraron géneros que son agrupados por Ortiz (2010) como lignolíticos y con actividad peroxidasa en suelos agrícolas: *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Penicillium spp.*, *Cladosporium spp.*, *Beauveria spp.*, *Chaetomium spp.*, y *Trichoderma spp.*, 7 especies de 9 que el autor reportó en su estudio. Además, Uribe & Melgarejo (2012) y Cabrera (2000) los describen como organismos capaces de hidrolizar la celulosa y la hemicelulosa.

En cuanto a la clasificación de hongos fitopatógenos se encontraron algunos géneros como: *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, reportados también por Agrios (2005), Tapia & Amaro (2014) y Reyes *et al.* (2015) causando enfermedades como marchitez en las hojas, disminución de la producción. Además, se aisló el género de *Cladosporium spp.*, *Pythium spp.*, *Phytophthora sp.*, descrito por Arias & Jerez (2008) como géneros de gran relevancia por su capacidad para atacar diversos cultivos, por las lesiones representativas, el daño generado a la planta y su facilidad de propagación. Sin embargo, estudios realizados por Soler *et al.* (2012), Salazar & Ordoñez (2013), Pérez & Chamorro (2013), Reyes *et al.* (2015), Evangelista *et al.* (2007), Parada *et al.* 2017, y Díaz *et al.* (2018) reportan que estos géneros fitopatógenos son biocontrolados en su mayoría por el grupo de actinomicetos que secretan ciertos metabolitos antifúngicos.

Suárez & Rangel (2013), identificaron en su estudio el potencial biológico antagónico de los géneros como *Trichoderma spp.*, *Gliocladium spp.* y *Paecilomyces spp.*, contra *Moniliophthora rorei*, resultando como grandes controladores, además menciona a géneros de bacterias como *Bacillus spp.* y *Micrococcus spp.*, cepas aisladas de cultivos de cacao que también fueron identificadas en este estudio. Cabe mencionar que género *Paecilomyces spp.*, se encontró únicamente en el sitio de La Montañita con 3 cepas.

Además, en el estudio de Soler *et al.* (2012) describe a *Trichoderma spp.* como un PGPBs que puede contribuir sustancialmente a la promoción de crecimiento vegetal, y Frioni (2006) menciona que este género produce muchos metabolitos activos, y el género *Gliocladium spp.*, producen varios metabolitos como patulina y pioluteorina.

Muchas enfermedades del cacao son inducidas por la presencia de hongos, por ejemplo, *Phytophthora spp.* es el causante de “la mazorca negra” que produce manchas pardas a negras en todo el fruto y al llegar a la semilla la pudre en su totalidad. *Moniliophthora spp.* causa dos enfermedades al cacao que son la escoba de bruja y la moniliasis, la primera infecta diferentes tejidos de la planta, reduciendo su crecimiento, produce necrosis en la planta, junto con la moniliasis causa pérdidas totales en todo el cultivo. No obstante, en este estudio sólo se reporta el género *Phytophthora spp.*

Como datos finales, estudios de Sánchez (2015), Shannon *et al.* (2002) y Ordoñez (2017), señalan no encontrar diferencias estadísticamente significativas entre las parcelas de manejo convencional y orgánico en el cultivo de cacao, en contexto, similares resultados fueron los obtenidos en este estudio en la comunidad de bacterias debido a que los valores fueron similares en los análisis realizados, en el índice de diversidad de Margalef se obtuvo un valor de 2.96 en San Andrés, en la Montañita 3.05 de riqueza, además, en el índice de Shannon-Weiner se obtuvo en San Andrés un valor de 2.29, en la Montañita fue un dato de 2.07. Para el caso del índice de Simpson no hubo mayor diferencia, en San Andrés un valor de 0.88, y en la Montañita se con un dato de 0.81. Además, se midieron índices de similitud, con Jaccard se obtuvo un valor de 0.59, Sorensen con un valor de 0.74, ambos resultados muestras similitud moderada entre los sitios, y un valor de complementariedad de 0.41, que resulta en cuanto a la composición de especies, son poco similares.

En el caso de la diversidad de hongos, los valores obtenidos si muestran dicha diferencia estadísticas en ambos sitios, en el índice de diversidad de Margalef se obtuvo para San Andrés 1.97, y para La Montañita se obtuvo 3.52. El índice de Shannon-Weiner para San Andrés dio un valor de 1.78, y para La Montañita un valor de 2.32. El índice de Simpson en San Andrés un valor de 0.79, y para La Montañita un valor de 0.86. Se puede concluir que el sitio más diverso, con mayor abundancia y riqueza de hongos fue la Montañita, y cabe destacar también la presencia de la mayor abundancia de hongos controladores. Además, se midieron índices de similitud, con Jaccard se obtuvo un valor de 0.50, Sorensen con un valor de 0.67, valores que expresan la disimilitud de especies entre los dos sitios, y un valor de complementariedad de 0.50, valor mediamente diferente en composición de especies.

X. CONCLUSIONES.

Los resultados de los parámetros fisicoquímicos que se analizaron (pH, humedad, temperatura y textura) en este estudio, muestran que ambos sitios de estudio presentan condiciones fisicoquímicas óptimas para el desarrollo de los microorganismos encontrados, como bacterias, actinobacterias y hongos, reportando un total de 235 cepas de microorganismos bajo las condiciones antes mencionadas. Con mayor relevancia los resultados en las variaciones de pH que mostraron no influir en el número de organismos rizosféricos presentes en las muestras, es posible debido a que los microorganismos aislados crecen mejor en un pH neutro (7), sabiendo que no es un valor óptimo para otros microorganismos.

Los datos obtenidos de las UFC de cada sitio de estudio son altos, encontrándose en los rangos normales para suelos agrícolas, lo que demuestra la abundancia de microorganismos del suelo presentes en esta investigación. Sin embargo, en el sitio “La Montañita” con un manejo de suelo agroecológico fue ligeramente mayor, en comparación al sitio de San Andrés con un manejo de suelo convencional. Por lo tanto, la diferencia en el manejo agronómico utilizado en cada sitio no ha sido significativo.

La obtención de las muestras en la zona rizosférica pudo evidenciar la diversidad y abundancia encontrada en cada sitio, en las bacterias el grupo de los actinomicetos fue el más abundante en ambos sitios de muestreo, cuyas familias Micrococcaceae y Moraxellaceae representaron el mayor porcentaje. En los hongos, los géneros más abundantes fueron *Penicillium spp* y *Aspergillus spp*. Estas cepas de microorganismos son los ejemplares más comunes aislados de los suelos tanto con ecosistemas naturales como con sistemas agrícolas.

Los sistemas agrícolas influyen en gran medida sobre los organismos del suelo, como: en su actividad y biodiversidad, sin embargo, a pesar de las diferencias en el manejo agronómico utilizado se lograron aislar e identificar microorganismos que se encuentran presentes en ambos sitios, posiblemente se deba a las condiciones similares que mostraron los análisis físico-químicos realizados. No obstante, se encontraron algunos microorganismos que no están presentes en uno de los dos sitios, dada la posibilidad que algún factor pudo influir en la presencia o ausencia de estos microorganismos.

Entre los factores registrados en esta investigación podemos decir que el pH más ácido de San Andrés limitó el crecimiento de hongos microscópicos, sumado a ello la temperatura más cálida del área, estos factores son influenciados principalmente por el tipo de manejo agronómico, que a su vez condiciona los factores, físicos, químicos y biológicos, es decir, al adicionar al suelo químicos, estos favorecen el crecimiento de algunas cepas resistentes a estos cambios, adecuando también, un ambiente para la abundancia de estos, por lo que al no existir una competencia por nutrientes muchos microorganismos no crecerán, conllevando así a un declive de la biodiversidad, a una escases de nutrientes producidos por estos microorganismos inexistentes, al empobrecimiento de los suelos y por tanto a las plantas.

Los microorganismos aislados e identificados en esta investigación, están descritos en diversos estudios similares sobre biodiversidad microbiana del suelo en ecosistemas naturales, aunque son pocos en sistemas agrícolas, por lo tanto, se convierte en gran aporte para el rubro de la agricultura. Entre los microorganismos patógenos para el cultivo de cacao se encuentran: *Alternaria spp.*, *Fusarium spp.*, *Pythium spp.*, *Phytophthora spp.* y bacterias de la familia Pseudomonadaceae, y como microorganismos benéficos por su capacidad de biocontrol, los géneros: *Trichoderma spp.*, *Beauveria spp.* y *Paecilomyces spp.*, además bacterias de la familia Bacillaceae, Lactobacillaceae, y el grupo de las Actinobacterias, responsables mayormente de la producción de metabolitos secundarios importantes para el biocontrol de patógenos fúngicos.

Los resultados del análisis de diversidad para la comunidad bacteriana en cada sitio de estudio, mostraron que no hay diferencias significativas entre ambos lugares, concluyendo que ambos lugares son igual de diversos en riqueza, lo que sustenta a la vez los análisis físicos-químicos no influyeron en la diversidad presente en ambos sitios. Aunque los valores mostrados en La Montañita con manejo agroecológico fueron ligeramente superiores a los valores obtenidos para San Andrés con manejo convencional.

El análisis de diversidad para la comunidad de hongos en cada sitio de estudio, mostraron una diferencia significativa en entre los dos sitios de estudio, concluyendo que el sitio de la Montañita es el sitio de estudio más diverso en riqueza de especies. Los valores reportados para La Montañita son superiores a los valores descritos de San Andrés. Además, el coeficiente de Jaccard en cuanto a la similitud de especies entre ambos sitios da un valor medio que indica que ambos sitios comparten la mitad de las especies reportadas.

Con base a los resultados obtenidos en este estudio, podemos afirmar que el área de investigación de la Montañita que representó el tipo de manejo agronómico orgánico, posee un suelo más rico en biodiversidad, lo que se traduce a un suelo más rico en nutrientes, debido a que cada una de las especies presentes funge su papel fundamental en el ecosistema, siendo parte del gran equilibrio natural de los suelos, proveyendo así, de esta gran cantidad de nutrientes a las plantas. Además, en esta área se aisló la mayor cantidad de microorganismos registrados por otros autores como biocontroladores, que limitan la posibilidad de enfermedades para el suelo y para las plantas ya que mantienen controladas a las cepas identificadas como patógenos.

En cambio, el área de San Andrés, ha resultado en un suelo empobrecido por el tipo de manejo agronómico utilizado, en donde, a pesar de registrar la mayor abundancia de cepas y de UFC, esto se distribuyó en unos pocos aislados, en donde muchas de las cepas fueron identificadas por su abundancia en suelos agrícolas que han sido alterados, demostrando que el equilibrio químico ha influenciado grandemente en el equilibrio biológico.

XI. RECOMENDACIONES.

Implementar pruebas bioquímicas más específicas posibles y profundizar los estudios a nivel molecular para apoyar la identificación hasta géneros de poblaciones bacterianas y fúngicas como posibles candidatos como agentes biofertilizantes en la promoción de crecimiento vegetal y para analizar sus posibles capacidades para producir diversos metabolitos secundarios.

Realizar estudios más profundos para la identificación de las bacterias endófitas ya que son otro grupo importante que actúan, como agentes de biocontrol de patógenos que causan enfermedades de importancia económica en diversos cultivos y que en diversos estudios se puede observar que el mejoramiento del desarrollo de la planta y el aumento de la tolerancia de los cultivos frente al estrés, son algunos de los beneficios que estas bacterias presentes en los cultivos pueden aportar a la agricultura.

Promover la investigación para demostrar la capacidad que poseen los actinomicetos y otros microorganismos para mejorar el crecimiento de plantas, mediante la producción fitohormonas como el ácido indol acético y con una alta capacidad para producción de sideróforos, aprovechando las fuentes de hierro, ya que es uno de los microelementos esenciales para prácticamente todos los seres vivos, en este caso, para las poblaciones microbianas, enfatizando sus aplicaciones como una alternativa biológica que no es nocivo para el medio ambiente.

Para los productores de cacao en el país y con base en los datos obtenidos en esta investigación se recomienda un manejo orgánico de sus cultivos.

Incentivar en las nuevas generaciones la investigación como lo plantean los grandes filósofos Kant y Fichte, para consolidar una mejor y buena relación del ser humano y el medio que le rodea.

XII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Abarca, Lourdes María. 2000. Taxonomía e identificación de especies implicadas en la aspergilosis nosocomial. *Revista Iberoamericana de Micología* 17: 79-84 pp.
- Agrios, George N. 2005. *Fitopatología*. Segunda edición Limusa. Ciudad de México, 838 pp. Disponible online: <https://infoagronomo.net/fitopatologia-gn-agrios-pdf/>
- Aguado Santacruz Gerardo A., Moreno Gómez Blanca, Jiménez Francisco Betzaida, García Moya Edmundo y Preciado Ortiz Ricardo E. 2012. Impacto de los sideróforos microbianos y fitosideróforos en la asimilación de hierro por las plantas: Una Síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana* 35(1): 9 – 21 pp.
- Aguirre Medina J. F., Alonso Báez M., Iracheta Donjuan L., Grajales Solís M., Avendaño Arrazate C. H., Sandoval Esquivel A., Mendoza López A., Solís Bonilla J. L., Olivera De los Santos A., López Navarrete M. C., Zamarripa Colmenero A., Gallardo Méndez R. A., López Guillen G. 2010. *Tecnologías para la producción de cacao*. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, México. 212 p.
- Akintui Miriam, Alcántara Heidlhy, Alva Alexandra, Castillo Hirwin, Huayán José y Llenque Luis. 2015. *Pseudomonas fluorecens* de suelos agrícolas degradadora del herbicida ácido 2,4 Diclorofenoxiacético. *REBIOLEST* 3(2): 9-13 pp. *Revista Científica de estudiantes, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional de Trujillo*. Trujillo, Perú.
- Alcolado P. M. 1998. *Conceptos e índices relacionados con la Diversidad*. Instituto de Oceanografía. La Habana Cuba.
- Allende Molar, R., Picos Muñoz A., Márquez Zequera I., Carrillo Fasio J. A., García Estrada R, S., León Felix J. 2013. Identificación morfológica y molecular de *Penicillium oxalicum* causante de pudrición de tallos y frutos de tomate. *Revista Mexicana de fitopatología* 31(1): 13-19 pp.
- Arencibia Arrebola Daniel Francisco, Rosario Fernández Luis Alfredo, Gámez Menéndez Rafael. 2008. *Métodos generales de conservación de microorganismos*. LIORAD Ediciones. Cuba.

- Argüello Navarro, Adriana Zulay y Laura Yolima Moreno Rozo. 2014. Evaluación del potencial biofertilizante de bacterias diazótrofias aisladas de suelos con cultivos de cacao (*Theobroma cacao* L.) Acta Agronómica 63(3): 238-245 pp.
- Argüello Navarro, Adriana Zulay, Niccolay Madiedo Soler y Laura Yolima Moreno Rozo. 2016. Cuantificación de bacterias diazótrofias aisladas de suelos cacaoteros (*Theobroma cacao* L.) por la técnica de Número Más Probable (MPN). Revista Colombiana de Biotecnología 18(2): 40-47 pp.
- Arias Tauta Julie Katherine y Jerez Ramírez Andrea del Pilar. 2008. Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica y microscópica de hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la sabana de Bogotá. Tesis de grado Pontificia Universidad Javeriana. Colombia.
- Arias Cifuentes E. L. y Piñeros Espinoza P. A. 2008. Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestras de suelo de los páramos de Guasca y Cruz Verde. Trabajo de Graduación para optar al grado de Microbiólogas Industriales. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia
- Arroyave S. Milena S., y Correa Restrepo F. J. 2009. Análisis de la contaminación del suelo: revisión de la normativa y posibilidades de la regulación económica. Semestre Económico 12(23): 13-34 pp. Universidad de Medellín. Medellín, Colombia.
- Arvelo Sánchez Miguel Ángel, Delgado Tania, Maroto Arce Steven, Rivera Javier, Higuera Inocencio, Navarro Alejandro. 2016. Estado actual sobre la producción y el comercio del cacao en América. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A. C. (CATIEJ). San José, Costa Rica. 152 p
- Arvelo Sánchez Miguel Ángel, Gonzáles León Diego, Delgado Tania, Maroto Arce Steven, Montoya Rodríguez Paola. 2017. Estado actual sobre la producción, comercio y cultivo del cacao en América. . Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA), Fundación Colegio de Postgraduados en Ciencias Agrícolas, San José, Costa Rica. 280 pp.

- Argumedo Delira Rosalba, Alarcón Alejandro, Ferrera Cerrato Ronald y Peña Cabriaes Juan José. 2009. The fungal genus *Trichoderma* and its relationship with organic and inorganic pollutants. *Revista Intenacional de Contaminación Ambiental* 25(4): 257-269 pp. México.
- Banco Central de Reserva de El Salvador. 2018. Informe Analítico de Comercio Exterior de El Salvador, El Salvador.
- Barnett Horace Leslie y Hunter Barry B. 1998. *Illustrated genera of imperfect fungi*. 4th ed. APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Barrer Berdugo Silvia Eugenia. 2009. El uso de hongos Micorrízicos Arbusculares como una alternativa para la agricultura. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* 15(1): 125-132 pp. Universidad Industrial de Santander, Colombia.
- Batista Lépidio. 2009. *Guía Técnica: el Cultivo de Cacao en la República Dominicana*. Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal (CEDAF). Santo Domingo, República Dominicana. 250 pp.
- Bautista Cruz A., Etchevers Barra J., del Castillo R. F., Gutiérrez C. 2004. La calidad del suelo y sus indicadores. *Revista Ecosistemas* 13(2): 90-97 pp. Asociación Española de Ecología Terrestre. Alicante, España.
- Benavides Martínez Heydi Aracely. 2007. Propuesta de guía de aplicación de técnicas de microbiología (Bacterias y Hongos) para ser utilizado en Microbiología General. Trabajo de Graduación para optar al grado de Licenciatura en Química y Farmacia. Facultad de Química y Farmacia. Universidad de El Salvador. 234 p.
- Benintende S., Sánchez C., Sterren M., Musante C. y Chajud A. 2009. Guía de trabajos prácticos. Cátedra de Microbiología Agrícola. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Entre Ríos. Argentina.
- Borriss Rainer. 2011. Chapter 3: Use of Plant-Associated *Bacillus* Strains as Biofertilizers and Biocontrol Agents in Agriculture, 41-76 pp. D. K. Maheshwari (ed), *Bacteria in Agrobiolgy: Plant Growth Responses*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

- Brundrett M. y Kendrick B. 1989. The roots and mycorrhizas of herbaceous woodland plants. Department of Biology, University of Waterloo, Waterloo, Ontario, Canada.
- Burgos Ramirez Alejandro. 2014. Estudio de la biodiversidad fúngica en el suelo del viñedo de la Finca La Grajera. Tesis de grado Universidad de la Rioja, Servicios de Publicaciones. España.
- Cabrera L. 2000. Aporte al conocimiento de la microbiota fúngica del suelo de la amazonia colombiana, con énfasis en tres grupos funcionales. Tesis de grado. Pontificia Universidad Javeriana. Santafé de Bogotá. Colombia. 353 p.
- Calvo Vélez P., Meneses Luis R., Zúñiga Dávila D. 2008. Estudio de las poblaciones microbianas del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en Zonas Altoandinas. *Ecología Aplicada* 7(1,2): 141-148 pp. Lima, Perú.
- Carmona V. & Carmona T. V. 2013. La diversidad de los análisis de diversidad. Departamento de Biología, Loyola Marymount University, Los Ángeles, California, EEUU.
- Carrillo, Leonor. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad de Salta. Disponible online: <https://www.academia.edu/35499435/>
- Castellanos Gonzáles Leónides, Lorenzo Nicao María E. y López Mesa María Ofelia. 2006. Especies de género *Aspergillus* asociadas con suelos agrícolas de la provincia de Cienfuegos. *Comunicaciones Breves, Centro Agrícola* 33(4): 89-90.
- Castillo C., Morales D., Fuentealba F. y San Martín V. 2016. Colonización temprana de hongos micorrícicos arbusculares en trigo con aplicación de productos naturales en un Andisol de La Araucanía. *Revista IDESIA* 34(2): 63-68 pp. Chile
- Castillo Carmen Elena, Cañizalez Luis Miguel, Valera Rafael, Godoy Jean Carlos, Guedez Clemencia, Olivar Rafael y Morillo Solbey. 2012. Caracterización Morfológica de *Beauveria bassiana*, aislada de diferentes insectos en Trujillo Venezuela. *Revista Academia* 11(23): 275-281 pp.

- Castillo Humberto, Rojas Randall y Villalta Manuel. 2015. *Gliocladium* sp., agente biocontrolador con aplicaciones prometedoras. Revista Tecnología en Marcha. Edición especial biocontrol. 65-73 pp.
- [CENTA] Centro Nacional de Tecnología Agropecuaria y Forestal “Enrique Álvarez Córdova”. 1993. Programa de Agroindustriales. Guía Técnica. División de Investigación. Departamento de Comunicaciones.
- Chan Cupul, Wilberth. 2009. Caracterización fisiológica y molecular de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown & Smith y su patogenicidad en estadios inmaduros de *Bemisia tabaci* (Gennadius). Tesis de grado. Instituto Tecnológico de Conkal, Yucatán. México.
- Comisión Europea. 2009. Informe de la conferencia Cambio climático: ¿el suelo puede cambiar las cosas? Bruselas.
- [CONABIO] Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. S/A. Bacterias. Biodiversidad Mexicana. Disponible online: https://www.biodiversidad.gob.mx/especies/gran_familia/Bacterias/bacteria.html
- Condori Pacsi Sandro J., Patrick R. Fernández Guzmán y María R. Valderrama Valencia. 2019. Aislamiento y caracterización de *Streptomyces* spp rizosféricos promotores del crecimiento vegetal. IDESIA 37(2): 109-116. Chile.
- Colwell, Robert K. y Jonathan A. Coddington. 1994. Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. The Royal Society Philosophical transactions of the R.S. B-Biological Sciences 345: 101-118.
- Crespo G. 2013. Funciones de los organismos del suelo en el ecosistema de pastizal. Revista Cubana de Ciencia Agrícola 47(4): 329-334 pp. Instituto de Ciencia Animal. La Habana, Cuba.
- Cruz A. A. 2015. Identificación de microorganismos edáficos asociados a cuatro diferentes plantaciones forestales en la zona central de Litoral Ecuatoriano. Universidad Técnica Estatal de Quevedo. Los Ríos, Ecuador.

- Cubillos Cárdenas Ana María. 2009. Identificación taxonómica de bacterias cultivables asociadas a los ciclos del carbono y nitrógeno en las cuencas de los ríos La Vieja y Otun (Eje cafetero – Colombia). Trabajo de grado, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Colombia.
- Cueto Moreno J., Aguirre Medina J. F., Iracheta Donjuan L., Zamarripa Colmenero A., Olivera De los Santos A., Grajales Solís M. 2007. El mejoramiento del cultivo de cacao (*Theobroma cacao L.*) en México. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental Rosario Izapa, Tuxtla Chico, Chiapas, Mexico. 250 p.
- Damas Buenrostro Gabriela. 2012. Aislamiento y efectividad de *Beauveria bassiana* Villemin para el control biológico de la Cucaracha urbana *Periplaneta americana* L. Tesis doctoral, Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Autónoma de Nuevo León. México. 141 pp.
- Dávila Medina M. D., Gallegos Morales G., Hernández Castillo F. D., Ochoa Fuente, Y. M., Flores Olivas A. 2013. Actinomicetos antagónicos contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, 4(8): 1187-1196. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, México.
- De Lucca Anthony J. 2007. Hongos patógenos comunes en la agricultura y la medicina. Revista Iberoamericana de Micología 24(1): 3-13.
- Delgado Arce R., Pérez Iarza G. 1997. Características biológicas de *Penicillium digitatum*, *P. italicum* y *P. alaiense* en postcosecha de citrus. Universidad de la Republica. Uruguay. Disponible online: <https://www.researchgate.net/publication/303752626>
- Delgado Cabeza M. 2010. El Sistema Agroalimentario Globalizado: Imperios Alimentarios y Degradación Social y Ecológica. Revista de Economía Crítica, número 10.
- Delgado Méndez Carlos Germán, Jairo Castaño y Bernardo Villegas Estrada. 2013. Caracterización del agente causante de la roña del maracuyá (*Passiflora edulis f. flavicarpa* DEGENER) en Colombia. Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales 37(143): 215-227 pp.

- Denys H. G. 1962. El cultivo del cacao y algunos trabajos y observaciones llevados a cabo en El Salvador. Tesis doctoral, San Salvador: Universidad Nacional de El Salvador.
- Díaz Díaz Miriam, Sánchez Hurtado de Mendoza Danieyis, Cupull Santana René, Bernal Cabrera Alexandre, Medina Marrero Ricardo, Carballo Bargos Miriam, García Bernal Milagros y Acosta-Suárez Mayra. 2018. Actinomicetos, alternativa biológica contra la marchitez de las posturas por *Rhizoctonia solani Kühn* en frijol común. Revista Centro Agrícola 45(2): 5-11 pp. Universidad Central “Marta Abreu” de las Villas. Cuba.
- Domínguez Romero D., Vásquez Rivera H., Reyes Reyes B. G., Arzaluz Reyes J.I. y Márquez Campos A.R. 2013. Aislamiento y purificación del hongo ectomicorrízico *Helvella lacunosa* en diferentes medios de cultivo. Universidad Autónoma del Estado de México. Instituto de Ciencias Agropecuarias y Rurales. Toluca, Estado de México
- Dostert Nicolas, Roque José, Cano Asunción, La Torre María y Weigend Maximilian. 2012. Hoja Botánica de Cacao: *Theobroma cacao L.* Giacomotti Comunicación Gráfica 1a edición, Lima, Perú.
- Dubón Aroldo y Sánchez Jesús. 2011. Manual de Producción de Cacao. Fundación Hondureña de Investigación Agrícola 1a edición, San Pedro Sula, Honduras. 208 pp.
- Echemendía Medina, Yamilé. S/A. Phytophthora: Características, diagnóstico y daños que provoca en algunos cultivos tropicales, Medidas de control. Instituto de Investigaciones en Fructicultura Tropical. Cuba.
- Eilers, Kathryn G., Spencer Debenport, Suzanne Anderson and Noah Fierer. 2012. Digging deeper to find unique microbial communities: The strong effect of depth on the structure of bacterial and archaeal communities in soil. Soil Biology and Biochemistry 50: 58-65.
- Elizalde G. 2009. El suelo en la fase superficial del ciclo geológico. Geoenseñanza 14(2): 265-292 pp. Universidad de los Andes. San Cristobal, Venezuela
- Estrada, Giselle e Ileana Sandoval. 2004. Patogenicidad de especies de *Curvularia* en arroz. Revista Fitosanidad 8(4): 23-26 pp. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. La Habana, Cuba.

- Evangelista Martínez Zahaed y Moreno Enríquez Angélica. 2007. Metabolitos secundarios de importancia farmacéutica producidos por actinomicetos. *Biotecnología* 11(3): 37-50 pp. Universidad Nacional Autónoma de México. México D. F.
- Faggioli VS. & MN Cabello. 2014. Diversidad de hongos formadores de micorrizas en un gradiente ambiental y de uso de suelo de la provincia de Córdoba. *Biología de Suelos*, INTA
- Fajardo L, Cuenca, G., Arrindell, P., Capote R. & Hasmy, Z. 2011. El uso de los hongos micorrízicos arbusculares en las prácticas de restauración ecológica. *Interciencia* 36(12): 931-936 pp. Asociación Interciencia Caracas, Venezuela.
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2009. Guía para la descripción de suelos, 4ª edición. Roma, Italia
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2016. Estado Mundial Del Recurso Suelo, Resumen Técnico. Roma, Italia
- [FAO] Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2017. Políticas públicas a favor de la agroecología en América Latina y el Caribe. Porto Alegre 412 pp.
- Fernández Olmos, Ana, Celia García de la Fuente, Juan Antonio Saéz Nieto y Sylvia Valdezate Ramos. 2010. Procedimientos en Microbiología Clínica: Métodos de identificación bacteriana en el laboratorio de microbiología. Sociedad Española de Enfermedades Infecciones y Microbiología Clínica.
- Fernández E., Fernández-Larrea O., Núñez R. 2003. Influencia de los nutrientes sobre la velocidad de crecimiento de *bacillus thuringiensis* lbt-25. *Fitosanidad*, vol. 7, núm. 2, pp. 43-47. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal. La Habana, Cuba
- Fernández Yurelkys Maura, Philippe Lachenaud, Cony Decock, Amauri Díaz Rodriguez y Noryaisi Abreu Romero. 2018. Caracterización de *Phytophthora*, agente etiológico de la pudrición negra de la mazorca del cacao en Cuba y Guyana Francesa. *Revista Centro Agrícola*. 45(3): 17-26 pp. Universidad Central Marta Abreu de las Villas. Cuba.

- Ferrera Cerrato, Ronald y Alejandro Alarcón. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Ergo Sum* 8(2). Universidad Autónoma del Estado de México.
- Ferriol Molina, M. & Merle Farinós, H. S. F. Los componentes alfa, beta y gamma de la biodiversidad. Aplicación al estudio de comunidades vegetales. Universidad Politécnica de Valencia
- Franco Correa Marcela. 2009. Utilización de los Actinomicetos en procesos de biofertilización. *Revista Peruana de Biología* 16(2): 239 – 242. Facultad de Ciencias Biológicas, Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Frioni, Lilian. 2006. Microbiología básica, ambiental y agrícola. Facultad de Agronomía. Universidad de la República de Uruguay.
- García López M. D. & Uruburu Fernández F. 2001. La conservación de cepas microbianas. Colección Española de Cultivos Tipo (CECT). Universidad de Valencia. España.
- García López M. P. 2011. Estudio Agromorfológico y fisicoquímico de ecotipos de cacao cultivados en los municipios de Usulután y California del Departamento de Usulután en El Salvador. Universidad José Matías Delgado. La Libertad, El Salvador
- Garrity George M. 2005. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume two: The Proteobacteria*, 2nd edition. Springer Bergey's Manual Trust, United States of America.
- Garrity George M. 2012. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Volume five: The Actinobacteria*, 2nd edition. Springer Bergey's Manual Trust, United States of America
- González Jiménez, Yesmy Tatiana. 2010. Los actinomicetos: una visión como promotores de crecimiento vegetal. Trabajo de grado para optar al título de Microbióloga Agrícola y veterinaria. Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá. Colombia.
- González Sáyer Sandra Milena. 2012. Evaluación de comunidades microbianas edáficas oxidantes del amonio durante un ciclo de cultivo de papa criolla (*Solanum phureja*). Tesis de grado, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

- Harrison M.J. 1997. The Arbuscular Mycorrhizal Symbiosis. In: Stacey G., Keen N.T. (eds) Plant-Microbe Interactions. Springer, Boston, MA
- Hartmann Martin , Beat Frey, Jochen Mayer, Paul Mader y Franco Widmer. 2015. Distinct soil microbial diversity under long-term organic and conventional farming. *The ISME Journal* 9: 1177-1194. International Society for Microbial Ecology.
- Hawksworth, David L. 1991. The fungal dimension of biodiversity: magnitude, significance and conservation. *Micological Research* 95(6): 641-655 pp.
- Hemant P. y Bhushan C. 2011. Agricultural implications of Actinomycetes. Kumar Arvind (editor) In book: Environment and Biotechnology. Daya Publishing House.
- Heredia Abarca Gabriela y Arias Mota Rosa María. 2008. Capítulo 14: Hongos saprobios y endomicorrizógenos en suelos. En: Hongos Agroecosistemas cafetaleros de Veracruz biodiversidad, manejo y conservación. Manson R. H., Hernández Ortiz V., Gallina S. y Mehltrete K. (editores). Instituto de Ecología A.C. Instituto Nacional de Ecología INECOL INE-SEMARNAT, México. 348 pp.
- Higa, Teruo y James F. Parr. 1994. Beneficial and effective microorganisms for a sustainable agriculture and environment. International Nature Farming Research Center Atami. Japan.
- Higa, Teruo y G. N. Wididana. 1991. Changes in the soil microflora induced by Effective Microorganisms. P 153-162. En J. F. Parr, s. B. Hornick and C. E. Whitman (ed). Proceedings of the First International Conference on Kyusei Nature Farming. U. S. Department of Agriculture, Washington, D. C. USA.
- Hogg Stuart. 2005. Essential Microbiology. John Wiley & Sons. The University of Glamorgan, UK. New Delhi, India
- [IICA] Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura & Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ), 2016. Estado actual sobre la producción y el comercio del cacao en América. San José, Costa Rica.

- [IICA] Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura & Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. (CIATEJ), 2017. Manual técnico del cultivo del cacao Prácticas Latinoamericanas. San José Costa Rica.
- Infante Danay, Martínez B., González Noyma y Reyes Duque Yusimy. 2009. Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal 24(1): 14-21 pp.
- Iza C y Díaz L. P. 2017. Aislamiento y caracterización de microorganismos biocatalizadores de ceniza volcánica en suelos agrícolas de Tungurahua. Universidad Central del Ecuador, Facultad de Ciencias Agrícolas. Quito. Ecuador.
- Izurieta Cergneux, Natalia. 2011. Recuento Bacteriano. Laboratorio de Bacteriología y Micología. Universidad Central del Ecuador, Quito, Ecuador.
- Izquierdo Rodas J. J., 2017, Contaminación de los suelos agrícolas provocado por el uso de agroquímicos en la Parroquia de San Joaquín, Universidad politécnica Salesiana, Sede Cuenca, Ecuador
- Jaizme-Vega M. C. Rodríguez-Romero A. S. 2008. Integración de microorganismos benéficos (hongos Micorrízicos y bacterias rizosféricas) en agrosistemas de las islas canarias. Revista Agroecología 3: 33-39. Instituto Canario de Investigaciones Agrarias (ICIA). Islas Canarias.
- Johnson J., M., Bonilla J. C., y Agüero Castillo L. 2008. Manual de Manejo y Producción de Cacaotero. Centro Nacional de Información y Documentación Agropecuaria. Nicaragua
- Junco Díaz, Raquel de los A. y Carlos M. Rodríguez Pérez. 2001. Capítulo 7: Cultivo y crecimiento de los microorganismos. Microbiología y Parasitología Médica, 47-54 pp.
- Kavanagh, K. 2005. Fungi biology and applicatios. John Wiley & Sons, Ltd. Inglaterra, 297 pp.
- Kirk, P. M., P. F. Cannon, D. W. Minter, J. A. Stalpers. 2008. Ainsworth & Bisby's dictionary of the fungi. 10ª edición CABI. Wallingford, UK. p 771.
- Kuhar F., Castiglia V., Papinutti L. 2013. Reino fungi: morfologías y estructuras de los hongos. Revista Boletín Biológica N° 28,

Kumar S., Singh M. & Sharma Sushil. 2017. Plant growth-promoting rhizobacteria induced resistance in *Jatropha curcas* through phenyl propanoid metabolism against *Rhizoctonia bataticola*. Journal of Applied and Natural Science 9(1): 121 – 128 pp.

Las Propiedades Bio-orgánicas del Suelo. S.F. Disponible online: <http://biologia.ucr.ac.cr/profesores/Garcia%20Jaime/SUELO/SUELO-PROPIEDADES%20BIOORGANICA.pdf>

Latorre Barrios Nelcy Edith. 2007. Evaluación de Medios de Cultivo Altos y Bajos en Nutrientes para la Recuperación de Heterótrofos Edáficos en la Ecoregión Cafetera De Los Andes, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.

Leyva Mir, Santos Gerardo, Hans Errol Vega Portillo, Héctor Eduardo Villaseñor Mir, Bertha Tlapal Bolaños, Mateo Vargas Hernández, Moisés Camacho Tapia, Juan Manuel Tovar Pedraza. 2017. Caracterización de especies de Fusarium causantes de pudrición de raíz del trigo en el bajío, México. Chilean Journal of Agricultural and Animal Science, Ex Agro-Ciencia 33(2): 142-151 pp.

López Cortés A., de-Bashan L. E., Bacilio Jiménez M. & Bashan Yoav. 2015. La Investigación en Microbiología Ambiental en Baja California: Importancia y Usos. Revista de Divulgación Científica Recursos Naturales y Sociedad. 1(7): 83-98 pp.

[MAG] Ministerio de Agricultura y Ganadería. 2011. Plan de Agricultura Familiar y Emprendedurismo rural para la Seguridad Alimentaria y Nutricional (PAF), La Libertad, El Salvador.

[MARN] Ministerio de Medio Ambiente y Recursos Naturales. 2015. Boletín Climatológico, Anual 2015.

Magurran Anne E. 1988. Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press, New Jersey. 179 pp.

Maite Orruño Inés A e Isabel Barcina. 2011. Como abordar y resolver aspectos prácticos de Microbiología. Departamento Inmunología, Microbiología y Parasitología. Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea.

- Malespín M. 1982. El Cacao. Ministerio de Desarrollo Agropecuario y Reforma Agraria. IICA Fondo Simón Bolívar. Publicación Miscelánea 381. Nicaragua. 61 p.
- Marcos Valle, Facundo, Virginia Moreno, Luciana Silvestro, Claudia Castellari, Alberto Díaz Delfino, Yolanda Andreoli y Liliana Picone. 2019. Diversidad fúngica en suelos con diferentes usos en la región Pampeana Argentina. *Chilean Journal of Agricultural and Animal Science, ex Agro-Ciencia* 35(2): 163-172 pp.
- Martínez Cruz Patricia, Ibáñez Ana, Monroy Oscar y Ramírez Hugo. 2012. Use of probiotics in aquaculture. *International Scholarly Research Network, ISRN Microbiology*, 13 pp.
- Martínez Nieto Patricia, Bernal Castillo Jaime, Agudelo Fonseca Erika y Bernier López Sandra. 2012. Tolerancia y degradación del glifosato por bacterias aisladas de suelos con aplicaciones frecuentes de ROUNDUP SL. *Revista Pilquen, sección Agronomía* 14(12): 1-11 pp. Departamento de Química, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Martínez Z. E., Quiñones Aguilar E. E. y Rincón Enríquez G. 2017. Potencial biotecnológico de las actinobacterias aisladas de suelos de México como fuente natural de moléculas bioactivas: compuestos antimicrobianos y enzimas hidrolíticas. Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco AC. Unidad Sureste, Unidad Zapopan. *Temas de Ciencia y Tecnología* 21(63): 39 – 51 pp.
- Mau Silvia, Vega Karen y Sánchez Mónica. 2011. Aislamiento de bacterias del suelo y su potencial utilización en sistemas de tratamiento de aguas residuales. *Revista de Ciencias Ambientales (Tropical Journal of Environmental Sciences)*, 42(2): 54-52 pp. Universidad Nacional, Costa Rica.
- McKean S. 1993. Manual de Suelos y tejido Vegetal. Una guía teórica y práctica de metodologías. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Méndez Baires K. L., Miranda Rivas E. & Rosales Linares L. C. 2011. Modelo de empresa procesadora de cacao para la obtención de productos con mayor valor agregado. Universidad de El Salvador. San Salvador El Salvador.

- Mendoza León L. H. 2014. Determinación del potencial promotor del crecimiento vegetal de las enterobacterias aisladas en la rizósfera del cultivo del maíz (*Zea mays* L.). Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo. Perú
- Mendoza Molina P. M. 2015. Identificación de las especies del hongo *Phytophthora* en plantas recibidas en “Plant Diagnostic Center, Louisiana State University”, Estados Unidos. Zamorano. Honduras.
- Mendoza Corrales R. B. & A. Espinoza. 2017. Guía muestreo de Suelos. Universidad Nacional Agraria y Catholic Relief Services (CRS). Managua, Nicaragua
- [MINAM] Ministerio del Ambiente. 2014. Guía para el muestreo de suelos. Dirección General de Calidad Ambiental. Lima, Perú.
- [MINEC] Ministerio de Economía. 2009. IV Censo Agropecuario 2007-2008. Resumen de resultados presentado por el comité técnico. San salvador. El Salvador.
- Molina L, Mauricio, Liliana Mahecha L, Marisol Medina S. 2005. Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas silvopastoriles. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 18(2): 162-175 pp. Medellín, Colombia.
- Montiel Rozas, María del Mar. 2016. Efectos de la rizósfera y de las enmiendas orgánicas en la fitorecuperación de suelos contaminados con elementos traza. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Memoria para optar al grado de Doctora por la Universidad de Sevilla.
- Mora Delgado, Jairo Ricardo. 2006. La actividad microbiana: un indicador integral de la calidad de suelo. Universidad de Caldas, Colombia. Disponible online: http://lunazul.ucaldas.edu.co/downloads/Lunazul5_6_9.pdf
- Moreno, Claudia E. 2001. Métodos para medir la biodiversidad. M&T-Manuales y Tesis SEA volumen 1, Zaragoza. 84 p.
- Moreno María Virginia, Biachinotti María Virginia, Silvestro Luciana Belén, Vásquez María Belén, Merlos Cristina y Stenglein Sebastián Alberto. 2013. Diversidad de hongos en suelos

- agrícolas, pp. 157-177. Ada S. Albanesi, editor. Microbiología Agrícola: un aporte de la investigación en Argentina. 2da edición. Tucumán, Magna Publicaciones, 500 pp.
- Narváez-Ortiz, W. A., Morales-Díaz, A. B., Benavides-Mendoza, A., Reyes-Valdés, M. H. 2015. Dinámica de la composición de la solución del suelo en cultivos del occidente de México Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas, núm. 12, ISSN: 2007-0934. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias Estado de México, México
- Navarro-Blaya S. & Navarro-García, G, 2003, Química Agrícola. Mundiprensa, Barcelona, España. 479 p.
- Ñústez C. E. & Acevedo J. C. 2005. Evaluación del uso de *Penicillium janthinellum* Biourge sobre la eficiencia de la fertilización fosfórica en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L. var. Diacol Capiro). Revista Agronomía Colombiana 23(2): 290-298. Universidad de Colombia.
- Ordoñez Tenesaca Silvia Liliana. 2017. Diversidad de comunidades de bacterias y hongos en suelos de cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) y café (*Coffea arabica*) bajo manejo organico y convencional. Tesis de Pregrado, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad de Cuenca. Ecuador.
- Organización de los Estados Americanos y Consejo Nacional de Planificación y Coordinación Económica. 1974. El Salvador: Zonificación Agrícola, Fase I. Departamento de Desarrollo Regional de la Secretaria Ejecutiva para Asuntos Económicos y Sociales.
- Órgano legislativo. 1973. Ley sobre control de pesticidas, fertilizantes y productos para uso agropecuario. Diario Oficial 85, tomo 239. San Salvador. El Salvador.
- Ortiz Moreno, M. L. 2010. Evaluación preliminar de la abundancia de hongos lignolíticos cultivables y su actividad peroxidasa, obtenidos a partir de suelos con diferentes usos agrícolas en zona rural de Villavicencio. Revista ORINOQUIA Volumen 14 - Sup (1). Universidad de los Llanos - Villavicencio, Meta. Colombia

- Ortíz, Tatiana, Valeria Ocampo, Luis Daniel Prada y Marcela Franco Correa. 2016. Métodos de conservación para actinobacterias con actividad solubilizadora de fósforo. *Revista Colombiana de Biotecnología*. 18(2): 32-39 pp.
- Pabón Villalobos Johana y Castaño Zapata Jairo. 2015. Evaluación de productos químicos y uno biológico para el manejo de *Phytophthora* spp. en naranjo “Salustiana” injertado en portainjerto Sunki. *Revista UDCA Actividad y Divulgación Científica* 18(2): 339-3349 pp.
- Pacasa-Quisbert Fernando, Manuel Gregorio Loza-Murguía, Alejandro Bonifacio-Flores, Lourdes Vino-Nina, Teófilo Serrano-Canaviri. 2017. Comunidad de hongos filamentosos en suelos del Agroecosistema de K’iphak’iphani, Comunidad Choquenaira-Viacha. *Journal of the Selva Andina Research. Society* 8(1):2-25. La Paz, Bolivia.
- Palmucci, Elena. 2015. Caracterización de especies fitopatógenas de *Pythium* y *Phytophthora* (Peronosporomycetes) en cultivos ornamentales del Cinturón Verde de la Plata – Buenos Aires y otras áreas y cultivos de interés. Tesis doctoral Universidad Nacional de la Plata. Argentina
- Parada B. R., Marguet E.R. & Vallejo M. 2017. Aislamiento y caracterización parcial de actinomicetos de suelos con actividad antimicrobiana contra bacterias multidrogo-resistentes. *Revista Colombiana de Biotecnología* 19(2): 17-23 pp.
- Paredes A., Mendis. 2003. Manual de cultivo del cacao. Ministerio de Agricultura, Programa para el desarrollo de la Amazonia. Perú 100 p.
- Pedraza R. O., Teixeira, Kátia R.S.; Fernández Scavino, A.; García de Salamone, I.; Baca, B. E.; Azcón, R.; Baldani, Vera L.D.; Bonilla, R. 2010. Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revisión. *Corpoica. Ciencia y Tecnología Agorpecuaria*, vol. 11, núm. 2, pp. 155-164. ISSN: 0122-8706 Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria Cundinamarca, Colombia.
- Pfenning, Ludwig H. y Magalhães de Abreu, Lucas. 2012. Capítulo 8: Hongos del suelo, saprófitos y patógenos de plantas; p. 243-280. Fátima M. S. Moreira, E. Jeroen Huisim y David E. Bignell, editores. *Manual de biología de suelos tropicales*. Instituto Nacional de Ecología, México, 337 pp.

- Pérez Alexander y Chamorro Leonardo. 2013. Bacterias endófitas: un nuevo campo de investigación para el desarrollo del sector agropecuario. *Revista Colombiana de Ciencia Animal* 5(2): 439-462 pp.
- Pershina, Elizaveta, Jari Valkonen, Päivi Kurki, Ekaterina Ivanova, Evgeny Chirak, Iliya Korvigo, Nikolay Provorov y Evgeny Andronov. 2015. Comparative analysis of prokaryotic communities associated with organic and conventional farming system. *PLOS ONE* 11(5): 1-16.
- Porcel Rodríguez Elena. 2017. Producción de bacterias promotoras del crecimiento de plantas (PGPBs) a partir de residuos de la industria agroalimentaria. Tesis de grado, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Almería. España.
- Pomareda C. 2009. Políticas Públicas para la Adaptación A La Variabilidad Del Clima Y Del Cambio Climático. CATIE.
- Prado Bustillo Alejandra. 2013. Optimización de la producción de ácido indolacético por bacterias promotoras de crecimiento y evaluación de su efectividad biológica en papa (*Solanum tuberosum* var. *Alpha*). Tesis de grado, Departamento de Ciencia y Alimento, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila, México.
- Quintero R. M. & Díaz Morales K. M. 2004. El mercado mundial del cacao. *AGROALIMENTARIA* Número 18.
- Ramos Vásquez, Elena y Doris Zúñiga Dávila. 2008. Efecto de la humedad, temperatura, y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Ecología Aplicada*. 7(1, 2): 123-130 pp.
- Restrepo M., José, Diego Iván Ángel S. y Martín Prager M. 2000. Agroecología. Centro para el Desarrollo Agropecuario y Forestal, Inc. (CEDAF), Santo Domingo, República Dominicana.
- Retana, Kenneth, José Adolfo Ramírez Coché, Oscar Castro y Mónica Blanco Meneses. 2018. Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium oxysporum* F.S.P. Apii asociado a la marchitez del apio en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 42(1): 115-126 pp.

- Reyes Tena Alfredo, Gabriel Rincón Enríquez, Luis López Pérez, Zahaed Evangelista Martínez, Evangelina Quiñones Aguilar. 2015. Lucha entre microbios: una herramienta para el control de enfermedades de plantas. *Revista digital universitaria* 16(11): 15 pp. UNAM, México.
- Rivas, Lina María y Margareta Mühlauser. 2014. *Alternaria* spp. Retrato Microbiológico. *Revista Chilena Infectol* 31(5): 605-606 pp.
- Rojas Badía M. M., Larrea J.A. & Tejera B. 2011. Aislamiento y caracterización de cepas de *Bacillus* asociadas al cultivo de arroz (*Oriza sativa* L.) *Revista Brasileira de Agroecología* 6(1): 90-99 pp.
- Rojas, Yarubit, Milagros Jordán, Francisco Yegres y José Araujo. 2013. Caracterización microbiológica del suelo, agua y aire en el humedad Quebrada de Guaranao, Paraguaná, estado Falcón. *Revista de la Universidad del Zulia, Ciencias Exactas, Naturales y de la Salud* 4(9): 11-33 pp.
- Román García, F. 2003. Concentración de reguladores del desarrollo vegetal inducida por hongos endomicorrízicos en dos cultivares de chile (*Capsicum annuum* L.). Universidad de Colima. Tecomán, Colima, México.
- Salazar Loaiza A. M. & Ordoñez Guerrero C. A. 2013. Aislamiento E Identificación De Actinomicetos Fijadores De Nitrógeno En Suelo Del Jardín Botánico De La Universidad Tecnológica De Pereira, Universidad Tecnológica De Pereira, Colombia
- Samaniego Gaxiola, José Alfredo y Yasmín Chew Madinaveitia. 2007. Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en La Laguna, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 78: 383-390 pp.
- Sánchez Lizárraga, A. L. 2015. Variación de la población de hongos micorrízicos arbusculares en un suelo agrícola por efecto de la aplicación de vinazas de la industria del tequila. Centro De Investigación Y Asistencia En Tecnología Y Diseño Del Estado De Jalisco, A.C. Guadalajara, Jalisco.

- Schweizer Lassaga S. 2011. Muestreo y análisis de los suelos para diagnóstico de fertilidad. Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria. San José. CR.: INTA/MAG, 2010. 18 p. ISBN 978-9968-586-08-5
- Shannon D., Sen A. M., Johnson D. B. 2002. A comparative study of the microbiology of soils managed under organic and conventional regímenes, 8: 274-283. Hou Deyi, editora. Soil Use Management. British Society of Soil Science.
- Silva Arroyave S. M. y Correa Restrepo F. J. 2009. Análisis de la contaminación del suelo: revisión de la normativa y posibilidades de la regulación económica. Revista Semestre Económico 12(23): 13-34 pp. Universidad de Medellín. Medellín, Colombia
- [SNET] Servicio Nacional de Estudios Territoriales. 2010. Perfil Climatológico por departamento.
- Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo. 2001. Fertilidad de Suelos: Diagnostico y Control. Segunda Edición, Bogotá, Colombia.
- Soler Arango J., Posada Uribe L. F. & Pérez Naranjo J. C. 2012. Distribución Diferencial de Bacterias con Potencial Biocontrolador de *Spongopora subterranea* en Plantas de Papa (*Solanum tuberosum* cv. Diacol Capiro). Rev.Fac.Nal.Agr.Medellín 65(1): 6337-6348. Medellín, Colombia.
- Soroa Bell, M. R., A. Hernández Fernández, F. Soto Carreño y E. Terry Alfonso. 2009. Identificación de algunas especies de microorganismos benéficos en la rizósfera de gerbera y su efecto en la productividad. Revista Chapingo, Serie Horticultura 15(2): 41-48 pp.
- Suárez Contreras Liliana Yanet y Rangel Riaño Alba Luz. 2013. Aislamiento de microorganismos para control biológico de *Moniliophthora roreri*. Acta Agronómica 62(4): 370-378 pp.
- Swain M. R. y Ray R.C. 2006. Biocontrol and other beneficial activities of *Bacillus subtilis* isolated from cowdung microflora. Microbiological Research 164: 121-130 pp.
- Swift Mike J., Bignell David E., Moreira Fátima, y Jeroen Huising. 2012. Capitulo 1: El inventario de la diversidad biológica del suelo, conceptos y guía general, 29-52 pp. Fátima

- M. S. Moreira, E. Jeroen Huising y David E. Bignell, editores. Manual de biología de suelos tropicales. Instituto Nacional de Ecología, México, 337 pp.
- Tapia, Cecilia y José Amaro. 2014. Género *Fusarium*. Retrato Microbiológico. Revista Chilena Infectol 31(1): 85-86 pp.
- Ulanowicz Robert E. 2002. Information Theory in Ecology. University of Maryland Chesapeake Biological Laboratory Solomons. Computers and Chemistry 25: 393-399.USA
- Uribe Vélez Daniel y Melgarejo Luz Marina (editores). 2012. Ecología de microorganismos rizosféricos asociados a cultivos de arroz de Tolima y Meta. Instituto de Biotecnología, 1ª edición. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 192 pp.
- [USDA] United States Department of Agriculture. 1998. Soil quality resource concerns: Soil Biodiversity. Soil quality information sheet. USDA Lincoln. 2 p.
- Varela L. & Trejo D. s/a. Los hongos micorrizógenos arbusculares como componentes de la biodiversidad del suelo en México. México. Disponible en <https://pdfs.semanticscholar.org/c52b/4b7401c8e91a30032de3886fe865a6936e5c.pdf>
- Watanabe Tsuneo. 2010. Pictorial Atlas of soil and Seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species. 3ª edición Boca Raton: CRC Press. P 397.

PAGINAS WEB CONSULTADAS

- Ángel Amy. 2012a. El cacao en El Salvador: de regreso al futuro, parte I. [En línea] Blog sobre la agricultura centroamericana y global. Consultado el 30 de Enero 2020. Disponible en: <https://amyangel5.wordpress.com/2012/05/21/cacao1/>
- Ángel Amy. 2012b. El cacao en El Salvador: de regreso al futuro, parte II. [En línea] Blog sobre la agricultura centroamericana y global. Consultado el 30 de Enero 2020. Disponible en: <https://amyangel5.wordpress.com/2012/05/21/cacao1/>
- Atlas de identificación micológica. Visitada entre octubre y diciembre 2019. Disponible online: <https://atlasdemicologia.wordpress.com/2016/06/22/acremonium-sp/>

Fundación Bioquímica Argentina. Visitada: 10/12/2019 <https://www.fba.org.ar/panel-gestion/InformeResultado/MI/mi26.htm>

Imaginarium Biblioteca de Biología de la Universidad de Salamanca. Visitada entre octubre y diciembre 2019. Disponible online: <http://bibbiologia.usal.es/imagenes/picture.php?/1728/categories>

[INSPQ] Institut National de Santé Publique Québec. 2019a. Taxonomía de *Chaetomium* spp. Visitada: 02/12/2019 <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/chaetomium-spp>

[INSPQ] Institut National de Santé Publique Québec. 2019b. Taxonomía de *Fusarium*. Visitada: 02/12/2019 <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/fusarium-spp>

[INSPQ] Institut National de Santé Publique Québec. 2019c. Taxonomía de *Penicillium* spp. Visitada: 10/12/2019 <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/penicillium-spp>

[INSPQ] Institut National de Santé Publique Québec. 2019d. Taxonomía de *Aureobasidium* spp. Visitada: 12/10/2019 <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/aureobasidium-pullulans>

[INSPQ] Institut National de Santé Publique Québec. 2019e. Taxonomía de *Acremonium* spp. Visitada: 12/10/2019 <https://www.inspq.qc.ca/en/moulds/fact-sheets/acremonium-spp>

Materia orgánica y actividad biológica. Conservación de los recursos naturales para una agricultura sostenible. S/A. Disponible online: <https://www.ucm.es/data/cont/media/www/pag-104576/1.%20Materia%20org%C3%A1nica%20y%20actividad%20biol%C3%B3gica.pdf>

Microbe Notes 2020. Online Microbiology and Biology notes. <https://microbenotes.com/category/biochemical-test-of-bacteria/>

Microorganismo del suelo y biofertilización. S. F. Asociación Vida Sana. Disponible online: http://traditional-crops.com/upload/file/dossier-5_microorganismos-del-suelo-y-biofertilizacion-2.pdf

Mount Sinai Hospital, department of microbiology, Mycology image gallery. Visitado entre octubre a diciembre del 2019. <https://portal.mountsinai.ca/Microbiology//mig/opfungi/index5.shtml>

MSG ERG Doctor fungus. Visitada entre octubre y diciembre de 2019. <https://drfungus.org/knowledge-base/acremonium-species/>

Mycobank Home database. Visitada entre octubre y diciembre de 2019. <http://www.mycobank.org/quicksearch.aspx>

Plantas y hongos. Visitada entre octubre y diciembre 2019. Disponible online: <http://www.plantasyhongos.es/referencias/taxones.htm>

Taxonomía de *Cladosporium* spp. Visitada: 02/12/2019
<https://sib.gob.ar/taxonomia/genero/cladosporium>

XIII. ANEXOS

Anexo 1. Características para identificación morfológica de colonias. Tomado de Google imágenes.

Característica	Descripción
Color:	Puede ser debido al medio de cultivo o a la producción de pigmento.
Forma:	Las colonias puntiformes son tan pequeñas que no se pueden describir las otras características.
Bordes:	Se refiere al extremo de la colonia.
Elevación:	Se refiere a la forma que toma la colonia en relación a la superficie del agar.
Superficie.	Se refiere a la apariencia de la colonia.
Aspecto:	Puede ser húmedo o seco.
Luz reflejada:	Puede ser brillante o mate.
Producción de pigmento.	Se refiere al pigmento sobre la colonia o cuando este difunde por el medio.
Consistencia.	Puede ser dura, suave, mucosa o friable.

Anexo 2. Imagen de referencia para identificación de morfología de colonias. Tomado de Google imágenes.

Forma	Borde	Elevación	Superficie
Puntiforme 	Entero 	Plana 	Lisa o rugosa
Circular 	Ondulado 	Elevada 	Mate o brillante
Rizoide 	Lobulado 	Convexa 	Seca o cremosa
Irregular 	Filamentoso 	Crateriforme 	Invasiva o superficial
Filamentosa		Acuminada 	

Anexo 3. Guía resumen para la determinación al tacto para diferentes clases texturales.
Tomado del libro de Frioni (2016).

Textura	Apariencia y sensación	
	Suelo seco	Suelo húmedo
Arenosa	Suelta granos simples que se sienten ásperos. Cuando se aprieta el suelo entre los dedos, la masa se desintegra.	No se puede formar una bola (se disgrega). No forma cinta cuando se pasa entre el dedo pulgar e índice. Sensación al tacto: Muy áspera
	Semejanza: Arena de construcción	
Arenosa franca	Al tacto es áspero pero con la sensación de presencia de partículas más finas. Si se deja caer se dispersan partículas muy finas que las vuela la brisa o el viento.	Forma una bola que se disgrega cuando se toca. No forma cinta cuando se pasa entre el dedo pulgar e índice. Al tacto es áspero. Al secarse el suelo en los dedos se observa un color beige o blanquecino.
	Semejanza: Suelos típicos en médanos y dunas	
Franco arenosa	Se rompe fácilmente. Al principio la textura aparece suave, pero a medida que se frota, empieza a dominar una sensación arenosa.	Forma una bola que permite una manipulación cuidadosa sin romperse. Forma una cinta de hasta 3 cm de largo. Cuando se frota entre los dedos pulgar e índice es suave al principio pero al frotar domina una sensación más áspera
	Semejanza: Material de bordos de canales (por efecto de la monda)	
Franca	Los agregados se rompen bajo presión moderada. Los terrones pueden ser firmes. Cuando se pulveriza, la sensación al tacto no es ni suave ni áspera que se torna arenosa a medida que se frota.	Forma una bola que puede ser manipulada suavemente sin que se desintegre. Forma una cinta de hasta 3 cm de largo. Al tacto no se percibe ni suave ni áspero.
Franco limosa	Los agregados son muy firmes, pero se pueden romper bajo presión moderada. Los terrones son de firmes a duros. Cuando el suelo es pulverizado, la sensación al tacto es suave similar al talco o la harina.	Forma una bola que puede ser manipulada sin que se rompa. Forma una cinta de hasta 3 cm de largo. Cuando se frota entre el pulgar y el índice la sensación es suave.
Franco arcillosa	Agregados muy firmes y duros, resistentes a dejarse romper con la mano. Cuando se pulveriza, el suelo presenta una sensación áspera al tacto, debido a los pequeños agregados que persisten.	Un molde de este suelo es muy maleable. Se puede formar una cinta de hasta 5 cm de largo Cuando se frota entre el pulgar y el índice, forma una cinta que no se siente ni suave ni áspero.