

EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD Y PRODUCCION DE COMPUESTOS  
PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL DE MICROORGANISMOS DEL SUELO,  
EN BOSQUE FRAGMENTADO DE LA RESERVA FORESTAL PROTECTORA  
QUEBRADA VANGUARDIUNO



ADRIANA MEJIA AVILA  
LEIDY MARCELA TRUJILLO REYES



UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS  
FACULTAD DE INGENIERÍA AMBIENTAL  
VILLAVICENCIO

2019

EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD Y PRODUCCION DE COMPUESTOS  
PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL EN MICROORGANISMOS DEL SUELO,  
EN BOSQUE FRAGMENTADO DE LA RESERVA FORESTAL PROTECTORA  
QUEBRADA VANGUARDIUNO

ADRIANA MEJIA AVILA  
LEIDY MARCELA TRUJILLO REYES

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de Ingeniero Ambiental

Asesor  
MSc. MARIA ALEXANDRA MENDEZ LEAL  
Microbióloga Industrial

UNIVERSIDAD SANTO TOMÁS  
FACULTAD INGENIERIA AMBIENTAL  
VILLAVICENCIO

2019

**Autoridades académicas**

**P. José Gabriel MESA ANGULO, O.P**

Rector General

**P. Eduardo GONZÁLEZ GIL, O.P**

Vicerrector Académico General

**P. José Antonio BALAGUERA CEPEDA, O.P.**

Rector Sede Villavicencio

**P. Rodrigo GARCIA JARA, O.P.**

Vicerrector Académico Sede Villavicencio

**Mg. Julieth Andrea SIERRA TOBÓN**

Secretaria de División Sede Villavicencio

**Yesica Natalia MOSQUERA BELTRÁN**

Decana Facultad de Ingeniería Ambiental

**Nota De Aceptación**

---

---

---

---

---

**YESICA NATALIA MOSQUERA BELTRAN**

Decano de Facultad de Ingeniería Ambiental

---

**MARIA ALEXANDRA MENDEZ LEAL**

Director Trabajo de Grado

---

**RODRIGO ISAAC VELOSA CAICEDO**

Jurado

---

**ANGELA MARÍA ZAPATA MARÍN**

Jurado

Villavicencio, Agosto 2019

## **Agradecimientos**

Nuestro más profundo agradecimiento a Dios y nuestros padres quienes nos han dado su ejemplo de trabajo, paciencia, perseverancia y esfuerzo a lo largo de nuestra formación profesional.

A nuestra directora de grado, MSc. Microbióloga Industrial, María Alexandra Méndez Leal, por aportar todo su conocimiento, por guiarnos en el desarrollo de esta investigación y sobre todo por su disposición, confianza y sabiduría.

A el Biólogo MSc. Rodrigo Isaac Velosa Caicedo por su orientación en el desarrollo del trabajo de grado.

A cada uno de los profesores de la universidad Santo Tomás Villavicencio quienes contribuyeron en nuestra formación académica y profesional.

Agradezco en especial a mi madre Aurora Reyes por su fortaleza, nobleza, amor y vocación de madre.

A mi madre Azucena y mi padre Leonardo, quienes me dieron la vida y han sido mi apoyo incondicional durante todo este proceso.

A la Universidad Santo Tomás por brindarnos los laboratorios necesarios para el desarrollo de la investigación.

A todas las personas que de alguna manera han impulsado este trabajo de grado.

## Contenido

	Pág.
1. Introducción.....	3
2. Planteamiento del problema .....	5
2.1 Formulación entorno al problema .....	6
3. Objetivos .....	8
3.1 General .....	8
3.2 Específicos.....	8
4. Justificación.....	9
5. Alcance del proyecto.....	11
6. Antecedentes.....	12
7. Marco de referencias .....	15
7.1 Marco Teórico.....	15
7.1.1 Factores bióticos que afectan la densidad y la actividad de los microorganismos...15	
7.1.2 Factores físicos y químicos que afectan la densidad y la actividad de los microorganismos.....	15
7.2 Marco Conceptual .....	17
7.2.1 El efecto de borde sobre los microorganismos.....	17
7.2.2 Características físicas-químicas del suelo.....	18
7.3 Marco Legal.....	21
8. Metodología.....	23
8.1 Diseño del estudio .....	23
8.2 Diseño de Muestreo.....	23
8.3 Diseño experimental.....	24
8.3.1 Etapa 1. Evaluar las características físico-químicas del suelo en cada uno de los fragmentos de bosque en RFPQV .....	24
8.3.2 Etapa 2. Determinar la densidad y la producción de AIA - $\text{NH}_4^+$ en microorganismos, en los transectos ubicados en cada uno de los fragmentos.....	25

8.3.3 Etapa 3. Analizar la correlación de los parámetros físico-químico con la densidad de microorganismos y los metabolitos de crecimiento obtenidos en los fragmentos de bosque	29
9. Resultados y análisis de resultados .....	30
9.1 Objetivo 1. Evaluar las características Físico-químicas del suelo en cada uno de los fragmentos de bosque .....	30
9.2 Objetivo 2. Determinación de la densidad poblacional microbiana y producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal en microorganismos, de acuerdo a las distancias de borde y tamaño de fragmento .....	31
9.2.1 Densidad microbiana de acuerdo a las distancias de borde y tamaño de fragmento	32
9.2.2 Producción de Ácido Indolacético (AIA) de acuerdo a las distancias de borde y tamaño de fragmento.....	35
9.2.3 Producción de amonio acuerdo a las distancias de borde y tamaño de fragmento...	38
9.2.4 Conservación de las cepas.....	39
9.3 Objetivo 3. Analizar la correlación de los parámetros físico-químicos con la densidad de microorganismos y la producción de metabolitos de crecimiento .....	40
10. Discusión .....	44
11. Conclusiones.....	50
12. Recomendaciones .....	51
13. Referencias bibliográficas .....	52
Anexos .....	57

## Lista de tablas

	Pág.
Tabla 1. Condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de los microorganismos .....	16
Tabla 2. Clasificación de la textura.....	18
Tabla 3. Normatividad.....	22
Tabla 4. Análisis Químico del suelo .....	25
Tabla 5. Características físico-químicas para cada tamaño de fragmento de la RFPQV .....	30
Tabla 6. Producción positiva de Ácido Indolacético (AIA) en cada fragmento de diferente tamaño .....	36
Tabla 7. Prueba de normalidad .....	40
Tabla 8. Matriz de correlación entre los 3 bosques fragmentos. ....	41
Tabla 9. Matriz de correlación de las características físico-químicas con la densidad y la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal .....	42

## Lista de Figuras

	Pág.
Figura 1. Disponibilidad de nutrientes en función del pH (Malavolta et al. 1997) .....	19
Figura 2. Diagrama de Flujo Metodológico, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	23
Figura 3. Ubicación de puntos de muestreo, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	24
Figura 4. Diseño experimental de la densidad microbiana, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	26
Figura 5. Diseño experimental de la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	27
Figura 6. Escala colorimétrica del Kit de amonio, por Merck Millipore, 2019. ....	28
Figura 7. Densidad microbiana promedio de acuerdo al tipo de fragmento, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	32
Figura 8. Densidad microbiana en el fragmento pequeño a diferentes distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	33
Figura 9. Densidad microbiana en el fragmento mediano a diferentes distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	34
Figura 10. Densidad microbiana en el fragmento grande a diferentes distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	35
Figura 11. Número de microorganismos productores de Ácido Indolacético en los 3 bosques fragmentos, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	37
Figura 12. Número de microorganismos productores de Ácido Indolacético en los 3 bosques fragmentos, discriminado por distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	38
Figura 13. Concentración de amonio discriminado por tipo de fragmento y distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019. ....	39
Figura 14. Ubicación geográfica del área de estudio .....	57
Figura 15. Línea temporal entorno a los estudios del efecto borde sobre microorganismos .....	57
Figura 16. Muestreo y análisis físico del suelo .....	58
Figura 17. Recuento y selección de cepas .....	58
Figura 18. Aislamiento de las cepas seleccionadas .....	59
Figura 19. Producción de Ácido Indol acético en microorganismos del suelo .....	59
Figura 20. Cuantificación colorimétrica de la producción de Amonio en microorganismos.....	60

## **Lista de Anexos**

Anexo 1. Ubicación del área de estudio .....	57
Anexo 2. Antecedentes.....	57
Anexo 3. Evidencia fotográfica de la metodología.....	57

EVALUACIÓN DE LA DENSIDAD Y PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS  
PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL DE MICROORGANISMOS DEL SUELO,  
EN BOSQUE FRAGMENTADO DE LA RESERVA FORESTAL PROTECTORA  
QUEBRADA VANGUARDIUNO

**Resumen**

La Reserva Forestal Protectora Quebrada Vanguardiuno (RFPQV), es un área que ha sido intervenida y fragmentada por la deforestación, generando zonas de borde en el ecosistema, afectando de manera indirecta la densidad y la actividad microbiana en el suelo en función de la distancia de borde hacia el interior del bosque. Por ello, la presente investigación evaluó la densidad y la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal Ácido Indolacético (AIA) y Amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) en microorganismos del suelo influenciados por el efecto de borde, así como la determinación de las características físico-químicas del suelo (textura, color, pH, materia orgánica, P, Fe, Al) en muestras de suelo de 3 fragmentos de bosque de diferentes dimensiones (1,37ha – 12,63ha – 47,74ha) en la RFPQV en Villavicencio, Meta con el fin de dar un aporte a la actualización del diagnóstico del Plan de Manejo Ambiental de la reserva.

Se ubicó un transecto en cada fragmento de bosque, compuesto por cinco distancias desde el borde hacia el interior (0 m, 10 m, 20 m, 50 m y 100 m). Los resultados mostraron que no hay diferencias estadísticamente significativas ( $P < 0,005$ ) de acuerdo al tipo de fragmento o distancias de borde. Sin embargo, las densidades microbianas presentaron una tendencia de aumento y la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$  tuvieron un comportamiento variable de acuerdo a las distancias de borde. Así mismo la mayor densidad microbiana y producción de metabolitos fueron obtenidas en el fragmento pequeño, por lo tanto, se concluye que dicha variabilidad podría estar atribuido al efecto de borde. Además, se comprobó mediante el índice de correlación de Spearman que el comportamiento de los microorganismos está relacionado con las características del suelo.

**Palabras Clave:** Efecto de borde, Microbiota, Bosques fragmentados, Metabolitos promotores de crecimiento vegetal.

DENSITY EVALUATION AND PRODUCTION OF COMPOUNDS PROMOTING  
VEGETABLE GROWTH OF SOIL MICROORGANISMS, IN A FRAGMENTED FOREST IN  
THE QUEBRADA VANGUARDIUNO PROTECTIVE FOREST RESERVE

**Abstract**

The Quebrada Vanguardiuno Protective Forest Reserve (RFPQV), is an area that has been intervened and fragmented by deforestation, generating edge areas in the ecosystem, indirectly affecting the density and microbial activity in the soil depending on the distance of edge towards the interior of the forest. Therefore, this investigation evaluated the density and production of plant growth promoting compounds as Indolacetic Acid (AIA) and Ammonium (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) in soil microorganisms influenced by the edge effect, as well as the determination of the physicochemical characteristics of soil (texture, color, pH, organic matter, P, Fe, Al) in soil samples of 3 forest fragments of different dimensions (1.37ha - 12.63ha - 47.74ha) in the RFPQV in Villavicencio, Meta in order to give a contribution to the update of the diagnosis of the Environmental Management Plan of the reserve.

A transect was located in each forest fragment, consisting of five distances from the edge (0 m, 10 m, 20 m, 50 m and 100 m). The results showed us that there are no statistically significant differences ( $P = <0.005$ ) according to the type of fragment or edge distances. However, microbial densities showed us an increasing trend and the production of AIA and NH<sub>4</sub><sup>+</sup> had a variable behavior according to the edge distances. Evenly, the highest microbial density and metabolite production was obtained in the small fragment, according to this, it is concluded that this variability could be attributed to the edge effect. Also, it was verified by the Spearman correlation index that the behavior of microorganisms is related to soil characteristics.

**Key Word:** Edge effect, Microbiota, Fragmented forest, Plant growth promoter metabolites.

## 1. Introducción

La fragmentación es causada por la intervención del hombre sobre los ecosistemas generando pequeños parches de bosques aislados y “originando cambios profundos en los procesos ecológicos, llamado efecto de borde” (Peña, Monroy, Alvarez, & Orozco, 2005). La Reserva Forestal Protectora Quebrada Vanguardiano (RFPQV) presenta fragmentación de bosques desde inicios de los años 60, donde se reportó la eliminación de gran parte de la cobertura vegetal. Años más tarde en 1984, fue declarada como Reserva Forestal Protectora, y desde 2007 cuenta con Plan de Manejo Ambiental, requiriendo actualización (Corporación para el Desarrollo Sostenible del Área de Manejo Especial La Macarena [CORMACARENA], Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial [MAVDT], & Conservacion Internacional, 2007).

Por lo tanto, la presente investigación aportará al conocimiento del estado actual del componente de suelos, adicionando un tema no abordado en los anteriores estudios, relacionado con la densidad y producción de metabolitos promotores de crecimiento vegetal a partir de la microbiota nativa, desde diferentes distancias del borde hacia el interior del fragmento, teniendo en cuenta el tamaño del fragmento.

La microbiota está compuesta por bacterias, hongos, levaduras entre otros, donde diversos estudios han demostraron que tienen la capacidad de producir Ácido Indolacético (AIA) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) que inducen el crecimiento vegetal, estimulando la elongación en plantas (Beltrán, Rocha, Bernal, & Pita, 2017; Celis Bautista & Gallardo, 2008; Murcia & Cruz, 2017)

Es importante mencionar que los microorganismos desempeñan un papel importante para los procesos de transformación de materia orgánica y ciclado de nutrientes, pero su actividad microbiana puede verse afectada por el efecto borde.

Aunque los estudios del efecto borde sobre microorganismos son escasos, se ha encontrado que la fragmentación tiene efectos negativos sobre las comunidades microbianas, debido a que el efecto de borde genera cambios físicos, químicos y biológicos en la zona de transición (Flores, 2015).

Por ello, dichos cambios afectan directamente la composición y estructura de especies de flora, fauna del ecosistema, pero debido a la relación planta-suelo-microorganismo, una vez se altera la composición y diversidad de las plantas, se afecta de manera indirecta la estructura del suelo y el comportamiento de los microorganismos que habitan allí, aunque no se ha documentado como el efecto borde podría afectar la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$ .

## 2. Planteamiento del problema

En un informe publicado (Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales [IDEAM], 2017) se ha reportado un aumento de la deforestación en Colombia debido a prácticas ganaderas, agrícolas y la expansión urbana, provocando la fragmentación de bosques que actualmente es una de las principales problemáticas que afronta la conservación de bosques, ocasionando graves impactos sobre los bosques del piedemonte llanero. Entre ellos reducción, aislamiento y extinción de especies, cambios en el microclima y en la estructura del suelo, todos asociados al efecto de borde (Peña et al., 2005).

Esto significa, que cada vez más los bosques estarán sometidos a la fragmentación de hábitat y efecto de borde. Por ello, es importante conocer como la fragmentación puede generar cambios en el comportamiento de las comunidades microbianas que se encuentran presentes en el suelo, y que cumplen un papel importante en el funcionamiento del suelo.

El efecto de borde, es el resultado de la fragmentación de los ecosistemas, producto de cambios que se generan en las condiciones microclimáticas y en las condiciones físicas del suelo en las zonas de borde de los fragmentos (Flores, 2015).

Estas condiciones diferentes podrían extenderse hacia el interior del fragmento, alterando la composición, estructura y función del ecosistema, aumentando la mortalidad de la flora y fauna, afectando de manera indirecta el comportamiento de los microorganismos.

Desde inicios de la década del 60, el área comprendida entre el río Guatiquia y Puente Amarillo vía Villavicencio-Restrepo de la RFPQV, ha sido intervenida, para la extracción de madera y expansión urbana. Sus primeras formas de ocupación fue el sistema de haciendas, transformando el territorio en fincas e induciendo la producción agrícola y la ganadería (Corporación para el Desarrollo Sostenible del Área de Manejo Especial La Macarena [CORMACARENA] et al., 2007).

Debido a estas prácticas, la RFPQV presenta bosques fragmentados, que deterioró las zonas naturales y las funciones ecológicas del ecosistema, dando lugar a la reducción de las áreas boscosas y aparición de efectos de borde que afectan la dinámica del ecosistema, entre ellos el

comportamiento de los microorganismos, los cuales son importantes para el mantenimiento de suelos fértiles y para la germinación de nuevas plántulas.

Diferentes autores han concluido que la actividad microbiana en los suelos depende de la condición del recurso como de las propiedades físicas, químicas y biológicas (Flores, 2015; Mahecha Salas, 2011; Valladares, Flores, Forner, Morán, & Díaz, 2014).

Esto quiere decir que una vez se modifica el ambiente edáfico bien sea por factores biótico o abióticos, altera el crecimiento y desarrollo de diferentes organismos del suelo, entre ellos los microorganismos, afectando la densidad y la actividad microbiana, a medida que el efecto de borde se hace mayor, debido a los cambios que surgen en el hábitat y en la composición del suelo.

Se ha descrito, que el efecto de borde puede generar alteraciones hasta 60 metros hacia el interior del fragmento dependiendo de su área, orientación del borde, posición topográfica, nivel de perturbación, fertilidad del suelo, entre otros (Peña et al., 2005). Donde los fragmentos pequeños (< 1 ha) presentan efectos de borde mayores (Didham & Lawton, 1999; Fox, Taylor, & Williams, 1997; Peña et al., 2005)

Por lo anterior, es de esperarse que posiblemente los mayores efectos sobre la densidad y actividad microbiana podría presentarse en los fragmentos pequeños, aunque hay diferentes factores que pueden influir.

## **2.1 Formulación entorno al problema**

Teniendo en cuenta lo anterior, es evidente suponer que existe un relación entre el tamaño de los fragmentos de bosque de RFPQV y las distancias de borde sobre las variables biológicas. Por lo tanto, se establecieron las siguientes hipótesis:

Hipótesis nula

- La densidad microbiana y la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal pueden ser afectados de acuerdo a las distancias de borde y tamaño del fragmento. Donde los fragmentos con mayor área boscosa tendrían menor efecto sobre

la densidad y producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$ . Así mismo, el efecto de borde se reducirá a medida que aumenten las distancias al interior del fragmento.

#### Hipótesis alternativa

- La densidad y la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal no varían de acuerdo al tamaño del fragmento y distancias de borde,

¿Cómo varía la densidad microbiana y la producción de AIA,  $\text{NH}_4^+$  de bacterias, hongos y levaduras del suelo, a diferentes distancias del borde en 3 fragmentos de bosque de diferente tamaño en la Reserva Forestal Protectora Quebrada Vanguardiuno del Municipio de Villavicencio-Meta, durante un período de 6 meses?

### **3. Objetivos**

#### **3.1 General**

- Evaluar la densidad y producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal (AIA y  $\text{NH}_4^+$ ) en microorganismos, a diferentes distancias de borde en tres fragmentos de bosque de diferente tamaño, relacionados con las características físico-químicas, como insumo para el diagnóstico del Plan de Manejo de la Reserva Forestal Protectora Quebrada Vanguardiuno del municipio de Villavicencio (Meta).

#### **3.2 Específicos**

- Evaluar las características físico-químicas del suelo en cada uno de los tres fragmentos de bosque en la RFPQV.
- Determinar la densidad y la producción de metabolitos promotores de crecimiento vegetal (AIA y  $\text{NH}_4^+$ ), a partir de los aislamientos de bacterias, hongos y levaduras, en los transectos ubicados en cada uno de los tres fragmentos de la RFPQV.
- Analizar la correlación de los parámetros físico-químicos del suelo con la densidad de bacterias, hongos y levaduras y los metabolitos promotores de crecimiento obtenidos de los fragmentos de bosque de la RFPQV, mediante el índice de Pearson.

#### 4. Justificación

Colombia es uno de los países más megadiversos, pero sus bosques están siendo amenazados por la continua transformación para otros usos de suelo, como medida de mitigación se están protegiendo 42 áreas de reserva en el departamento del Meta, importantes para la regulación del ciclo del agua y del clima, como también para el desarrollo de vida de gran cantidad de flora, fauna y microorganismos. Por lo que, resulta importante conocer los procesos metabolitos de los microorganismos importantes para el funcionamiento del ecosistema y cómo la fragmentación puede afectarlo.

Existen investigaciones y hallazgos científicos que han demostrado que los microorganismos producen Acido Indolacético (AIA) y amonio ( $\text{NH}_4^+$ ) (Mohite, 2013). Estos compuestos aumentan la absorción de nutrientes, la disponibilidad de minerales y la fertilidad del suelo, promoviendo el crecimiento de las plantas y favoreciendo los procesos de revegetalización, clave para el establecimiento de nuevas plántulas y formación de bosques frondosos (Villegas et al., 2014).

Esto significa, que los microorganismos pueden aceleran los procesos de regeneración natural en bosques que han sido intervenidos por el hombre, debido a su capacidad de promover la germinación de semillas y el crecimiento vegetal, por lo que representaría una alternativa para la solución a la fragmentación de bosques.

Dentro de las áreas protegidas de orden nacional se encuentra la RFPQV, situada en el municipio de Villavicencio. Aunque se tiene declaratoria de área protegida, es preocupante el deterioro y la desaparición de bosques en los últimos años, debido a la extracción de especies maderables de interés comercial, así como también la ampliación de la frontera agropecuaria para el establecimiento de pastos y cultivos (Corporación para el Desarrollo Sostenible del Área de Manejo Especial La Macarena [CORMACARENA] et al., 2007).

Con el fin de gestionar su conservación, en el año 2007 se elaboró una propuesta para el Plan de Manejo Ambiental en RFPQV. Lamentablemente no ha sido adoptado y no se incluyó en el diagnóstico el estado del suelo ni su microbiota, actualmente se encuentra en actualización. Al

realizar esta investigación, se logró la evaluación de la densidad y producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal en microorganismos del suelo.

La fragmentación en la RFPQV, podría aumentar el número de fragmentos y el número de zonas de borde, ocasionando posibles efectos negativos sobre la composición de la vegetación, el suelo y los microorganismos, afectando la densidad y la actividad microbiana (AIA y  $\text{NH}_4^+$ ), importantes para el crecimiento de las plantas.

A pesar de comprender el efecto que el borde tiene sobre factores bióticos y abióticos que influyen el comportamiento de los microorganismos, existen vacíos de cómo estos responden a los bordes, debido a los pocos estudios sobre la microbiota a nivel nacional, regional y local, por lo tanto, la ausencia de información del efecto borde sobre las comunidades microbianas ha impulsado en gran medida esta investigación.

Por su parte, Flores (2015) ha reportado efectos negativos de la fragmentación sobre las propiedades edáficas y las comunidades microbianas, reportando efectos directos sobre la diversidad microbiana y efectos indirectos sobre la actividad microbiana, pero no se han reportado investigaciones sobre sus efectos en la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$ . Es por eso, que queda en evidencia la importancia de evaluar el efecto borde sobre las comunidades microbianas, que cumplen un papel importante en el mantenimiento de los suelos y el crecimiento de las plantas.

De acuerdo a todo lo anterior, es necesario entender las consecuencias de la fragmentación sobre la microbiota, pues esto conducirá al establecimiento de medidas efectivas para su protección, donde a través de este estudio se ampliará las bases científicas del componente suelo, así como su microbiota (densidad microbiana y compuestos promotores de crecimiento vegetal) influenciados por el efecto borde que no ha sido estudiado en la RFPQV.

## 5. Alcance del proyecto

El área del estudio se encuentra situada en el departamento del Meta municipio de Villavicencio, sobre la Reserva Forestal Vanguardiuno (RFPQV) que está ubicada entre 380-705 msnm, presenta temperatura media anual de 25.65°C, precipitación media anual de 4600 mm, clima súper húmedo con dos pisos térmicos: cálido húmedo y cálido semihúmedo. El 95% del área está compuesta por un relieve con pendientes entre los 12% y 60% y el restante presenta pendientes mayores a 60%, concentrando la mayor intervención antrópica y procesos erosivos (Corporación para el Desarrollo Sostenible del Área de Manejo Especial La Macarena [CORMACARENA] et al., 2007).

La RFPQV es un área donde se recargan buena parte de los acuíferos, por lo que representa un recurso valioso para el abastecimiento de familias. La principal ocupación de tierras fue la ganadería, que se alternó con algunos cultivos agrícolas y haciendas tipo empresarial para la explotación de productos medicinales, bálsamos, entre otros. Dichas actividades ocasionó la desaparición y pérdida paulatina de la cobertura vegetal, pero al ser declarada como reserva forestal protectora, no hay asentamientos consolidados y la ocupación se restringe a fincas campesinas y casas de recreo. No obstante, en zonas muy cercanas existen restaurantes, asaderos y balnearios, que ejercen presión sobre los recursos naturales para la extracción de leña.

La RFPQV comprende las veredas: San José Bajo, Vanguardia y Puente Amarillo. Esta última donde se encuentran los fragmentos de bosque de diferentes tamaños: fragmento pequeño (1,37 ha), fragmento mediano (12,63 ha), fragmento grande (47,74 ha), seleccionados por el área y la ubicación bosque-pastizal, como se muestra en el Anexo 1. La investigación tuvo una duración de 6 meses y se desarrolló en áreas de bosque fragmentado derivados de actividades agropecuarias y expansión urbana. Los resultados obtenidos aportarán al Plan de Manejo Ambiental de la RFPQV, siendo un insumo importante para el conocimiento de la microbiota y del suelo.

El fragmento pequeño se encuentra aislado de las zonas boscosas y colindantes con los predios de fincas donde se evidencia intervención por parte de los pobladores. El fragmento mediano se encuentra conectado a un sendero y el fragmento grande se ubica en zonas de conservación que se encuentra dentro del área del Bioparque los ocarros.

## 6. Antecedentes

A lo largo de la historia, los ecosistemas han sido alterados convirtiéndose en bosques fragmentados. Desde 1995 se han realizado diversos estudios sobre esta temática (Anexo 2).

La gran mayoría de estudios abordan el efecto borde sobre la flora y fauna (Peña et al., 2005; Pincheira, Rau, & Cortés, 2009), donde gradualmente se han reducido las poblaciones a medida que los fragmentos se aíslan. Se ha documentado que el efecto de borde se relaciona con el área del fragmento (Klein, 1989; Santos & Tellería, 2006), donde las especies responden negativamente en fragmentos menores a 10 ha.

Por lo tanto, los fragmentos pequeños serán los más afectados por el efecto de borde, además Fernández (2008) ha concluido que el efecto de borde decrece una vez se aumenta la distancia hacia el interior del fragmento, notándose cambios hasta los 60 metros al interior del parche, aunque existen efectos de borde tan grandes que pueden extenderse en la totalidad de los fragmentos.

Los bosques fragmentados pueden enfrentar una alteración en las interacciones biológicas y otros procesos claves para el funcionamiento del ecosistema (Fernández, 2008). Dentro de ello, se pueden generar cambios de las condiciones microclimáticas (insolación, exposición del viento, humedad, temperatura relativa y del suelo etc) (Granados, Serrano, & Garcia, 2014). De este modo, dichos cambios pueden influir y alterar procesos del mantenimiento de los ecosistemas, así como la estructura, funcionamiento y propiedades del suelo (pH, MO, disponibilidad de nutrientes), donde se desarrollan los microorganismos (D. Flores, 2015).

Esto significa que una vez se modifican las condiciones del suelo, se ve amenazado el comportamiento de los microorganismos, de este modo la fragmentación y el efecto de borde inciden de manera indirecta sobre la actividad microbiana del suelo.

Según Malmivaara-Lämsä et al., (2008) el efecto de borde ha mostrado efectos negativos sobre los microorganismos. Por el contrario, Rantalainen et al.,(2008) citado por (Flores, 2015) reporta que estos pueden ser insensibles a la fragmentación. Aunque los estudios sean contradictorios o muestren resultados opuestos, hay que tener en cuenta que el efecto de borde resulta difícil de

determinar, por lo que puede según Peña et al., (2005) estar relacionado con diferentes factores como las condiciones ambientales, la matriz circundante, nivel de perturbación, la metodología utilizada, etc.

Por el contrario, se ha reportado un efecto negativo sobre la riqueza de hongos debido al efecto de borde, donde cambios en la humedad y temperatura influyen su comportamiento hasta 50 metros al interior del fragmento (Duque castaño, 2016).

En ese sentido, las densidades microbianas y su actividad pueden alterarse por las variaciones en temperatura y la humedad, por lo tanto su comportamiento dependerá de la capacidad de adaptación a ambientes alterados.

Se ha demostrado que los microorganismos tienen la capacidad para producir fitohormonas (auxinas, giberelinas, entre otros), la más conocida es el Ácido Indolacético (AIA). También están involucrados en el ciclaje de nutrientes ( $\text{NH}_4^+$ ), estos metabolitos promueven el crecimiento de las plantas (Mohite, 2013). La importancia de los metabolitos, radica en que éstos aumentan la longitud de las plantas y genera cambios morfológicos en las raíces de las plantas (Celis Bautista & Gallardo, 2008; Graciano, Ferrera, Pérez, Molina, & Bashan, 2006; Murcia & Cruz, 2017). Por otro lado, la producción de  $\text{NH}_4^+$  es importante para el crecimiento y síntesis enzimática de las plantas, debido a que de allí se toman el Nitrógeno (Cañón, Avellaneda, & Torres, 2012).

Sin embargo, los estudios han sido enfocados en la producción de AIA bacterias, por lo que se desconoce la producción de dichos metabolitos en hongos y levaduras, de igual manera no se han reportado estudios que lo relacionen con el efecto borde.

Para la determinación de las consecuencias del efecto de borde sobre microorganismos, se han implementado metodologías similares, que consiste en la ubicación de transectos, tomando distancias desde 30 metros hasta 100 metros desde el borde hacia el interior del fragmento.

Duque (2016) tomó muestras compuestas al azar en el borde y a 100m, teniendo en cuenta una matriz agrícola, igualmente Flores (2015) tuvo la misma consideración, incluyendo fragmentos pequeños y fragmentos grandes (>10 ha), tomando muestras en el borde y a 30 m. Por lo que, para

la presente investigación se tomó un mayor número de puntos de muestreo para obtener mayor variabilidad.

En Villavicencio, actualmente se desconocen estudios sobre microorganismos que producen compuestos promotores de crecimiento vegetal, por otro lado no hay estudios científicos en la región de la Orinoquia, que muestre como el efecto borde debido a la fragmentación del bosque afecta el comportamiento de los microorganismos. Por ello, limitantes de información como éstas han impulsado en mayor medida el desarrollo de la presente investigación.

## 7. Marco de referencias

### 7.1 Marco Teórico

El comportamiento de los microorganismos que se encuentran presente en los suelos, varía por factores bióticos, físicos y químicos. Una alteración en alguno de ellos, puede alterar su densidad población y su actividad microbiana.

#### 7.1.1 Factores bióticos que afectan la densidad y la actividad de los microorganismos

Según el Instituto Geográfico Agustín Codazzi [IGAC] (1993), procesos biológicos como los exudados producidos por la plantas a través de sus raíces, pueden alterar el pH del suelo, de tal modo que podría influir sobre la densidad y actividad microbiana.

Por su parte, existe una estrecha relación entre plantas, suelo y microorganismos. Donde cambios en la composición de la cobertura vegetal genera cambios en las propiedades físico-químicas del suelo (Flores, 2015).

En este sentido, al alterarse el ambiente edáfico (pH, MO, etc.) donde se desarrollan los microorganismos, puede provocar alteraciones en la densidad y actividad de las comunidades microbianas, afectando la capacidad de éstas para la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$  respectivamente. Por lo tanto, las alteraciones en el componente biótico, afecta de manera indirecta el comportamiento de los microorganismos del suelo. De este modo, se puede prever que la fragmentación afecta todo el sistema planta-suelo-microorganismos, donde una alteración en alguno de ellos afecta el ecosistema en general.

#### 7.1.2 Factores físicos y químicos que afectan la densidad y la actividad de los microorganismos

La densidad y la actividad de los microorganismos del suelo, dependen de la disponibilidad de macronutrientes ( C, H, O, N, S, P, K, Mg, Na, Ca, Fe) y micronutrientes (Co, Zn, Mo, Mn, B) necesarios

para realizar las funciones celulares y procesos metabólicos (Frioni, 2005). Por lo tanto, los bajos contenidos de Nitrógeno (N) en los suelos oxisoles, es un limitante para el desarrollo microbiano, debido a que los microorganismos compiten por este elemento necesario para la nutrición celular. Además, los microorganismos se comportan de manera diferente en ausencia y presencia de Oxígeno (Benintende, Sanchez, & Sterren, n.d.).

Así mismo, las condiciones ambientales (Temperatura, pH, aireación, materia orgánica, etc) se ven involucradas. Según Burbano (1989) los microorganismos de ambientes cálidos, tienen un óptimo desarrollo entre 25-35°C por lo que una baja temperatura genera un desarrollo microbiano lento así como una baja disponibilidad de agua (Tabla 1).

Tabla 1. *Condiciones ambientales óptimas para el crecimiento de los microorganismos*

<b>Microorganismos</b>	<b>Temperatura</b>	<b>Humedad</b>	<b>pH</b>
<b>Bacterias</b>	25°C – 35°C	50% - 75%	7 - 8
<b>Hongos</b>	No resisten condiciones de sequía ni saturación	50% - 75%	3 - 7

*Nota:* Condiciones ambientales que favorecen el desarrollo de microorganismos Adaptado de Burbano (1989) citado por (Jaramillo, Rodriguez, & Diaz, 2002).

Según García (1986) citado por (Navas & Morales, 2006), en cuanto al pH, en ambientes ácidos predominan los hongos y en ambientes neutros las bacterias. Igualmente Bitton et al. (1974), ha documentado cambios en las densidades microbiana en función del pH, donde las bacterias se desarrollan mejor a pH neutro y ligeramente alcalino, en cambio, los hongos se desarrollan a un pH más amplio (Tabla 1).

Se ha descrito que algunos microorganismos pueden promover el crecimiento vegetal mediante mecanismos directos como la producción de fitohormonas y la transformación del nitrógeno atmosférico en amonio  $\text{NH}_4^+$  (Frioni, 2005), metabolitos importantes para el crecimiento vegetal.

Hasta el momento la fitohormona más estudiadas son las auxinas, dentro de ellas se encuentran el ácido indolacético (AIA) que logra aumentar la captación de nutrientes e incremento de las plantas (Vega, Martinez, Gonzalez, & Seeger, 2016). Por otro lado, los microorganismos a través de su enzima

nitrogenasas rompen el triple enlace del nitrógeno y producen amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). Es importante resaltar que el amonio es oxidado por bacterias nitrificadoras convirtiéndolo en nitrato, esto significa que las plantas podrán usar el amonio y el nitrato para su crecimiento a través de sus raíces (Cerón & Aristizábal, 2012).

Estas condiciones físicas y químicas, pueden presentar alteraciones una vez los bosques se fragmentan, permitiendo así la aparición de efectos de bordes, generando mayor influencia de la temperatura, vientos, etc. sobre los bordes de los fragmentos. De esta manera la densidad y la actividad de los microorganismos podrían presentar variaciones.

## **7.2 Marco Conceptual**

### **7.2.1 El efecto de borde sobre los microorganismos.**

El desarrollo de los microorganismos en el suelo requiere de un medio óptimo que está relacionado con las características físico-químicas del suelo, las condiciones microclimáticas y la disponibilidad de nutrientes, por tanto la actividad microbiana también depende tanto del estado del suelo como de sus propiedades (Cerón & Aristizábal, 2012).

Esto significa, que una vez se presentan alteraciones de las características del suelo influenciados por el efecto borde repercutirá considerablemente sobre la densidad y la actividad microbiana.

Los estudios del efecto borde sobre la densidad poblacional microbiana son muy escasos, pero se evidencia que actividades antrópicas como el uso de suelo para la ganadería y agricultura, afecta el estado del suelo, lo que implica una alteración sobre las poblaciones microbianas. De igual manera según Peña et al., (2005), los cambios en las condiciones microclimáticas por el efecto de borde, puede tener implicaciones sobre su comportamiento.

Sin embargo, los pocos estudios realizados han mostrado resultados contradictorios, por un lado Malmivaara-Lämsä et al., (2008) menciona que el efecto de borde genera efectos negativos sobre las comunidades microbianas, y Rantalainen et al.,(2008) citado por (Flores, 2015) y evidencia lo

contrario. Mientras que Duque (2016), evidenció un efecto negativo sobre la riqueza de hongos y neutro sobre su composición.

## 7.2.2 Características físicas-químicas del suelo.

### 7.2.4.1 Textura.

Según Jaramillo et al., (2002) la textura es una característica física del suelo determinada con base a la proporción y el tamaño de partículas minerales del suelo: arena (2 mm– 0,002 mm), limo (0,02mm – 0,002 mm) y arcilla (< 0,002 mm) que se determina mediante el método de Bouyoucos clasificándola según el triángulo de texturas como arenoso, areno francoso, franco arenoso, franco arcilloso entre otros, teniendo en cuenta los porcentaje de arenas, arcillas y limos

Tabla 2. Clasificación de la textura

CLASE TEXTURAL	RANGO (%) EN EL CONTENIDO DE		
	ARENA	LIMO	ARCILLA
<b>Arenosa</b>	<b>100 – 85</b>	<b>15 – 0</b>	<b>10 – 0</b>
Arenosa franca	90 – 70	30 – 0	15 – 0
Franco arenosa	85 – 43	50 – 0	20 – 0
<b>Franca</b>	<b>52 – 23</b>	<b>50 – 32</b>	<b>27 – 7</b>
Franco limosa	50 – 0	87 – 50	27 – 0
Limosa	20 – 0	100 – 80	12 – 0
Franco arcillo arenosa	80 – 45	28 – 0	35 – 20
Franco arcillosa	45 – 20	53 – 15	40 – 27
Franco arcillo limosa	20 – 0	73 – 40	40 – 27
Arcillo arenosa	67 – 45	20 – 0	55 – 35
Arcillo limosa	20 – 0	60 – 40	60 – 40
<b>Arcillosa</b>	<b>45 – 0</b>	<b>40 – 0</b>	<b>100 – 40</b>

*Nota:* Variación del porcentaje de arenas, limos y arcillas en las diferentes clases textuales establecido por USDA (Soil Survey Division Staff, SSDS, 1993) citado por (Jaramillo et al., 2002).

### 7.2.4.2 Potencial de Hidrogeno (pH).

Una de las propiedades químicas del suelo más importantes es el pH, según Chang (1991) es la medición de la acidez o alcalinidad que es dada por la cantidad de H<sup>+</sup> (Sáenz, 2011). Para su medición comprende valores de 0 a 14, se considera que un pH <7 es ácido, y >7 son básicos, del

cual depende la actividad microbiana y la disponibilidad de nutrientes, así como lo muestra la Figura 1.

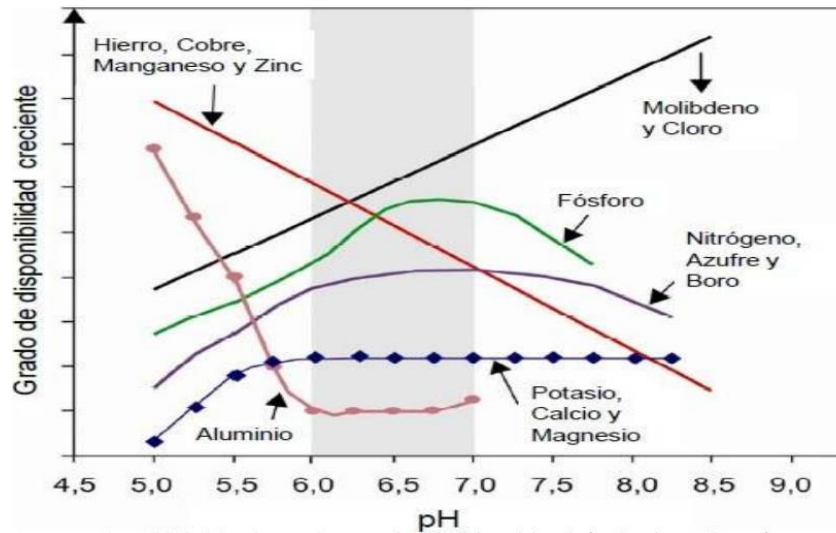


Figura 1. Disponibilidad de nutrientes en función del pH (Malavolta et al. 1997)

#### 7.2.4.3 Color.

El color es otra de las características físicas del suelo que “se relaciona con la longitud de onda del espectro visible que el suelo refleja al recibir los rayos de luz” (L. Flores & Alcalá, 2010). Guarda una relación con la cantidad de minerales (hierro y manganeso), la materia orgánica, la movilidad del agua y la temperatura (Carvajal, 1997). La determinación del color se realiza mediante la comparación de tablas o cartas estándares de color de Munsell que contiene diferentes patrones de color basados en una serie de parámetros, que varían en función de matiz, brillo y pureza (Carvajal, 1997; Moreno, Blanquer, & Ibáñez, 2010). “El color oscuro de un suelo se puede deber al contenido de materia orgánica muy descompuesta” (L. Flores & Alcalá, 2010).

#### 7.2.4.4 Fósforo (P).

El fósforo es un macronutriente esencial para las plantas que participa en la fotosíntesis, la transferencia de energía y constitución de proteínas (Sáenz, 2011) su mayor disponibilidad se encuentra en el pH 6,5 y 7,5, ya que en pH ácidos el Hierro y el Aluminio precipitan el fósforo como compuestos insolubles (Carvajal, 1997).

Los microorganismos tienen la capacidad de solubilizar el fósforo de compuestos orgánicos insolubles, dejándolos disponibles para las plantas, adicionalmente, también participan en la mineralización del fósforo orgánico a través de la enzima fosfatasa que facilita la descomposición de la materia orgánica (Carvajal, 1997)

#### **7.2.4.5 Aluminio (Al).**

El Aluminio es un metal no ferroso, siendo uno de los que más abunda en la corteza terrestre el cual en condiciones neutras (pH 7) o alcalinas (pH>7) es poco soluble. Mediante la meteorización de minerales aluminosilicatos, se libera Aluminio al suelo, y mediante hidrólisis, el aluminio atrapa iones  $\text{OH}^-$  del agua, dejando libres los protones  $\text{H}^+$  que acidifican el suelo, por ello existe mayor solubilidad del aluminio en pH ácidos, que incluso a determinadas concentraciones pueden llegar a ser tóxicas para las plantas, donde la presencia de éstos son determinantes en la solubilidad de fosfatos, molibdatos, hierro, cobre, entre otros.

#### **7.2.4.5 Hierro (Fe).**

El Hierro es uno de los micronutrientes más abundantes en suelos Oxisoles, se encuentran en minerales primarios que incluyen los silicatos ferromagnéticos como la biotita, augita constituidos por hierro. Mediante a meteorización, se libera Fe al suelo y debido a que los óxidos de hierro tienen un efecto alto de pigmentación, se ve reflejado en el color del suelo. El Hierro está disponible en suelos ácidos entre 3,5 y 6,5 debido a que se precipita con el Fósforo (P) en compuestos insolubles (Carvajal, 1997).

#### **7.2.4.6 Materia Orgánica (MO).**

Comprende todos los residuos de origen animal y vegetal, que se relaciona con la actividad microbiana y el predominio de grupos microbianos, dependiendo de la composición y calidad (Navas & Morales, 2006), ya que ésta aporta alimento a los organismos del suelo, donde los microorganismos mineralizan la materia orgánica, es decir transforman los compuestos orgánicos a compuestos inorgánicos, durante la descomposición se produce una oxidación rápida en donde se liberan compuestos nutritivos para las plantas entre ellos,  $\text{NH}_3$ ,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ , etc (Carvajal, 1997).

#### ***7.2.4.7 Métodos para la determinación de Amonio y Acido Indolacético***

Para la identificación de la producción de amonio por parte de los microorganismos, se puede detectar por cromatografía iónica, espectrofotometría, colorimetría, electrodos selectivos que emplean equipos costosos. Así mismo, se han usado métodos colorimétricos como Berthelot (fenol-hipoclorito), Reactivo Nessler donde requiere uso del espectrofotómetro para determinar su concentración (Seco & Corte, 2005). Por otro lado, el método más empleado para determinar la producción de AIA es mediante cromatografía líquida de alta resolución, HPLC (por sus siglas en inglés), la cromatografía en placa fina, cromatografía de gases y sistemas cromatográfico acoplados a espectrometría de masas, técnicas altamente costosas (Castillo, Altuna, Michelena, Bravo Sánchez, & Acosta, 2005; Celis Bautista & Gallardo, 2008).

Por ello, en el presente estudio, se utilizaron técnicas y procedimientos al alcance a las posibilidades de los laboratorios de la USTA sede Villavicencio, donde se eligió el test de amonio y reactivo Kovacs, debido a que presenta resultados rápidos, la medición es fiable, es un método económico y no requiere de equipos costos

### **7.3 Marco Legal**

De acuerdo a la revisión de la normatividad, se encontró casi tres décadas en el punto de mira de las preocupaciones y del esfuerzo de la investigación conservacionista, existe una conciencia clara de que la fragmentación es uno de los procesos antrópicos con efectos devastadores sobre la biodiversidad, donde se han convocado a convenios contra las diferentes problemáticas ambientales entre ellas la deforestación. El Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sostenible (MADS) ha formulado planes y políticas en pro de la restauración de bosques fragmentados y la conservación biológica de las especies presentes en todo el territorio. Por lo anterior, se ha fijado un marco regulatorio a nivel nacional e internacional de la siguiente manera (Tabla 3)

Tabla 3. *Normatividad*

	Norma	Descripción
<b>Internacional</b>	Convenio	Convención marco de las naciones unidas sobre el cambio climático (CMNUCC) 1992
	Convenio	Convención de las naciones unidas de lucha contra la desertificación 1994
	Foro	Foro de las naciones unidas sobre los bosques (FNUB)
<b>Nacional - Internacional</b>	Convenio (ley 165 de 1994)	Por medio de la cual se aprueba el "Convenio sobre la Diversidad Biológica", hecho en Río de Janeiro el 5 de junio de 1992.
<b>Nacional</b>	Constitución política 1991 Art. 79	Planificar el manejo y aprovechamiento de los recursos para garantizar su desarrollo sostenible, su conservación, restauración y controlar los factores de deterioro ambiental
	Decreto ley 2811/1974 Art. 204	La zona debe ser conservada permanentemente con bosques naturales o artificiales, para protegerlos. En el área forestal protectora debe prevalecer el efecto protector y sólo se permitirá la obtención de frutos secundarios del bosque
	Ley 1021/2006 Art. 12	Define a las áreas forestales de protección como aquellas que "deben conservar su cobertura boscosa natural, con el fin de proteger los recursos naturales renovables
	Ley 99/1993 Art. 5	El cual señala el uso, el aprovechamiento, la conservación y la recuperación de los recursos naturales.
	Decreto 2372/2010 Art. 12, 16, 20,	Determina el espacio geográfico (reserva forestal protectora) aunque su función, estructura y composición hayan sido modificadas, debe disponerse para su restauración preservación entre otras.
	Resolución. 244/1984	Declaratoria de Reserva Forestal Protectora "Cerro Vanguardia" por parte del municipio de Villavicencio y aprobación por el Instituto Nacional de los Recursos Naturales Renovables y del Ambiente

*Nota:* Descripción de las principales normas en el marco de bosques fragmentados, Adaptado de información suministrada por las Naciones Unidas y el Ministerio de Medio Ambiente.

## 8. Metodología

### 8.1 Diseño del estudio

Los lineamientos metodológicos de la presente investigación comprenderán 3 etapas (Figura 2).

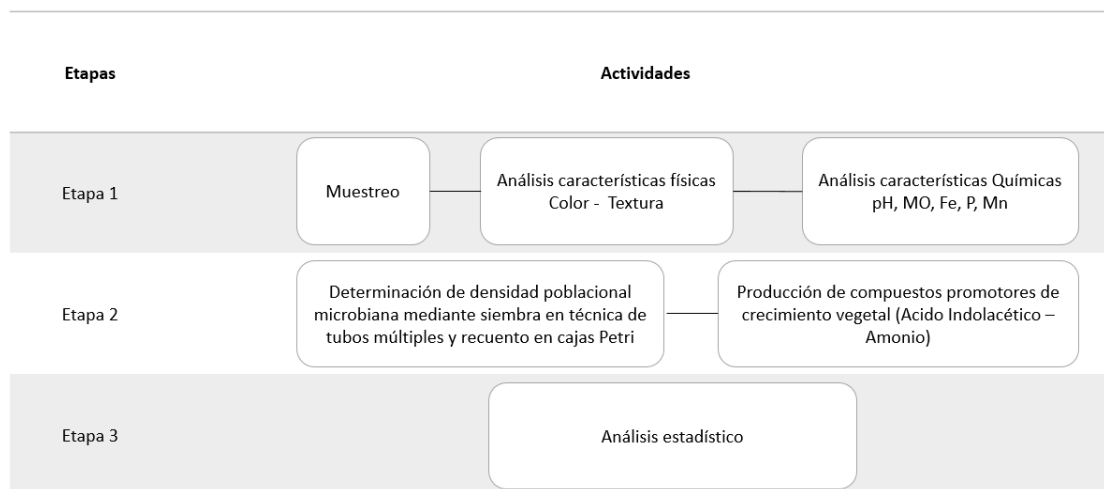


Figura 2. Diagrama de Flujo Metodológico, por Mejía & Trujillo, 2019.

### 8.2 Diseño de Muestreo

Se tomaron 3 fragmentos de bosque de diferentes tamaños (1,37ha – 12,63ha – 47,74ha). Se aplicó un diseño por bloques y se adaptó la metodología propuesta por Flores (2015), el cual determinó el efecto de la fragmentación sobre las comunidades microbianas. Se modificó la metodología aumentando la distancia de borde y el número de puntos de muestreo, con el fin de recoger la mayor variabilidad en los datos. Se ubicó un transecto perpendicular al borde de 100m, que constó de 5 puntos de muestreo a diferentes distancias (0 m, 10 m, 20 m, 50 m y 100 m) tomados desde el borde hasta el interior del bosque como se muestra en la Figura 3.

Inicialmente de la capa superficial del suelo se removieron hojas, piedras y sólidos de gran tamaño, se extrajeron 15 submuestras de suelo a una profundidad de 20cm tomando un equivalente a 1kg por submuestra, que fueron tamizados con una malla de 2mm y posteriormente ubicados en frascos estériles y bolsas Whil-pak, las submuestras se etiquetaron, se transportaron y almacenaron

entre 4°C a 6°C, hasta procesarlas en laboratorio de la Universidad Santo Tomás. Allí se evaluó la densidad microbiana y la producción de AIA – NH<sub>4</sub><sup>+</sup> para cada distancia de borde.

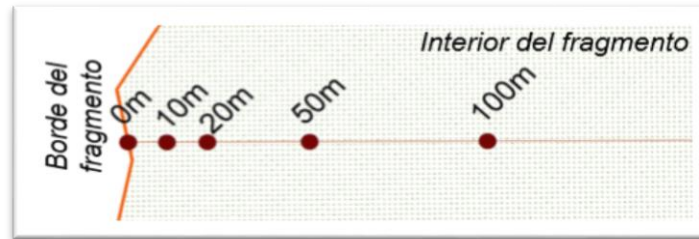


Figura 3. Ubicación de puntos de muestreo, por Mejía & Trujillo, 2019.

### 8.3 Diseño experimental

#### 8.3.1 Etapa 1. Evaluar las características físico-químicas del suelo en cada uno de los fragmentos de bosque en RFPQV

Para la evaluación de las características física-químicas del suelo (Color y textura), se tomó una muestra de suelo de cada fragmento ubicada a 50m.

##### 8.3.1.1 Color.

El análisis del color de las muestras de suelo fue realizado en el laboratorio de suelos de la Universidad Santo Tomás mediante el método de Munsell. Para cada muestra de suelo, se tomó 7 gr de suelo, que fue secada al aire, luego se comparó con el color de las tablas estándar de Munsell hasta obtener las tres propiedades del color del suelo: matiz, brillo e intensidad cromática (L. Flores & Alcalá, 2010).

##### 8.3.1.2 Textura.

La textura fue analizada por el laboratorio de suelo de Terrallanos mediante el método de Bouyoucos.

### 8.3.1.3 Características Químicas del suelo

Para el análisis de las variables químicas del suelo, se evaluó una muestra por fragmento tomada a una distancia de 50m desde el borde hacia el interior del bosque, éstas fueron determinadas por el Laboratorio de suelos Terrallanos (Tabla 4), los parámetros evaluados fueron los siguientes:

Tabla 4. *Análisis Químico del suelo*

Análisis	Método
pH	Relación 1:1 agua suelo
Materia Orgánica	Walkley Black
Hierro	Extracción con DTPA
Fósforo disponible	Bray II
Aluminio	Cloruro de Potasio 1N (Yuang)

*Nota:* Parámetros y métodos de análisis químicos. Adaptado de Laboratorio de suelos Terrallanos, por Moreno, 2019.

### 8.3.2 Etapa 2. Determinar la densidad y la producción de AIA - $\text{NH}_4^+$ en microorganismos, en los transectos ubicados en cada uno de los fragmentos

#### 8.3.2.1 Determinar densidad microbiana de microorganismos, en los transectos ubicados en cada uno de los fragmentos

De acuerdo a Borrero & Silva (2005) de cada submuestra, se pesaron 10 gramos de acuerdo siguiendo los lineamientos de NTC4113-6, luego se llevó un frasco con 100 ml de solución salina al 0,85% estéril y mediante agitador orbital se homogenizó durante 30 minutos a 180 rpm. Se realizaron diluciones seriadas por triplicado (3 copias) en tubos con 9 ml de solución salina al 0,85% estéril hasta la dilución  $10^{-5}$  (5 tratamientos) a partir de cada tubo se realizó siembra en profundidad, depositando 1 ml en cajas Petri estéril, luego se les adicionó Agar nutritivo (AN) y Agar de papa Dextrosa (PDA) estéril, se homogenizó e incubó a  $25^{\circ}\text{C}$  durante 3 días. Para el diseño experimental se requirieron 900 cajas Petri para los 3 fragmentos donde se realizaron los recuentos

microbianos, de las cuales 450 cajas Petri crecieron bacterias y las restantes (450) crecieron colonias de hongos y levaduras (Figura 4)

DENSIDAD MICROBIANA																										
Submuestra (0 metros)					Submuestra (10 metros)					Submuestra (20 metros)					Submuestra (50 metros)					Submuestra (100 metros)						
diluciones	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-1}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	$10^{-2}$	$10^{-2}$	$10^{-3}$	$10^{-4}$	$10^{-5}$	
Copias	A	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	B	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
	C	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12
Unidades de respuesta	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	12	
SubTotal	60					60					60					60										
TOTAL POR FRAGMENTO = 300																										
TOTAL 3 FRAGMENTOS = 900																										

Figura 4. Diseño experimental de la densidad microbiana, por Mejía & Trujillo, 2019.

Finalmente se enumeró las colonias teniendo en cuenta los lineamientos de la NTC 4092/16. Se estableció que la dilución adecuada para el recuento entre 15 y 250 UFC/ml fue de  $10^{-2}$  y  $10^{-3}$ , de allí se obtuvo un ponderado para determinar la densidad poblacional UFC/ml mediante la siguiente ecuación:

$$Densidad\ microbiana = \frac{\sum c}{v \cdot 1,1 \cdot d} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

$\sum c$  es la suma de colonias contadas de las cajas petri provenientes de 2 diluciones sucesivas

$v$  es el volumen de la muestra en cada caja (ml)

$d$  es la dilución correspondiente a la primera dilución seleccionada ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ...)

El resultado calculado es expresado en notación científica, es decir como un número entre 1 y 9,9 multiplicado a la potencia 10, si el segundo decimal es igual o mayor a 5, se aproxima.

### 8.3.2.2 Determinar la producción AIA – $NH_4^+$ en microorganismos del suelo, en los transectos ubicados en cada uno de los fragmentos

Como se muestra en la Figura 5, para cada submuestra se realizaron 2 copias (A-B), donde se requirieron 8 tubos de ensayo para bacterias y 8 tubos de ensayo para hongos y levaduras por copia, para un subtotal de 160 tubos de ensayo por fragmento y 480 tubos de ensayo para los 3 fragmentos de bosque.

PRODUCCIÓN DE COMPUESTOS PROMOTORES DE CRECIMIENTO VEGETAL											
Submuestra (0 metros)		Submuestra (10 metros)		Submuestra (20 metros)		Submuestra (50 metros)		Submuestra (100 metros)			
COPIAS	A	8 tubos		8 tubos		8 tubos		8 tubos		Unidades de respuesta	
	B	8 tubos		8 tubos		8 tubos		8 tubos			
Unidades de respuesta		32		32		32		32		32	
TOTAL POR FRAGMENTO = 160											
TOTAL 3 FRAGMENTOS = 480											

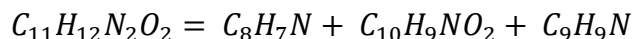
Figura 5. Diseño experimental de la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal, por Mejía & Trujillo, 2019.

#### 8.3.2.2.1 Producción de Ácido Indol-Acético (AIA)

Se aislaron mediante técnica por agotamiento 8 bacterias, 4 hongos y 4 levaduras en cada una de las distancias (0m, 20m, 10m, 50m, 100m) en el suelo de la Reserva Forestal Protectora Quebrada Vanguardiuno, es decir 80 microorganismos por fragmento para un total de 240 aislamientos (120 bacterias, 60 hongos y 60 levaduras), los cuales fueron codificados, (B) bacterias, (H) Hongos filamentosos y (L) levaduras.

Para la determinación de la auxina Acido Indolacético, se sembraron las cepas en tubos de ensayo con medio SIM por triplicado y se incubaron por 3 días a 25°C. El medio SIM que contiene triptófano, donde una vez es degradado por las enzimas triptofanasas de los microorganismos producen Indol, Acido Indolacético y escatol (MacFaddin, Rondinone, & Giovaniello, 2003)

*Triptófano = Indol + Acido Indolacético + Escatol*



Se les adicionó 2 gotas de reactivo de Kovacs, la prueba fue positiva cuando se observó un anillo de color fucsia a rojo, producto de la reacción del Indol con el aldehído, es decir se determina la estructura básica de Indol, que en otras significa que también produjo Ácido Indolacético.

### 8.3.2.2 Producción de amonio

A partir de las cepas positivas para Indol, se realizaron suspensiones en medio líquido preparado con caseína peptonada + cloruro de sodio, para esto se tomó un inóculo del microorganismo con un asa redonda y se disolvió en el medio hasta obtener una turbidez igual al patrón de 0,5 Mc Farland, que corresponde a  $1,8 \times 10^6$  UFC/ml de células. Se dejó incubar por 4 días a una temperatura de 25°C, se empleó para la determinación de la producción de Amonio, método colorimétrico del Kit de amonio de Merck® Millipore con tarjeta colorimétrica, se tomó una alícuota de 5 ml del medio líquido previamente incubado, se determinó el Ph, ajustándolo para la prueba entre 2 a 12, se depositó en el tubo de prueba del kit, al que se le adicionan 3 gotas del reactivo 1, agitándolo, luego 3 gotas del reactivo 2 (potasio tetraidomercurato), se agitó y 3 gotas del reactivo 3 (hidróxido de sodio), agitándolo nuevamente, se obtiene una coloración pardoamarillo, debida a la reacción de los reactivos con los iones de amonio producidos por los microorganismos, la concentración se determinó semicuantitativamente mediante comparación visual de color con la tarjeta colorimétrica que comprende la concentración de  $NH_4$  en 0, 0,5 – 1 – 2 – 3 – 5 – 7 – 10 mg/L (Figura 5).

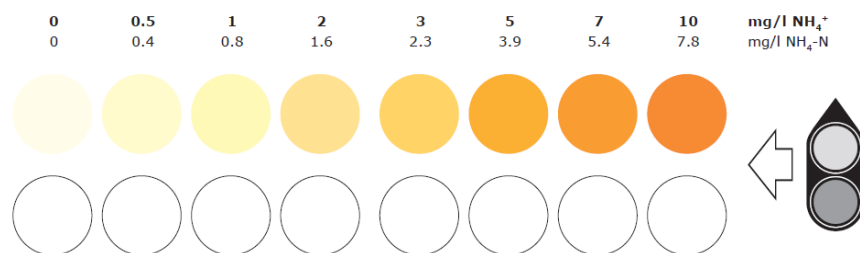


Figura 6. Escala colorimétrica del Kit de amonio, por Merck Millipore, 2019.

### ***8.3.2.2.3 Conservación de las cepas***

Las cepas que presentaron la doble capacidad, producción de Indol y amonio, se conservó, en medio BHI (Infusión Cerebro Corazón). Las cepas aisladas fueron transferidas con asa redonda al medio BHI en tubos de ensayo por duplicado, luego se incubaron durante 3 días a una temperatura de 25°C. Finalmente, se conservaron mediante refrigeración, almacenándolos a una temperatura de -4°C.

### **8.3.3 Etapa 3. Analizar la correlación de los parámetros físico-químico con la densidad de microorganismos y los metabolitos de crecimiento obtenidos en los fragmentos de bosque**

Mediante el software estadístico IBM SPSS Statistic, se determinó la normalidad de los datos mediante el Test de Shapiro-Wilk, y mediante la prueba Kruskal-Wallis se determinó la variación entre las variables teniendo en cuenta las distancias de borde y el tamaño de fragmento. Adicionalmente, con el objeto de establecer la correlación entre la densidad de los microorganismos (Hongos y bacterias), la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal (AIA –  $\text{NH}_4^+$ ) y las distancias de los puntos de muestreo, se realizó la matriz de correlación, mediante el coeficiente de correlación de Pearson (Paramétrico – distribución normal) y Spearman (No paramétrico – distribución no normal), el cual indicó que tan fuerte es su relación.

## 9. Resultados y análisis de resultados

### 9.1 Objetivo 1. Evaluar las características Físico-químicas del suelo en cada uno de los fragmentos de bosque

En la Tabla 5, se consignan los valores que corresponden al análisis de los parámetros físico-químicos del suelo para cada uno de los tipos de fragmentos (pequeño, mediano, grande). Para el análisis químico del suelo se tomaron valores de referencia según Molina & Méndez (2002) que comprende los valores óptimos de calidad del suelo.

Tabla 5. Características físico-químicas para cada tamaño de fragmento de la RFPQV

Tipo de análisis	Parámetro	Frag. Pequeño	Frag. Mediano	Frag. Grande	
Químico	Hierro (ppm)	131,25**	297,87**	90,63*	
	Aluminio (meq/100g)	3,80**	2,60**	0,60*	
	Materia Orgánica (%)	0,80	2,20	0,60	
	Fósforo (ppm)	0,80	3,50	7,50	
	pH (Und)	4,00	3,90	4,40	
Físico	Textura	FA	FA	AF	
	Color en seco	Hue	10YR	10YR	10YR
		Value y chroma	4/4	4/3	4/2
		Color	Café oscuro amarillento	Café	Café oscuro grisáceo

Nota: FA: Franco arenoso, AF: Arenoso Franco. \*\*Valores altos, \*Valores óptimos, los restantes comprenden valores bajos. Análisis realizados por Laboratorio de suelos Terrallanos. Por Moreno, 2019.

En general las características fisicoquímicas de los 3 fragmentos de bosque de la Reserva Forestal Protectora Quebrada Vanguardiuno, indicaron que el fragmento pequeño y mediano se caracteriza por presentar suelos franco-arenosos mientras que el fragmento grande presentó una textura Arenoso-franco. Los valores de pH son extremadamente ácidos para los 3 tipos de fragmentos (4 – 3,9 – 4,4). En cuanto al porcentaje de materia orgánica (0,6 a 2,2) y fósforo (0,8 a 7,5) los valores son considerados bajos según Molina & Méndez (2002). Además se mostraron altos contenidos de Hierro (90,63 a 297,87) y Aluminio (0,6 a 3,8). Por otro lado, los resultados dados muestran que el fragmento pequeño y grande presenta las condiciones más favorables para el desarrollo de los microorganismos.

Se mostraron variaciones en los datos de Hierro ( $S=109,81$ ), Fósforo ( $S=3,37$ ) y Aluminio ( $S=1,61$ ) principalmente. Sin embargo, no se hallaron diferencias significativas (Kruskal-Wallis  $p=0,368$ ) entre las 3 muestras de suelo.

## **9.2 Objetivo 2. Determinación de la densidad poblacional microbiana y producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal en microorganismos, de acuerdo a las distancias de borde y tamaño de fragmento**

Se tiene el supuesto de que la densidad y la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$  en microorganismos están relacionados con las distancias de borde y el tamaño del fragmento. Por un lado el efecto borde disminuye una vez se incrementan las distancias de borde, donde los fragmentos pequeños presentarán un efecto de borde mayor.

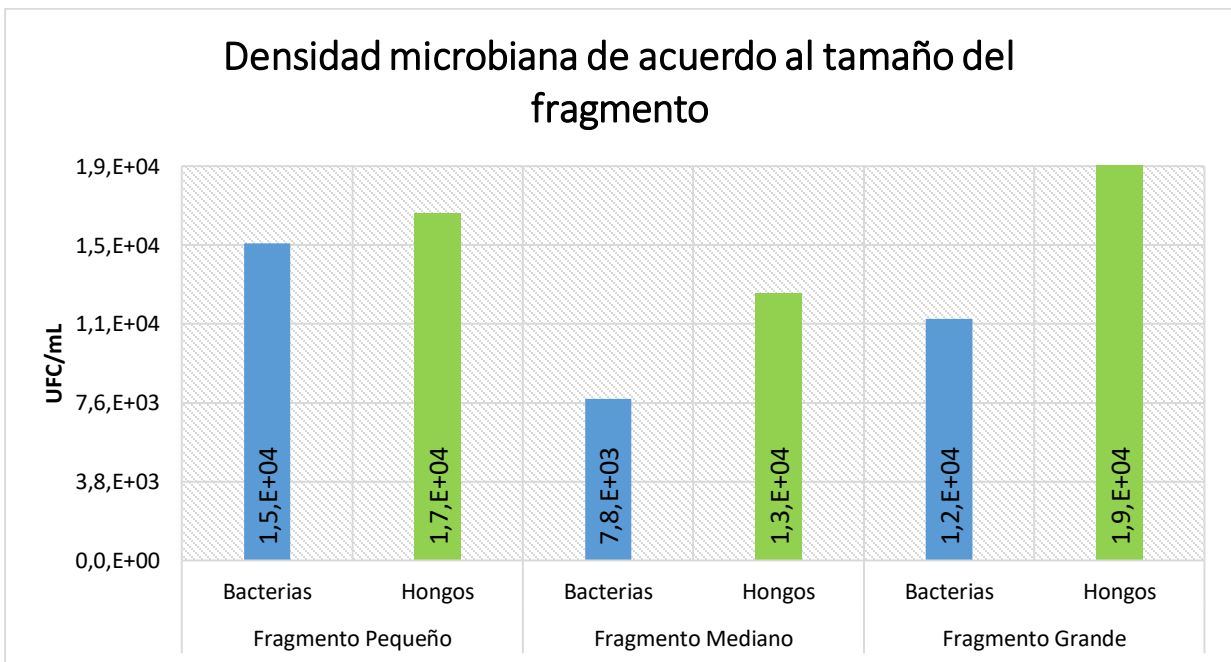
El efecto de borde afectó las densidades microbianas de acuerdo a las distancias de borde, mostrando también un comportamiento variable en la producción de metabolitos. Por otro lado, el efecto de borde favoreció la producción de AIA,  $\text{NH}_4^+$  y las densidades microbianas de acuerdo a tamaño del fragmento.

Mediante los resultados obtenidos se estableció que a mayor densidad microbiana, mayor es la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal, así mismo éstos guardan una relación con el pH y la disponibilidad de nutrientes.

### 9.2.1 Densidad microbiana de acuerdo a las distancias de borde y tamaño de fragmento

De acuerdo a las distancias de borde entre los 3 tratamientos (tamaño de fragmento), no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Kruskal wallis  $p=0,61$ ;  $p=0,034$ ) en la densidad de bacterias y hongos respectivamente.

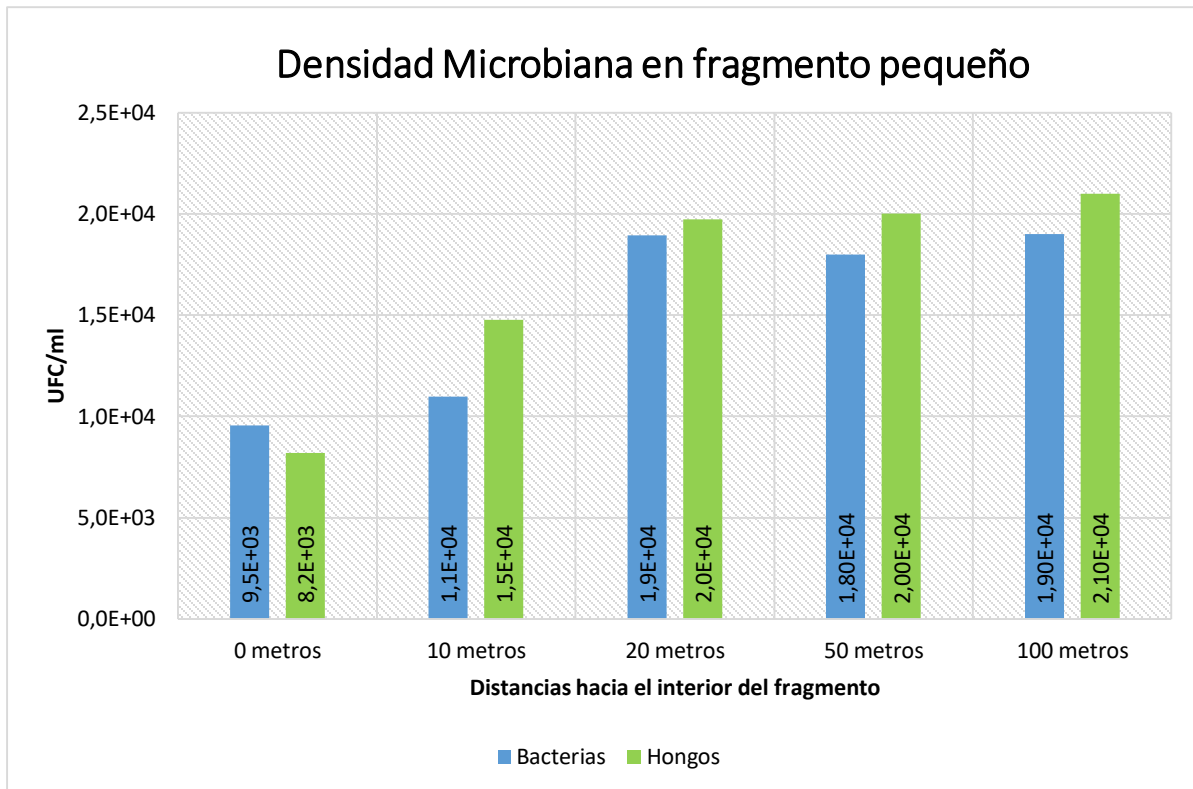
En la figura 7, se puede observar las densidades microbianas en cada uno de los fragmentos (pequeño, mediano y grande). La densidad de hongos presentaron la mayor densidad en cada uno de estos ( $x=1,622E+04$ ). El fragmento pequeño presentó la mayor densidad microbiana ( $x=1,6E+04$ ) seguido por el fragmento grande ( $x=1,5E+04$ ). Sin embargo, no se encontró diferencias significativas en la densidad de bacterias y hongos respectivamente (Kruskal-Wallis  $p=0,018$ ;  $p=0,264$ ).



*Figura 7.* Densidad microbiana promedio de acuerdo al tipo de fragmento, por Mejía & Trujillo, 2019.

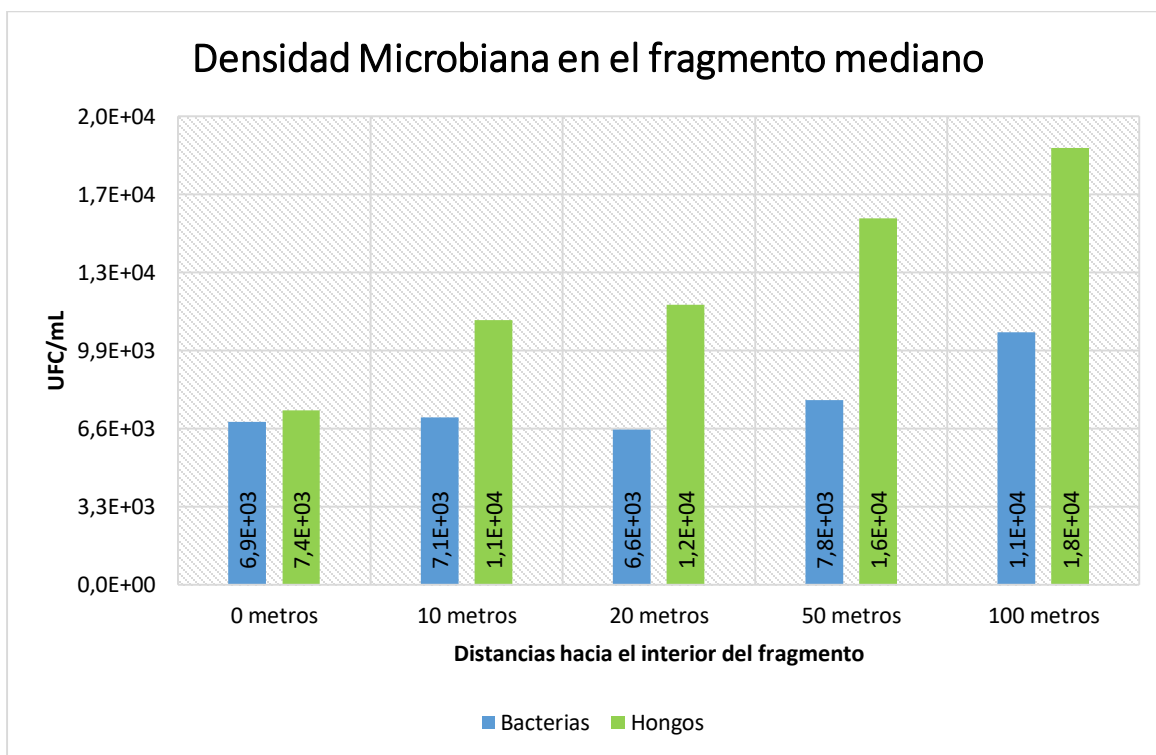
En la figura 8 se puede observar la densidad microbiana de bacterias y hongos en UFC/mL de acuerdo a las distancias de borde (0m, 10, 20m, 50m y 100m) en el fragmento pequeño (1,37ha).

Siendo evidente que la mayor densidad microbiana está dada por los hongos en todas las distancias de borde excepto a 0 metros. Se apreció, un aumento lineal en la densidad de hongos y bacterias, donde las menores densidades están dadas en la distancia de 0m. A pesar de que se presentaron variaciones de acuerdo a las distancias de borde, no se evidenció diferencias estadísticamente significativas para la densidad microbiana. (Kruskal-Wallis  $p=0,406$ ).



*Figura 8.* Densidad microbiana en el fragmento pequeño a diferentes distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019.

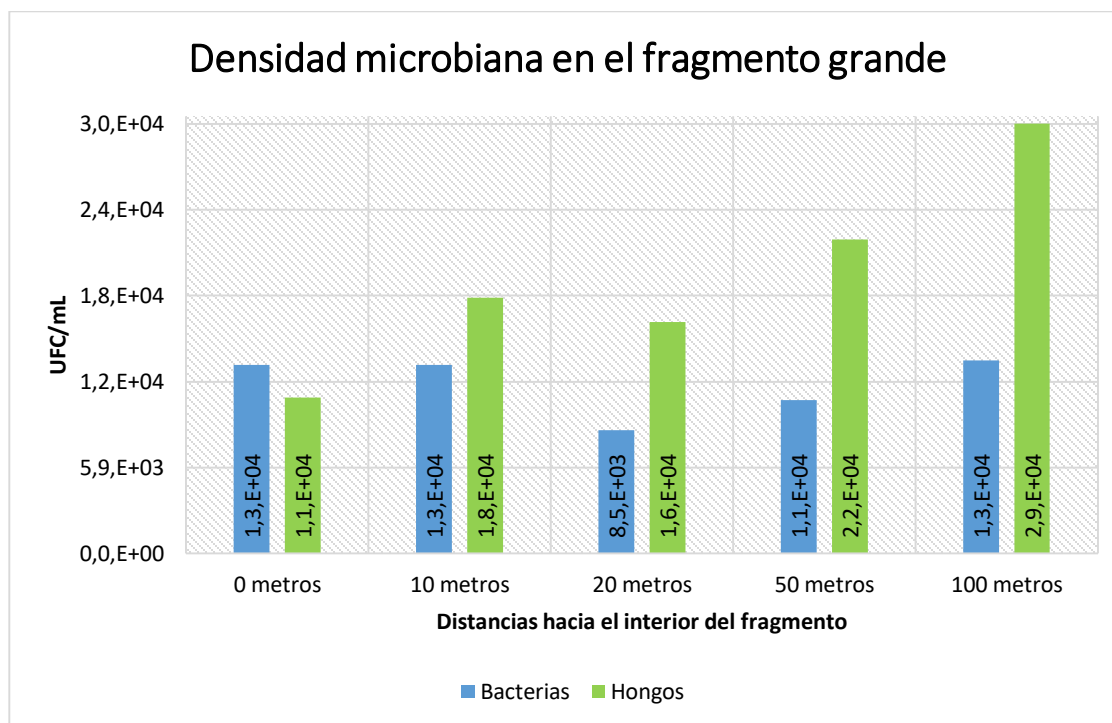
En la figura 9, muestra la densidad microbiana de acuerdo a las distancias de borde en el fragmento mediano (12,63ha), la gráfica presentó una tendencia de aumento. Los hongos tuvieron la mayor densidad microbiana en todas las distancias de borde ( $x=1,903E+004$ ). Los datos mostraron una variación en los datos de bacterias ( $s=2,0906E+003$ ) y hongos ( $s=7,0170E+003$ ) pero no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis  $p=0,406$ ). Se determinó que el valor mínimo de la corresponde a las distancias 20m y 0m respectivamente.



*Figura 9.* Densidad microbiana en el fragmento mediano a diferentes distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019.

La figura 10, correspondiente al fragmento grande, presentó una tendencia de aumento en las densidades microbianas, una vez aumentan las distancias de borde. Las mayores densidades microbianas están dadas por los hongos en todas las distancias de borde en especial a 100 metros, con excepción de la distancia 0m.

Las bacterias presentaron una densidad media de  $1,1E+004$ , y los hongos una densidad media de  $1,9E+004$ . Se estimó que la mayor variación de datos se encontró en la densidad de hongos ( $7,0170E+003$ ) aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas (Kruskal-Wallis  $p=0,406$ ) (Figura 10).



*Figura 10.* Densidad microbiana en el fragmento grande a diferentes distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019.

### 9.2.2 Producción de Ácido Indolacético (AIA) de acuerdo a las distancias de borde y tamaño de fragmento

Para la producción de ácido Indolacético, los resultados obtenidos mostraron que de los 240 microorganismos aislados, sólo 14 cepas tuvieron la capacidad de degradar el triptófano y producir Ácido Indolacético (Tabla 6). En general, es notable que la mayor parte de los microorganismos aislados con capacidad de producir Acido Indol acético fueron las bacterias. De las 120 bacterias aisladas el 10,33% (n= 13) son productoras de AIA y de las 60 levaduras aisladas sólo 1,66% (n=1) produjeron la auxina Ácido Indolacético, mientras que la prueba fue negativa para la totalidad de los hongos aislados (Tabla 6).

Tabla 6. Producción positiva de Ácido Indolacético (AIA) en cada fragmento de diferente tamaño

MICROORGANISMOS	FRAGMENTO PEQUEÑO	FRAGMENTO MEDIANO	FRAGMENTO GRANDE
BACTERIAS (CEPAS)	B1, B5, B6, B8, B9, B10, B18, B25, B33.	B79	B87, B95, B98.
LEVADURAS (CEPAS)	L7		
TOTAL	10	1	3

Nota: Cepas codificadas que muestran producción de ácido indolacético en los 3 bosques fragmentados, por Mejía & Trujillo, 2019.

De acuerdo a la Figura 11, el fragmento pequeño, presentó mayor número de microorganismos con la capacidad de producir AIA, que corresponde al 71,42% del total (n=10), le sigue el fragmento grande, donde 3 microorganismos biosintetizan AIA que representa el 21,42% del total y finalmente el fragmento mediano con 7,14% (n=1). Es notable que las bacterias representaron el mayor número de cepas con dicha capacidad y los hongos no produjeron AIA. La producción de AIA mostró algunas variaciones, sin embargo, no se encontraron diferencias significativas estadísticamente (Kruskal-Wallis  $p=0,024$ ;  $p=1$   $p=0,368$ ).

El fragmento pequeño mostró que 22,5% de las bacterias aisladas, el 0% de los hongos aislados y el 5% de las levaduras aisladas produjeron AIA, donde el restante 77,5% bacterias, 100% hongos y 95% levaduras fueron negativas para AIA. Además, para el fragmento mediano sólo el 2,5% de las bacterias aisladas produjeron AIA, el restante 97,5% bacterias, 100% hongos y levaduras no produjeron AIA. Así mismo, el fragmento mediano mostró que sólo el 7,5% de las bacterias aisladas fueron positivas para la prueba de AIA, donde el restante 92,5% junto con el 100% de hongos y levaduras no tuvieron la capacidad de producir AIA (Figura 11).

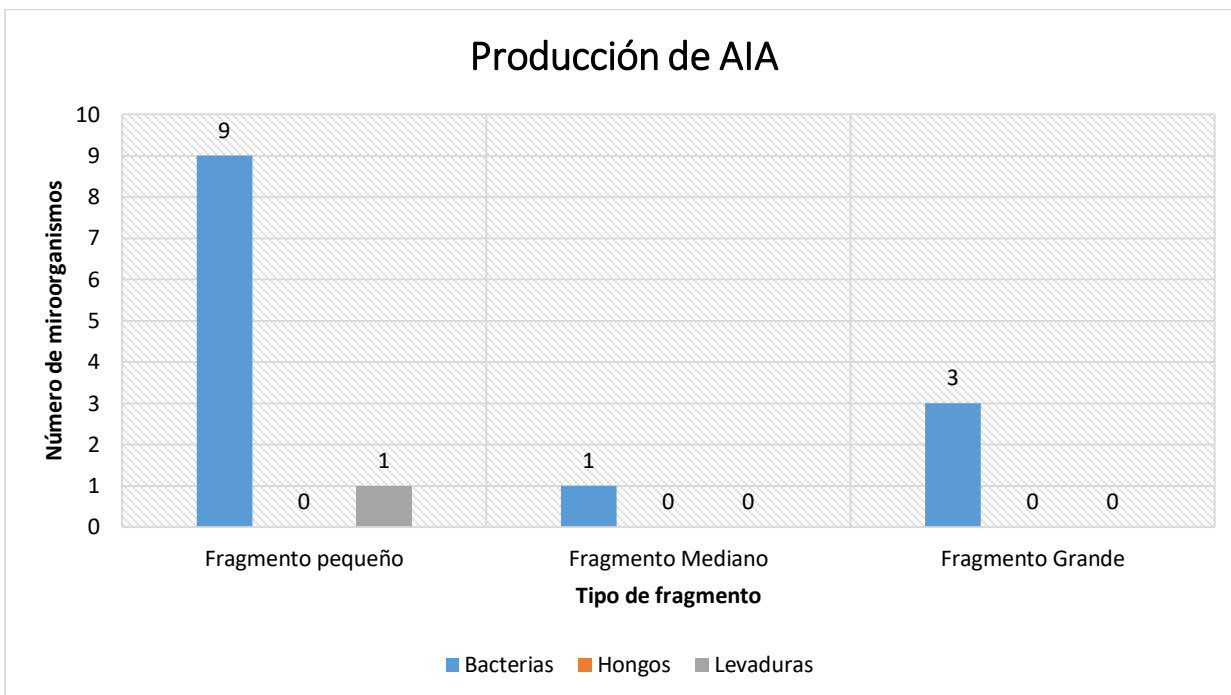


Figura 11. Número de microorganismos productores de Ácido Indolacético en los 3 bosques fragmentos, por Mejía & Trujillo, 2019.

La Figura 12, mostró que para el fragmento pequeño, se obtuvo que de los 80 microorganismos aislados el 12,5% ( $n=10$ ) mostraron producción positiva de AIA. El mayor número de microorganismos con capacidad de producir AIA se concentró en la distancia 0m. A partir de allí, se evidencia un descenso del número de microorganismos con capacidad de producir AIA, pero no se encuentran diferencias significativas estadísticamente (Kruskal-Wallis  $p=0,063$ ).

Para el fragmento mediano, de los 80 microorganismos aislado el 1,25% ( $n=1$ ) presentaron producción de Ácido Indolacético que corresponde a bacterias, mientras que los hongos y las levaduras aisladas no mostraron esta capacidad. Por lo tanto no hay diferencias estadísticamente significativas para cada una de las distancias de borde en cuanto a bacterias (Kruskal-Wallis  $p=0,061$ ), hongos y levaduras (Kruskal-Wallis  $p=1$ ) (Figura 12).

Finalmente, Para el fragmento grande, de los 80 microorganismos aislados el 3,75% ( $n=3$ ) tuvieron la capacidad de producir AIA, donde para las distancias 0m, 10m y 20m el comportamiento de las bacterias es constante, pero para la distancia 50m y 100m no hubo

producción de AIA. Además, los hongos y las levaduras aislados no mostraron dicha capacidad. Nuevamente, no hay diferencias significativas estadísticamente para la producción de AIA en bacterias (Kruskal-Wallis  $p=0,061$ ), hongos (Kruskal-Wallis  $p=1$ ) y levaduras (Kruskal-Wallis  $p=1$ ) (Figura 12).

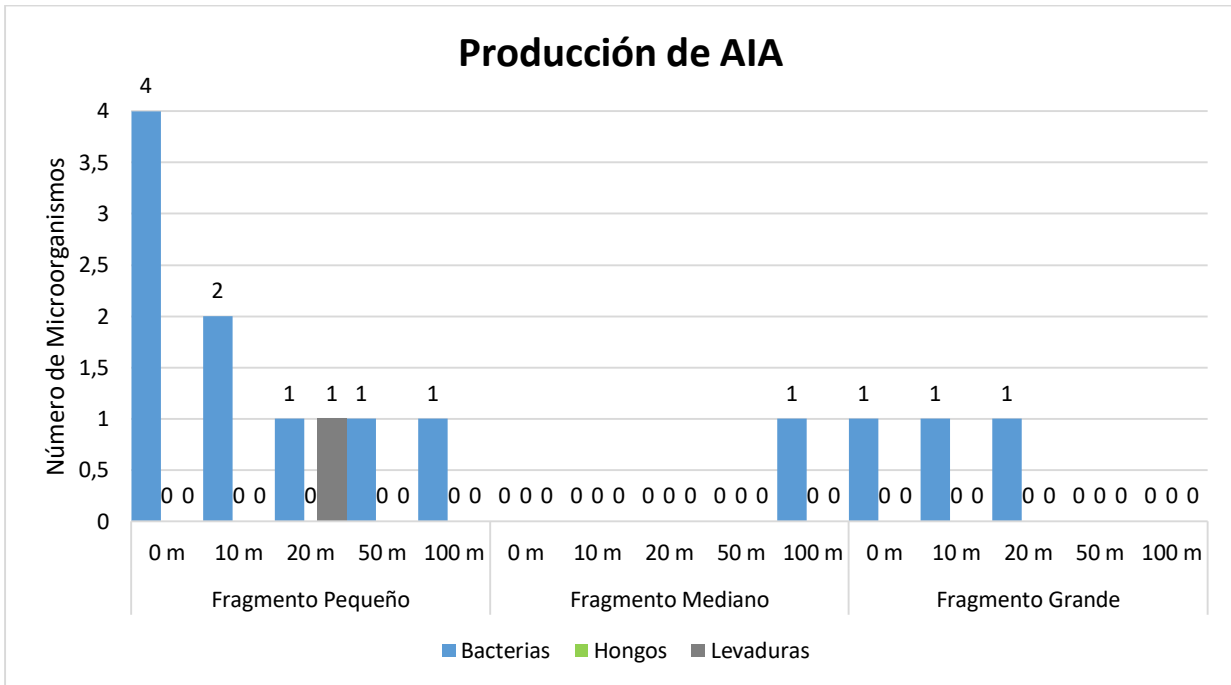


Figura 12. Número de microorganismos productores de Ácido Indolacético en los 3 bosques fragmentos, discriminado por distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019.

### 9.2.3 Producción de amonio acuerdo a las distancias de borde y tamaño de fragmento

Los microorganismos positivos para la prueba de AIA, fueron seleccionados para determinar la producción de Amonio ( $\text{NH}_4^+$ ). La figura 13, muestra la concentración de  $\text{NH}_4^+$  producido para cada una de las cepas, categorizando los datos de acuerdo al tipo de fragmento y distancias de borde.

En general, es notable que las concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  son bajas, con valores entre 0 mg/L, 0,5 mg/L y 1 mg/L, teniendo en cuenta que la escala de valoración detecta concentraciones hasta 10 mg/L. Además, se puede observar que el 64,28% de las cepas producen 0,5 mg/L de  $\text{NH}_4^+$ , el 21,42% producen 1 mg/L de  $\text{NH}_4^+$  y 14,28% no producen  $\text{NH}_4^+$ . La mayor producción de  $\text{NH}_4^+$

está dado para las cepas B1, B9 y 7L que corresponden a las primeras distancias de borde (0m-20m) del fragmento pequeño, para este mismo fragmento se encontró que las cepas B8 y la cepa B87 del fragmento grande no reportaron producción de  $\text{NH}_4^+$ .

Aunque hay pequeñas variaciones en las concentraciones de  $\text{NH}_4^+$ , la prueba Kruskal-Wallis no reportó diferencias estadísticamente significativas de acuerdo al tipo de fragmento ( $p=0,41$ ) o distancias del borde ( $p=0,73$ ). Es evidente que es más común que los microorganismos tengan la capacidad de producir  $\text{NH}_4^+$  que AIA.

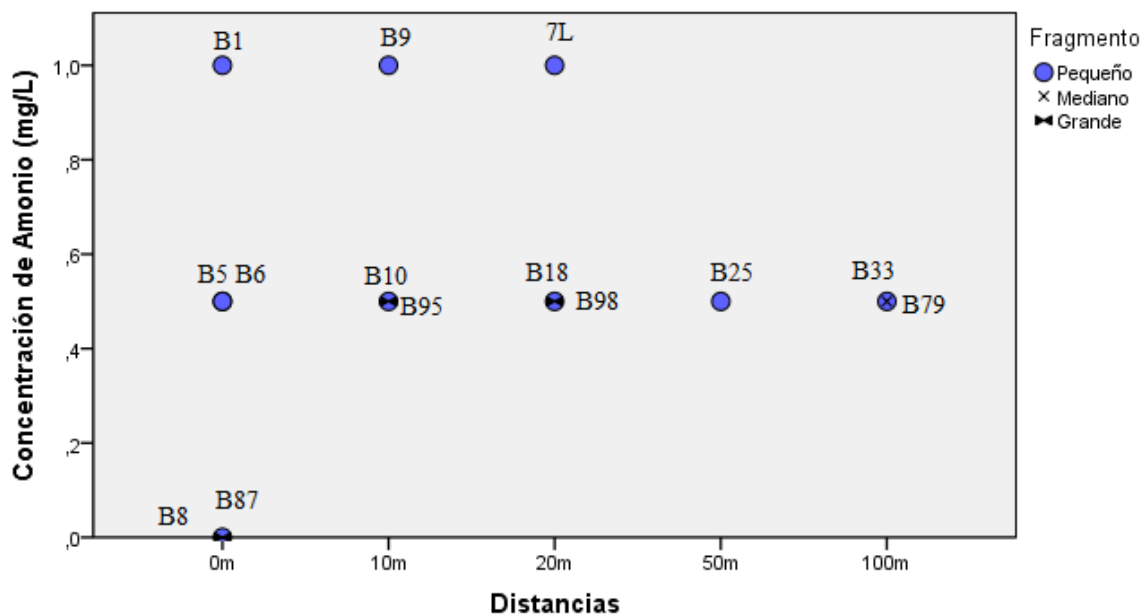


Figura 13. Concentración de amonio discriminado por tipo de fragmento y distancias de borde, por Mejía & Trujillo, 2019.

#### 9.2.4 Conservación de las cepas

Se conservaron en caldo BHI, un total de 13 Bacterias.

### 9.3 Objetivo 3. Analizar la correlación de los parámetros físico-químicos con la densidad de microorganismos y la producción de metabolitos de crecimiento

La Prueba de normalidad mediante el Test de Shapiro-Wilk, determinó que la variable densidad microbiana presentó una distribución normal, por lo tanto se debe realizar análisis estadísticos paramétricos (índice de Pearson), mientras que las variables de producción de metabolitos y parámetros físico-químicos al no presentar una distribución normal deberá ser sometido a análisis mediante el índice de Spearman (No paramétrico), como lo muestra la Tabla 7.

Tabla 7. Prueba de normalidad

VARIABLES	FRAGMENTO	FRAGMENTO	FRAGMENTO
	PEQUEÑO	MEDIANO	GRANDE
	Sig	Sig	Sig
Densidad Bacterias	0,058	0,100	0,520
Densidad Bacterias y Hongos	0,927	0,890	0,152
Producción de AIA en Bacterias	0,0021*	0,0001*	0,004*
Producción de AIA en Hongos	a	a	a
Producción de AIA en Levaduras	0,0001*	a	a
Producción de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> en Bacterias	0,003*	0,003*	0,003*
Producción de NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> en Levaduras	0,003*	0,003*	0,003*
Propiedades físico-químicas	>0,3		

*Nota:* Prueba de normalidad mediante el Test de Shapiro-Wilks en SPSS. \* La distribución no es normal, el restante presenta una distribución normal a: Los datos son constantes, por Mejía & Trujillo, 2019.

Se calculó el índice de correlación de Pearson para variables que tienen una distribución normal (Tabla 8) a través del Software estadístico SPSS. La Tabla 8, mostró correlaciones estadísticamente significativas entra las distancias de borde y la densidad microbiana para el fragmento pequeño. En el fragmento mediano las distancias de borde presentaron estadísticamente significativa con la densidad de hongos y en el fragmento grande presentó una correlación significativa entre la densidad de hongos y la densidad de bacterias.

Tabla 8. *Matriz de correlación entre los 3 bosques fragmentos.*

Fragmento		Distancias	Densidad Bacterias	Densidad Hongos
Fragmento Pequeño	Distancias	1		
	Densidad de Bacterias	0,947*	1	
	Densidad de Hongos	0,951*	0,829*	1
Fragmento Mediano	Distancias	1		
	Densidad de Bacterias	0,164	1	
	Densidad de Hongos	0,964*	0,188	1
Fragmento Grande	Distancias	1		
	Densidad de Bacterias	0,712	1	
	Densidad de Hongos	0,730	0,938*	1

*Nota.* Matriz de correlación mediante índice de Pearson a través del software SPS para variables que tienen una distribución normal \*La correlación es significativa, por Mejía & Trujillo, 2019.

Mediante el índice de correlación de Spearman se correlacionaron las características fisicoquímicas con la densidad microbiana y la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal (AIA – NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). En la Tabla 9, muestra el tipo de correlación establecida positiva (+) negativa (-). Adicionalmente, el (\*) indica una correlación alta, es decir una correlación estadísticamente significativa

Tabla 9. Matriz de correlación de las características físico-químicas con la densidad y la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal

	pH	MO	Al	P	Fe	Textura	color	Densidad Bacterias	Densidad Hongos	AIA	NH <sub>4</sub>
pH											
%MO	-.*										
Al	-	+									
P	+	-	-.*								
Fe	-.*	+*	+	-							
Textura	+	-	-	+	-						
Color	-	+	+*	-.*	+	-					
Densidad Bacterias	+	-	+	-	-	+	+				
Densidad Hongos	+*	-.*	-	+	-.*	+	-	+			
AIA	+	-	+	-	-	+	+	+*			
NH <sub>4</sub>	+	+	+*	-.*	+	-.*	+*	+		+	

Nota. Matriz de correlación mediante índice de Spearman a través del software SPS \*La correlación es significativa. (-) La correlación es negativa. (+) La correlación es positiva. (MO) materia orgánica; (NH) amonio; (AIA) Acido Indolacético; (Fe) Hierro; (P) Fósforo; (Al) Aluminio, por Mejía & Trujillo, 2019.

De acuerdo a la Tabla 9, se presentaron correlaciones positivas estadísticamente significativas entre las siguientes variables: entre densidad de hongos y pH, entre la densidad de bacterias y la producción de AIA, entre color,  $\text{NH}_4^+$  y Al.

Las correlaciones negativas estadísticamente significativas se presentaron entre Al y P, entre Fe y densidad de hongos, entre Al y Fe, entre  $\text{NH}_4^+$  y P, entre color y P.

## 10. Discusión

Los resultados del análisis físico-químico del suelo coinciden con los análisis de suelos de Jamioy et al (2015), Rincón & Ligarreto (2008) realizados en Villavicencio, que respalda lo expuesto por Carvajal (1997) afirmando que dichas características son comunes de suelos muy evolucionados, es decir de suelos oxisoles del piedemonte llanero de la Orinoquia.

Para dar respuesta a la pregunta problema, los resultados obtenidos mostraron pequeñas variaciones en la densidad microbiana, la producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal de acuerdo a las distancias de borde y tamaño del fragmento. También se presentaron ciertas variaciones en las características físico-químicas del suelo de acuerdo al tamaño de fragmento.

De acuerdo con algunos autores, los cambios en el ecosistema bien sea físicos, químicos o bióticos, representan un efecto negativo sobre la cobertura vegetal, las condiciones del suelo, afectando de manera indirecta los microorganismos (Flores, 2015; Peña et al., 2005)

Esto significa que ante una alteración de las propiedades del suelo, se esperaría un efecto negativo sobre el comportamiento de los microorganismos, al interior del fragmento por el efecto de borde. Lo anterior respalda los resultados obtenidos, debido a que se evidenció un descenso de las densidades microbianas una vez se acercan al borde del fragmento. Así mismo, este comportamiento se presentó en la producción de AIA en el fragmento mediano.

Los cambios de mayor evidencia fue sobre las densidades microbianas, que mostraron un aumento lineal de acuerdo a las distancias de borde, esto puede deberse a que según Murcia (1995) los cambios estructurales y microclimáticos en el borde pueden afectar todo el ecosistema, entre ellos el comportamiento de los microorganismos. Donde el efecto borde, se reduce a medida que se aumentan las distancias.

El fragmento pequeño presentó la mayor densidad microbiana y producción de metabolitos, seguido por el fragmento grande. Esto podría estar asociado a sus características físico-químicas, los cuales presentan las condiciones más favorables para el crecimiento y la actividad microbiana, debido a que los microorganismos dependen de la disponibilidad de nutrientes, pH y materia orgánica. Por lo tanto, los cambios surgidos bien sea físicos (temperatura, humedad), químicos (características químicas del suelo) y bióticos (cobertura vegetal) por el efecto borde favorecieron su comportamiento. Los registros de producción de Ácido Indolacético presentaron mayores variaciones de acuerdo al tamaño del fragmento, ya que las distancias de borde presentaron un patrón variable.

Aunque no se encontró diferencias estadísticamente significativas en las variables analizadas, esto no significa ausencia de significancia biológica, por lo tanto no se puede determinar de forma definitiva la ausencia de consecuencias del efecto borde sobre la densidad y actividad microbiana, pues al presentarse variaciones posiblemente estos cambios están atribuidos al efecto borde. Con lo dicho anteriormente, los resultados coinciden con la hipótesis establecida, debido a que la densidad microbiana y la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$  tienen un comportamiento que depende de las distancias de borde y tamaño del fragmento.

Las bacterias por su parte presentaron el mayor número de microorganismos capaces de producir AIA, que coincide con los resultados de Vasco (2015). Por el contrario, la producción de AIA fue nula para hongos, donde González (1985), presentó resultados similares, mencionando que ciertos hongos producen AIA-oxidasa, una enzima que reduce o inhibe la producción de ácido indolacético, por lo que este podría ser un limitante para biosintetizar AIA.

Se ha argumentado una reducción en la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$  debido a la influencia del pH extremadamente ácido (Clavijo, Chipana, Centeno, Zúñiga, & Guillén, 2012; Leal, 2015). Calvo et al., (2008) menciona que la actividad microbiana es ideal en un pH entre 5,5 y 6,0, pero bajo condiciones de mayor acidez disminuye. Esta afirmación respalda los resultados obtenidos, donde los suelos extremadamente ácidos de la RFPQV, son un limitante para la producción de metabolitos. Allí se encontró una correlación entre pH y la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$ , donde a medida que el pH se hace más ácido, la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$  se reduce. Por ello, las mayores

producciones de AIA y  $\text{NH}_4^+$ , se encontraron en los fragmentos menos ácidos. El Fragmento mediano (suelo más ácido), mostró ausencia de AIA en la mayoría de las distancias del borde. También se encontró una correlación entre AIA y  $\text{NH}_4^+$ , pues es de esperarse que un número mayor de microorganismos capaces de producir AIA representarán mayor concentración promedio de  $\text{NH}_4^+$ , aunque las concentraciones presentan pocas variaciones, debido a que presentaron entre 0mg/L a 1 mg/L de  $\text{NH}_4^+$ .

Por otro lado, según García (1986) citado por (Navas & Morales, 2006), afirma que los suelos ácidos son ideales para el crecimiento de hongos y las bacterias prefieren un pH más cercano a la neutralidad. Los resultados coinciden de acuerdo a este planteamiento, debido a que las mayores densidades microbianas están dadas por los hongos en los 3 fragmentos analizados que presentan suelos extremadamente ácidos. Además según Wild (1992) los hongos representan casi un 70% de la población microbiana en el suelo (Julca Otiniano, Meneses Florián, Blas Sevillano, & Bello Amez, 2006), esto justificaría la gran densidad de hongos. De igual manera, su densidad microbiana puede estar relacionado con la disponibilidad de nutrientes. Según Frioni (2005) los hongos son los microorganismos menos exigentes nutricionalmente y cuentan con estructuras de resistencia (Julca Otiniano et al., 2006), lo que significa que soportan periodos de adversidades, lo que valida la presencia significativa de hongos en los fragmentos. Por el contrario, las bacterias presentaron menor densidad microbiana que puede estar relacionado con los bajos niveles de nutrientes en el suelo, su sensibilidad a los cambios y el pH del suelo.

Por otro lado, las densidades microbianas pudieron verse afectadas por los cambios de temperatura en los primeros metros cercanos al borde, donde según Wild (1992), el desarrollo óptimo de los microorganismos se encuentra entre los 25 a 35°C. Aunque dentro de este estudio no se consideró la temperatura, Cortes & Varón (2018) mostraron un aumento de la temperatura en el borde, que podría reducir la densidad microbiana.

Por su parte, Soil Survey Division Sstaff (1993) relaciona el pH del suelo con alta concentración de  $\text{H}^+$ , donde un exceso de las precipitaciones satura el suelo, causando la pérdida de bases solubles en suelos arenosos, los cuales permiten la rápida infiltración del agua, favoreciendo la acumulación de cationes ácidos (Al, Fe). Los resultados sustentan lo anterior, debido a que los suelos de la

RFPQV presentaron suelos con altos % de arenas y altas valores de Aluminio- Hierro. Igualmente, Rincón & Ligarreto (2008) reportaron valores similares en suelos del piedemonte llanero. Se ha documentado que el Al y Fe a través de un proceso llamado hidrólisis rompen las moléculas del agua y liberan protones  $H^+$  (hidrólisis), permitiendo que el pH se reduzca (Jaramillo et al., 2002; Osorio, 2012). Lo anterior, indica una correlación entre pH y los contenidos de Fe y Al como así lo muestran los resultados obtenidos, donde mostró mayor disponibilidad de Fe y Al en los fragmentos con el pH más ácido.

Carvajal (1997) & Jaramillo et al., (2002) mencionaron que el Aluminio (Al) y el Hierro (Fe) retienen aniones de fósforo (P), formando compuestos totalmente insolubles, disminuyendo así su disponibilidad. También destacan que el P se encuentra disponible a un pH de 6,5 - 7,5. De acuerdo a lo anterior, Fe y Al no sólo reduce el pH, sino que también reduce la cantidad de P en el suelo. Los resultados mostraron bajos contenidos de P y una correlación entre el P, Al y Fe, que sustenta lo anterior, donde una vez se incrementan los valores de Al y Fe, el P del suelo se reduce. Se concluye que la disponibilidad de nutrientes no solo está relacionado con los procesos químicos del suelo sino también está influenciado por el pH, esto quiere decir que en suelos muy ácidos el P estará menos disponible y Al-Fe más disponible.

En cuanto a la textura, el fragmento pequeño y mediano presentaron un suelo Franco arenoso (FA), mientras que el fragmento grande presentó un suelo arenoso franco (AF), según Soil Survey Division Staff, SSDS (1993) esto significa que para estas clases textuales el porcentaje de las partículas de arena son abundantes: AF (entre 90-70%), FA (entre 85-43%), por lo que la textura AF tendrá menor capacidad de retención hídrica. Por ello, las precipitaciones remueven el Fosforo (P) y parte de la Materia orgánica (MO) (Jaramillo et al., 2002). Los resultados coinciden con lo anterior, debido a que los suelos de la RFPQV mostraron valores bajos en MO y P y una correlación con la textura del suelo. La MO esta relacionada con la profundidad del suelo. Su mayor contenido se encuentra en los primeros 5cm reduciéndose gradualmente. Se podría especular que su bajo contenido puede deberse a que las muestras fueron tomadas a 20cm de profundidad, aunque según Carvajal (1997) los suelos del piedemonte llanero presentan baja MO.

De igual manera, el análisis estadístico mostró una correlación positiva entre MO y la producción de  $\text{NH}_4^+$ , donde según Carvajal (1997) los microorganismos al degradar la MO liberan  $\text{NH}_4^+$ . Por lo tanto, a mayor MO mayor concentración de  $\text{NH}_4^+$ , del mismo modo, se esperaría que la menor concentración de  $\text{NH}_4^+$  se encuentre el fragmento con menor MO. Los resultados respaldan lo anterior, aunque el fragmento mediano con mayor MO, no mostró la mayor producción de  $\text{NH}_4^+$ , por lo que el pH puede estar relacionado, debido a que éste presentó el suelo más ácido, el cual limita su producción. En general, la baja MO representó bajas concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  en los 3 fragmentos.

El valor más bajo de %MO y más alto de P se presentó en el fragmento grande (AF). Por lo tanto, %MO y P están influenciados por diferentes características del suelo (textura, Al, Fe, pH) como así se muestran las correlaciones y también por factores ambientales.

Los resultados mostraron una correlación entre la textura y la densidad microbiana, debido a que según Frioni (2005) estas clases de texturas permiten la aireación y la disponibilidad de agua importante para la nutrición microbiana, aunque los resultados no mostraron un patrón claro.

Los resultados de color del suelo en los tres fragmentos presentaron un matiz Rojo amarillento (YR), que están correlacionados con la textura y Fe. Debido que los suelos bien drenados (Textura AF-FA) permiten la oxidación e hidratación de los compuestos minerales de Fe, mostrando esta tonalidad (L. Flores & Alcalá, 2010; Jaramillo et al., 2002). El fragmento grande presentó un color Café Grisáceo y textura AF, donde el alto % arena le aportó tonalidades grises a su color, mientras que para la textura FA no hubo presencia de grises, debido a que su % arenas es menor.

La pequeña variabilidad en los resultados obtenidos pueden deberse a diferentes factores, entre ellos metodológicos. Es factible suponer que la distancia del transecto (100m) no fue suficiente, debido a que según Fernández (2008) puede que el efecto de borde haya abarcado los 100m o la totalidad del fragmento. Se podría suponer que el tamaño de la muestra pudo influenciar, debido a que las variaciones pueden ocurrir en los primeros metros del borde y necesitaría ser evaluado a una escala mayor, es decir mayor cantidad de muestras. Por otro lado, algunos investigadores han tomado 2 zonas de muestreo (la primera en el borde y la segunda a una determinada distancia) en

el fragmento para evaluar el efecto borde sobre microorganismos, mostrando variaciones importantes en las variables medidas (Duque castaño, 2016; D. Flores, 2015), por lo que esta metodología podría representar mayores variaciones en los resultados.

Por otro lado, Flores (2015) menciona que los efectos de la fragmentación tendrán que ser evaluados sobre el sistema planta-suelo-microorganismos, dado que estos se relacionan entre sí, donde una alteración en alguno de sus componentes repercutirá en todos ellos. Con lo anterior, se podría suponer que para determinar con mayor claridad las consecuencias que tiene el efecto de borde sobre el comportamiento de los microorganismos del suelo, es importante tener en cuenta los cambios que han surgido la cobertura vegetal, la estructura y las características físico-químicas del suelo que pueden afectar las comunidades microbianas por el efecto de borde.

La influencia del efecto de borde sobre los fragmentos, puede estar relacionado con el tamaño y tipo de matriz circundante, debido a que según Flores (2015) una matriz agrícola puede ejercer mayor influencia sobre los factores bióticos y abióticos. Para el caso del fragmento mediano y grande, se encontraba separado por una vía sin pavimentar, mientras que el fragmento pequeño por una invasión urbana, por lo tanto, matrices diferentes ejercerá mayores o menores cambios sobre las variables físicas y biológicas. Así mismo, Peña (2005) señala que el efecto de borde puede estar dado por el nivel de perturbación y fertilidad del suelo, que se desconoce en los fragmentos evaluados.

Finalmente, este estudio es una contribución al conocimiento de efecto borde sobre los microorganismos, donde de acuerdo al tamaño del fragmento y distancias de borde, se presentan cambios que altera la densidad y la producción de AIA y  $\text{NH}_4^+$ .

## 11. Conclusiones

- Se determinó que la RFPQV presenta suelos extremadamente ácidos, con bajos contenidos de Fósforo y materia orgánica, altos contenidos de Aluminio y Hierro en el suelo, muy característico de los suelos oxisoles del piedemonte llanero.
- Se corroboró que el efecto de borde guarda una relación con el tamaño del fragmento, donde la mayor densidad microbiana y producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal se encontraron en el fragmento pequeño, por lo tanto los cambios físicos, químicos y bióticos en el ecosistema por el efecto borde, favorecieron su comportamiento.
- Se encontró variaciones en las densidades microbianas, la producción de metabolitos, de acuerdo a las distancias de borde, donde la densidad microbiana presentó mayores variabilidades presentando una tendencia de aumento, que puede ser atribuidas al efecto de borde.
- Se estableció que las bacterias presentan mayor capacidad para producir AIA y  $\text{NH}_4^+$ , mientras que los hongos no produjeron AIA pero presentaron mayores densidades microbianas, que puede estar relacionado con el pH y la disponibilidad de nutrientes en el suelo, debido a que se encontraron correlaciones significativas entre las características físico-químicas (MO-pH-nutrientes-textura) del suelo, la densidad microbiana y la producción de AIA -  $\text{NH}_4^+$ .
- Se construyó información base a cerca de las características físico-químicas del suelo, así como de la densidad y la actividad de microorganismos nativos de la RFPQV, que aportará al diagnóstico del Plan de Manejo de la RFPQV en su componente suelos.

## 12. Recomendaciones

Teniendo en cuenta que no hubo diferencias significativas estadísticamente de acuerdo a las distancias de borde seleccionadas en el estudio para las variables evaluadas (densidad microbiana y producción de compuestos promotores de crecimiento vegetal), se recomienda que para futuras investigaciones, se revise de manera exhaustiva las metodologías, debido a que las variaciones de los resultados pueden estar relacionados con la distancia del transecto, el tamaño de la muestra y la matriz circundante

Debido a la estrecha relación que existe entre planta-suelo-microorganismos, sería importante que para determinar con mayor claridad el efecto de borde sobre las comunidades microbianas, se involucrara variables que permitan evaluar los cambios surgidos en el cobertura vegetal y el suelo por el efecto borde que afectan de manera indirecta a los microorganismos.

Con el fin de evitar inconvenientes en el desarrollo de los procesos metodológicos de la investigación, se recomienda que antes de realizar cualquier prueba o análisis en el laboratorio se debe leer las guías técnicas y la metodología, para apropiarse e interiorizar las técnicas a realizar para desarrollarlas de una forma precisa y ágil, disminuyendo de esta forma los posibles errores en la realización de las pruebas, logrando resultados con exactitud y precisión.

Es importante diseñar un cronograma de actividades para optimizar tiempo.

Aunque es clara la necesidad de realizar investigación en áreas de reserva. Los microorganismos a pesar de formar parte de la biodiversidad son los menos estudiados, por lo tanto es importante que se estudien con mayor detalle, debido a que estos cumplen importantes funciones en el suelo y favorecen el crecimiento de plantas.

### 13. Referencias bibliográficas

- Beltrán, M. E., Rocha, Z. E., Bernal, A. A., & Pita, L. A. (2017). Microorganismos funcionales en suelos con y sin revegetalización en el municipio de Villa de Leyva, Boyacá. *Colombia Forestal*, 20(2), 159. <https://doi.org/10.14483/udistrital.jour.colomb.for.2017.2.a05>
- Benintende, S., Sanchez, C., & Sterren, M. (n.d.). *ecologia microbiana*. Retrieved from [http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/microbiologia/unidad\\_4\\_ecologia\\_microbiana.pdf](http://www.fca.uner.edu.ar/files/academica/deptos/catedras/microbiologia/unidad_4_ecologia_microbiana.pdf)
- Cañón, R., Avellaneda, L., & Torres, E. (2012). Microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno en suelos bajo tres sistemas de uso. *Acta Agronómica*, 61(4), 371–379. Retrieved from <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=169926831010>
- Carvajal, R. (1997). *Propiedades Físicas Químicas y Biológicas de los suelos*. Retrieved from <http://bibliotecadigital.agronet.gov.co/bitstream/11348/6636/1/083.pdf>
- Castillo, G., Altuna, B., Michelena, G., Bravo Sánchez, J., & Acosta, M. (2005). *Cuantificación del contenido de ácido indolacético (AIA) en un caldo de fermentación microbiana*. Retrieved from [https://www.researchgate.net/publication/39296522\\_Cuantificacion\\_del\\_contenido\\_de\\_acido\\_indolacetico\\_AIA\\_en\\_un\\_caldo\\_de\\_fermentacion\\_microbiana](https://www.researchgate.net/publication/39296522_Cuantificacion_del_contenido_de_acido_indolacetico_AIA_en_un_caldo_de_fermentacion_microbiana)
- Celis Bautista, L. X., & Gallardo, I. R. (2008). *Estandarizacion de metodos de deteccion para promotores de crecimiento vegetal (Acido indol acetico y giberelinas) en cultivos microbianos* (Pontificia Universidad Javeriana). Retrieved from <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8948/tesis95.pdf?sequence=1>
- Cerón, L. E., & Aristizábal, F. A. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. *Revista Colombiana de Biotecnología*, XIV(1), 285–295. Retrieved from <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77624081026>
- Clavijo, C., Chipana, V., Centeno, J., Zúñiga, D., & Guillén, C. (2012). *Ecología Aplicada*. In *Ecología Aplicada* (Vol. 11). Retrieved from [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1726-22162012000200006](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162012000200006)
- Corporación para el Desarrollo Sostenible del Área de Manejo Especial La Macarena

- [CORMACARENA], Ministerio de Ambiente Vivienda y Desarrollo Territorial [MAVDT], & Conservacion Internacional. (2007). Formulación participativa del plan de manejo de las Reservas Forestales Protectoras “Cerro Vanguardia” y “Caño Vanguardia y quebrada Vanguardiuño.” *Aspectos Socioeconómicos*, 59–123. Retrieved from [https://docs.wixstatic.com/ugd/ff0bba\\_32ee5cf012284508a0eca9c790eaf25.pdf](https://docs.wixstatic.com/ugd/ff0bba_32ee5cf012284508a0eca9c790eaf25.pdf)
- Didham, R. K., & Lawton, J. H. (1999). Edge Structure Determines the Magnitude of Changes in Microclimate and Vegetation Structure in Tropical Forest Fragments1. *Biotropica*, 31(1), 17–30. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7429.1999.tb00113.x>
- Duque castaño, D. carolina. (2016). *Efecto De Borde En Hongos De Un Bosque Atlántico Semideciduo*. 52. Retrieved from <https://bit.ly/2VjvBOU>
- Fernández, J. (2008). *Implicaciones de la fragmentacion en la estructura y composición del bosque* (Instituto Tecnológico de Costa Rica). Retrieved from <https://core.ac.uk/download/pdf/60989051.pdf>
- Flores, D. (2015). *Efectos de la fragmentación del encinar en las interacciones planta-suelo-microorganismos*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3709.6723>
- Flores, L., & Alcalá, J. (2010). *Manual de Procedimientos Analíticos: Laboratorio de Física de Suelos*. Retrieved from <http://www.geologia.unam.mx/igl/deptos/edafo/lfs/MANUAL DEL LABORATORIO DE FISICA DE SUELOS1.pdf>
- Fox, B., Taylor, J., & Williams, C. (1997). Vegetation changes across edges of rainforest remnants. *Biological Conservation*, 82(1), 1–13. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(97\)00011-6](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(97)00011-6)
- Frioni, L. (2005). *Microbiología Básica, ambiental y agrícola*. Retrieved from [https://www.ciaorganico.net/documypublic/382\\_infoagronomo.net\\_-\\_Microlobiologa\\_bsica\\_ambiental\\_y\\_agricola\\_lilian\\_friomi\\_2006.pdf](https://www.ciaorganico.net/documypublic/382_infoagronomo.net_-_Microlobiologa_bsica_ambiental_y_agricola_lilian_friomi_2006.pdf)
- Graciano, M., Ferrera, R., Pérez, J., Molina, J., & Bashan, Y. (2006). Nitrogenase Activity , Production of Phytohormones , Siderophores and Antibiosis in Strains of (*Azospirillum Y Klebsiella*). *Terra Latinoamericana*, 24, 493–502. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/573/57324407.pdf>
- Granados, C., Serrano, D., & Garcia, A. (2014). Edge effect on composition and structure of temperate forests. Sierra de Monte Alto, Central Mexico. *Caldasia*, 36(2), 269–287.

<https://doi.org/10.15446/caldasia/v36n2.47486>

- Instituto de Hidrología Meteorología y Estudios Ambientales [IDEAM]. (2017). Monitoreo a la deforestación. Retrieved May 4, 2019, from [http://sgi.ideam.gov.co/web/sala-de-prensa/noticias/-/asset\\_publisher/LdWW0ECY1uxz/content/id/72115815?\\_101\\_INSTANCE\\_LdWW0ECY1uxz\\_urlTitle=ideam-presento-los-datos-actualizados-del-monitoreo-a-la-deforestacion-en-2017](http://sgi.ideam.gov.co/web/sala-de-prensa/noticias/-/asset_publisher/LdWW0ECY1uxz/content/id/72115815?_101_INSTANCE_LdWW0ECY1uxz_urlTitle=ideam-presento-los-datos-actualizados-del-monitoreo-a-la-deforestacion-en-2017)
- Jaramillo, D., Rodriguez, E., & Diaz, K. (2002). Introducción a la ciencia del suelo. *Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias.*, 619. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>
- Julca Otiniano, A., Meneses Florián, L., Blas Sevillano, R., & Bello Amez, S. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. *Idesia (Arica)*, 24(1), 49–61. <https://doi.org/10.4067/S0718-34292006000100009>
- Klein, B. (1989). Effects of Forest Fragmentation on Dung and Carrion Beetle Communities in Central Amazonia. *Ecology*, 70(6), 1715–1725. <https://doi.org/10.2307/1938106>
- Leal, M. A. (2015). *ecologia microbiana*. Retrieved from [https://issuu.com/gestiondeproyectos/docs/libro\\_ecologia\\_microbiana](https://issuu.com/gestiondeproyectos/docs/libro_ecologia_microbiana)
- MacFaddin, J. F., Rondinone, S., & Giovanniello, O. (2003). *Pruebas bioquímicas para la identificación de bacterias de importancia clínica*. Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=FYWSzy7EjR0C&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Mahecha Salas, S. (2011). *Comparación de la densidad y actividad bacteriana fijadora libre de nitrógeno entre tres usos de suelo* (Pontifica Universidad Javeriana). Retrieved from <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8833/tesis778.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mohite, B. (2013). Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 13(3), 638–649. Retrieved from <https://scielo.conicyt.cl/pdf/jssp/v13n3/aop51113.pdf>

- Moreno, G., Blanquer, J., & Ibáñez, S. (2010). El color del suelo. *Universidad Politecnica de Valencia*, 31, 663–668. Retrieved from [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/8008/Color del suelo.pdf](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/8008/Color%20del%20suelo.pdf)
- Murcia, A., & Cruz, S. F. (2017). *Efecto de la inoculación de bacterias promotoras del crecimiento vegetal en Maracuyá y Badea cultivadas en condiciones de estrés hídrico*. (Universidad de la Salle). Retrieved from [http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/21285/20112025\\_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://repository.lasalle.edu.co/bitstream/handle/10185/21285/20112025_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
- Navas, J., & Morales, D. (2006). *Microbiología pecuaria*. Retrieved from <http://repositorio.una.edu.ni/3343/1/tnl70n322.pdf>
- Osorio, N. W. (2012). pH del suelo y disponibilidad de nutrientes. *Manejo Integral Del Suelo y Nutrición Vegetal*, 1(4), 4–7. Retrieved from [http://www.walterosorio.net/web/sites/default/files/documentos/pdf/1\\_4\\_pH del suelo y nutrientes\\_0.pdf](http://www.walterosorio.net/web/sites/default/files/documentos/pdf/1_4_pH_del_suelo_y_nutrientes_0.pdf)
- Peña, J. C., Monroy, A., Alvarez, F. J., & Orozco, S. (2005). Uso del efecto de borde de la vegetación de la restauración ecológica del bosque tropical. *Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 8(2), 91–98. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/432/43220804.pdf>
- Pincheira, J., Rau, J., & Cortés, F. (2009). Tamaño y forma de fragmentos de bosque y su relación con la riqueza de especies de árboles y arbustos. *Phyton (Buenos Aires)*, 78(2), 121–128. Retrieved from [http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1851-56572009000200007](http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572009000200007)
- Sáenz, L. (2011). *Macrofauna y propiedades físico químicas del suelo en sistemas agroforestales con cacao (Theobroma Cacao L.) y bosques secundarios en el sur occidente de Guatemala*. 63. Retrieved from <https://revista.usanpedro.edu.pe/index.php/CPD/article/view/304>
- Santos, T., & Tellería, J. (2006). Pérdida y fragmentación del hábitat: efecto sobre la conservación de las especies. *Ecosistemass*, 15(2), 3–12. <https://doi.org/10.7818/re.2014.15-2.00>
- Seco, D., & Corte, C. (2005). *Determinación de la concentración de amonio*. Retrieved from <https://www.haw->

hamburg.de/fileadmin/user\_upload/FakLS/08LABORE/Chemie/Regenwasseranalyse/Projekt\_rain\_water\_korr\_130701.pdf

- Valladares, Flores, Forner, Morán, & Díaz. (2014). *Influencia de la fragmentación y el clima en procesos clave para la regeneración del encinar*. <https://doi.org/10.7818/ECOS.2014.23-2.06>
- Vega, P., Martínez, H., González, M., & Seeger, M. (2016). Biosíntesis de ácido indol-3-acético y promoción del crecimiento de plantas por bacterias. *Cultivos Tropicales*, 37, 33–39. Retrieved from [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0258-59362016000500005](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362016000500005)
- Villegas, J. A., Rueda Puente, E. O., Murillo Amador, B., Puente, M. E., Ruiz Espinoza, F. H., Zamora Salgado, S., & Beltrán Morales, F. A. (2014). Bacterias promotoras de crecimiento de plantas autóctonas y su efecto en *Prosopis chilensis* (Molina) Stunz. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 5(6), 1041–1053. Retrieved from [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2007-09342014000600011](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342014000600011)

Anexos

Anexo 1. Ubicación del área de estudio

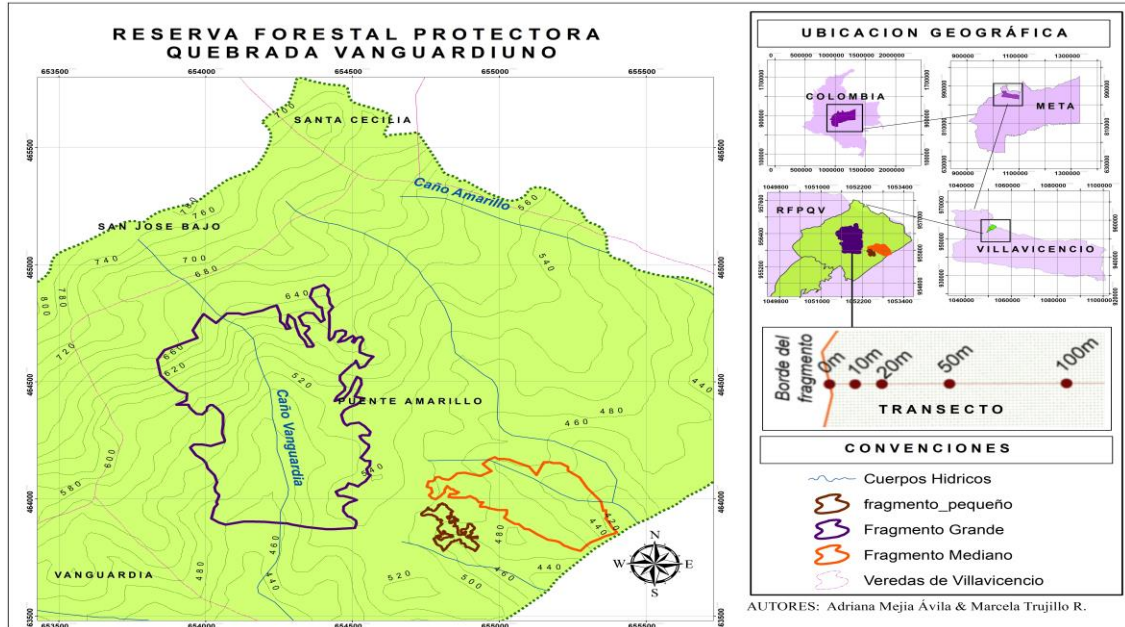


Figura 14. Ubicación geográfica del área de estudio

Anexo 2. Antecedentes

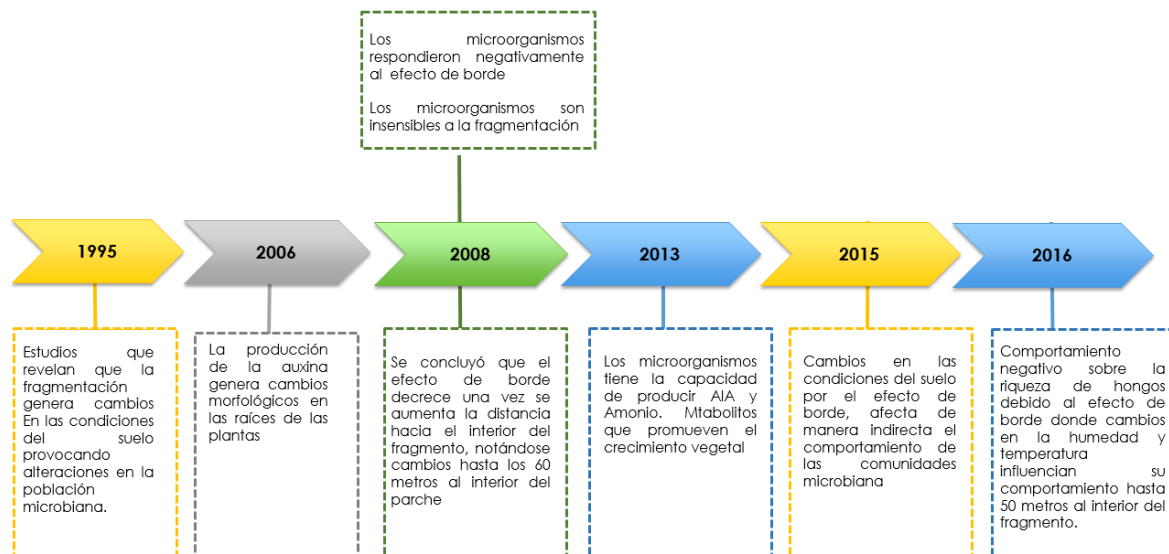
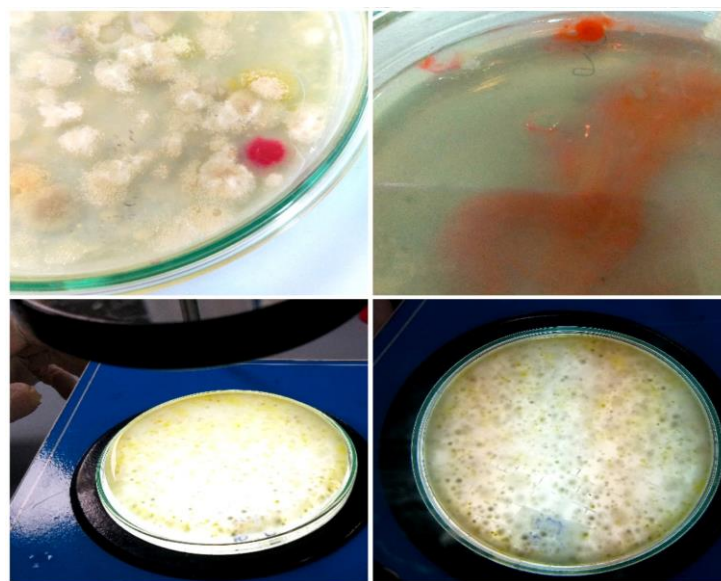


Figura 15. Línea temporal entorno a los estudios del efecto borde sobre microorganismos

Anexo 3. Evidencia fotográfica de la metodología



*Figura 16.* Muestreo y análisis físico del suelo



*Figura 17.* Recuento y selección de cepas

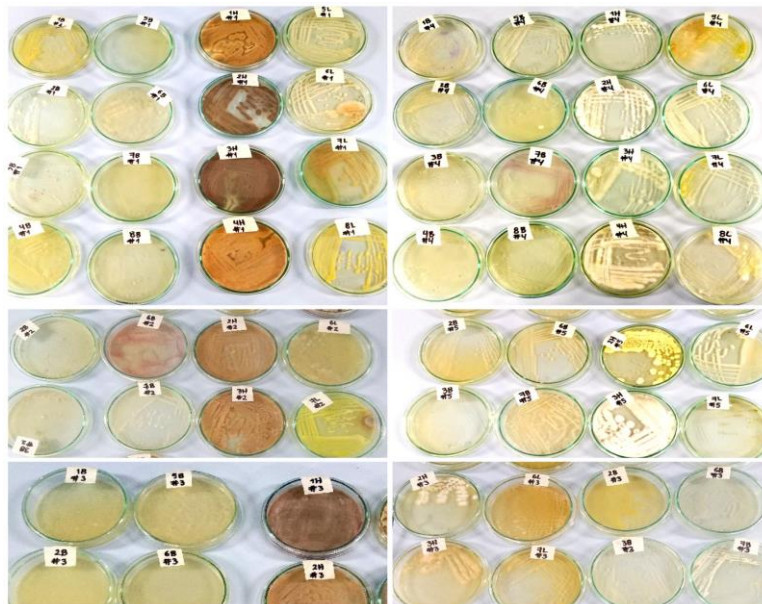


Figura 18. Aislamiento de las cepas seleccionadas

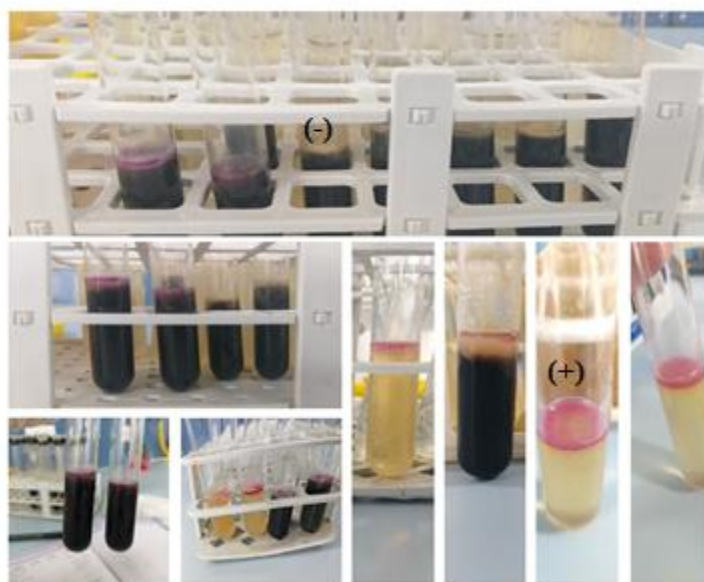


Figura 19. Producción de Ácido Indol acético en microorganismos del suelo

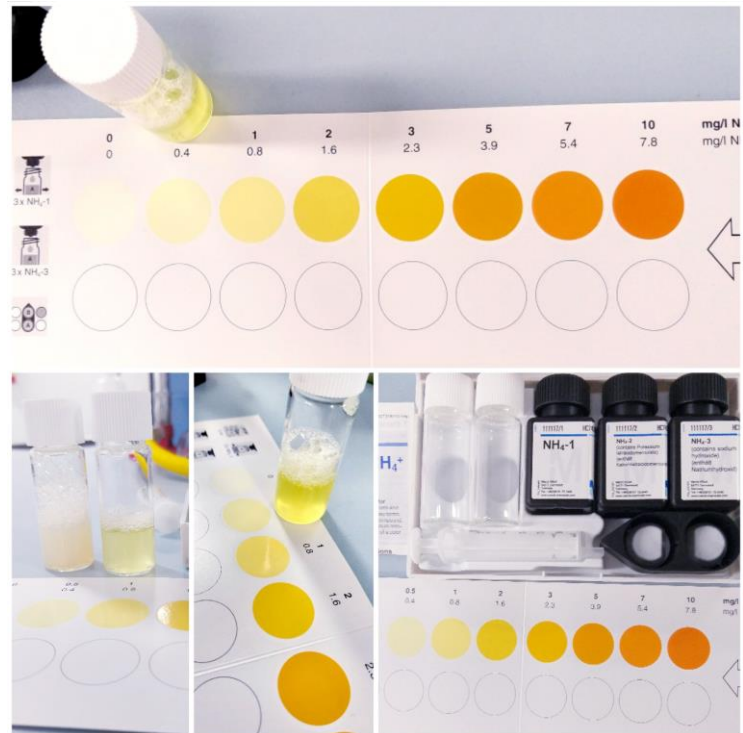


Figura 20. Cuantificación colorimétrica de la producción de Amonio en microorganismos