



**ANÁLISIS DE INDICADORES DE LA CALIDAD DEL SUELO PARA LA  
EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA ESTRATEGIA DE  
RESTAURACIÓN REALIZADA EN EL CORREDOR BARBAS-BREMEN,  
FILANDIA-QUINDÍO**

**MARÍA ALEJANDRA SOTO ROJAS**

**UNIVERSIDAD ICESI  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
CALI, VALLE  
2015**

**ANÁLISIS DE INDICADORES DE LA CALIDAD DEL SUELO PARA LA  
EVALUACIÓN DE LA EFECTIVIDAD DE LA ESTRATEGIA DE  
RESTAURACIÓN REALIZADA EN EL CORREDOR BARBAS-BREMEN,  
FILANDIA-QUINDÍO**

**MARÍA ALEJANDRA SOTO ROJAS**

**TRABAJO DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE BIÓLOGO**

**TUTOR: MSc. ANDRÉS FELIPE DÁVALOS**

**CO- TUTOR: MSc. WILLIAM G. VARGAS**

**UNIVERSIDAD ICESI  
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES  
PROGRAMA DE BIOLOGÍA  
CALI, VALLE  
2015**

## TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN .....	1
ABSTRACT .....	2
1. INTRODUCCIÓN.....	3
2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO .....	5
2.1. Planteamiento de la pregunta de investigación.....	5
2.2. Justificación.....	5
3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE .....	7
3.1. Restauración ecológica y corredores biológicos .....	7
3.2. El suelo y sus características físicas y químicas .....	8
3.3. Importancia del suelo en un ecosistema y el rol de los microorganismos.....	9
3.4. Indicadores de calidad del suelo .....	10
3.5. Grupos funcionales involucrados en la degradación de materia orgánica .....	11
3.6. Perfil fisiológico a nivel de comunidad y ecoplacas Biolog™ .....	13
3.8. Modelos de Diseño experimental .....	15
3.8.1. Análisis de varianza para un diseño unifactorial completamente aleatorizado desbalanceado (ANOVA).....	15
3.8.2. Análisis de varianza no paramétrico: Kruskal-Wallis para diseños completamente aleatorizados .....	16
3.8.3. Comparaciones múltiples .....	17
4. OBJETIVOS.....	19
4.1. Objetivo general .....	19
4.2. Objetivos específicos .....	19
5. METODOLOGÍA .....	20
5.1. Caracterización del sitio de estudio .....	20
5.2. Diseño experimental .....	21
5.2.1. Muestreo y unidad experimental .....	21
5.2.2. Factor y niveles.....	22
5.2.3. Tratamiento.....	22
5.2.4. Análisis físico y químico de las muestras de suelo.....	22
5.2.5. Análisis microbiológico de las muestras de suelo.....	23
5.3. Análisis estadístico.....	25

5.3.1. Etapa 1: Análisis descriptivo de características químicas y microbiológicas .....	25
5.3.2. Etapa 2: Análisis de correlaciones entre características químicas y microbiológicas .....	26
5.3.3. Etapa 3: Evaluación de modelo de diseño experimental para las características químicas y microbiológicas .....	26
5.3.4. Comparaciones múltiples .....	29
5.3.5. Software estadístico .....	29
6. RESULTADOS.....	30
6.1. Análisis de correlaciones entre las características químicas y microbiológicas.....	31
6.2. Evaluación del modelo de diseño experimental para las características químicas y microbiológicas .....	32
6.2.1. Modelo A. ANOVA unifactorial desbalanceado .....	32
6.2.2. Modelo B. ANOVA no paramétrico: Kruskal-Wallis .....	35
7. DISCUSIÓN.....	37
7.1. Características químicas.....	37
7.2. Características microbiológicas y regulación de la diversidad y abundancia microbiana.....	39
8. CONCLUSIONES .....	44
9. RECOMENDACIONES.....	45
10. REFERENCIAS.....	46
11. ANEXOS .....	52
ANEXO 1. Definición de las características químicas evaluadas.....	52
ANEXO 2. Montaje realizado para la determinación de la actividad microbiana .....	53
ANEXO 3. Análisis descriptivo de las características físicas y microbiológicas evaluadas en los suelos de los diferentes lugares .....	53
ANEXO 4. Efecto del pH en la disponibilidad de nutrientes y en la composición microbiana de un ecosistema .....	59
ANEXO 5. Características físicas y químicas determinadas para los corredores biológicos, bosques maduros y potrero .....	60

## LISTADO DE TABLAS

<b>TABLA 1:</b> Identidad de las fuentes de carbono encontradas en las ecoplacas .....	14
<b>TABLA 2:</b> Tratamientos del experimento.....	22
<b>TABLA 3:</b> Interpretación de correlaciones de pearson .....	26
<b>TABLA 5:</b> Estadísticos resumen para las características químicas y microbiológicas según lugar de estudio .....	30
<b>TABLA 6:</b> Matriz de correlación para las variables medidas .....	31
<b>TABLA 7:</b> Prueba de homogeneidad de varianza por variable dependiente .....	33
<b>TABLA 8:</b> Prueba de normalidad por variable dependiente.....	32
<b>TABLA 9:</b> Anova de las características químicas (pH y MO) y microbiológicas (actividad, R e índice de Shannon).....	33
<b>TABLA 10:</b> Comparaciones múltiples de los suelos de los diferentes lugares para las características químicas pH y MO y la característica microbiológica índice de shannon .....	34
<b>TABLA 11:</b> Anova unifactorial y prueba robusta de welch para la igualdad de las medias .....	35
<b>TABLA 12:</b> Comparaciones múltiples de los suelos de los diferentes lugares para la concentración de aluminio .....	35
<b>TABLA 13:</b> Anova no paramétrico kruskal-wallis .....	36
<b>TABLA 14:</b> Comparaciones múltiples de los suelos de los diferentes lugares para la abundancia microbiana .....	36

## LISTADO DE FIGURAS

<b>FIGURA 1:</b> Mapa que muestra la conexión que realizan los cinco corredores biológicos entre la reserva forestal de bremen y el cañón del rio barbas. Adaptado de: delgado, (2012). .....	20
<b>FIGURA A1:</b> Diagrama de barras con errores estándar ( $x \pm sd$ ) para las características microbiológicas actividad y abundancia microbiana determinadas según el lugar de estudio.....	54

**FIGURA A2:** Diagrama de barras con errores estándar ( $x \pm sd$ ) para las características químicas determinadas según el lugar de estudio..... 56

**Figura A3:** Porcentaje de utilización de las fuentes de carbono presentes en las ecoplacas según lugar de estudio..... 57

**Figura A4:** Diagrama de barras con errores estándar ( $x \pm sd$ ) para los indicadores que resumen lo encontrados en la ecoplacas según el lugar de estudio..... 58

## RESUMEN

Uno de los proyectos de conservación más conocidos en Colombia constituye la restauración de cinco zonas bajo jurisdicción del municipio de Filandia (Quindío). El modelo de restauración ecológica utilizado en este proyecto fue el de aceleración de la sucesión, y propuso desarrollar corredores biológicos que permitieran incrementar la conexión entre dos parches aislados de bosque andino: el cañón del Río Barbas y la Reserva Forestal Bremen. Teniendo en cuenta que el suelo es un recurso natural indispensable para el sostenimiento de cualquier ecosistema terrestre y para garantizar el establecimiento de la cobertura vegetal, en este estudio se ha planteado el análisis comparativo de indicadores de la calidad del suelo en seis sitios, tres de estos corredores biológicos, dos bosques maduros y un potrero, con el objetivo de evaluar la eficacia de la estrategia de restauración implementada.

Para esto, se realizó un diseño experimental unifactorial totalmente aleatorizado y se midieron y contrastaron características químicas y microbiológicas de los suelos de los seis lugares mencionados, con el fin de evidenciar similitudes o diferencias respecto a estas características en los diferentes lugares.

Al contrastar el valor promedio de cada variable evaluada en los lugares estudiados mediante comparaciones múltiples de *Tukey-Kramer*, se encontró que el nivel promedio de pH del potrero difiere significativamente de los niveles promedio de pH de los demás lugares estudiados. En cuanto al promedio de materia orgánica, las diferencias se detectaron entre el potrero y los bosques y corredores, con excepción del corredor Pavas. Con respecto al promedio del índice de Shannon, se encontró que el bosque Barbas presentó diferencias significativas con los corredores Colibríes y Pavas y con el potrero. Se evidenció que las concentraciones promedio de aluminio entre el potrero y los bosques son significativamente diferentes, al igual que las del bosque Bremen con el corredor Colibríes. En la comparación del promedio de abundancia microbiana del potrero se encontró que este fue significativamente diferente respecto a los demás lugares, y adicionalmente, que el promedio de abundancia del corredor Colibríes difiere con los promedios de los corredores Monos y Pavas y del bosque Bremen. No se detectaron diferencias estadísticas entre los diferentes suelos para las mediciones de la capacidad de intercambio catiónico, actividad microbiana, AWCD y riqueza de microorganismos.

Con estos resultados se pudo evidenciar que la estrategia de restauración implementada sí fue efectiva, puesto que a partir de esta, los corredores biológicos Pavas y Monos se encuentran en un proceso de sucesión que los está llevando hacia la adquisición de características químicas y microbiológicas similares a las encontradas en el suelo de los bosques maduros. Sin embargo, en el corredor Colibríes se evidenció que sus características químicas y microbiológicas aún mantienen una mayor similitud con las encontradas en ecosistemas perturbados e inestables, como lo es el potrero.

**Palabras clave:** indicadores de la calidad del suelo, microorganismos, restauración, corredores biológicos

## ABSTRACT

One of the most well known projects of conservation in Colombia is the restoration of five zones in Filandia (Quindío). The employed model for the ecological restoration was the accelerated succession, where biological corridors that allows the connection between two regions of isolated Andean forest: Barbas river Canyon and Bremen forest reserve were developed. Due to the fact that the soil is a essential resource to ensure the viability of any terrestrial ecosystem and plant cover, in this study the main goal is to determine the effectiveness of the restoration strategy employed, comparing the soil indicators of six different zones, where three of them correspond to biological corridors, two to mature forest and the last one correspond to a paddock.

A completely random experimental design was perform in order to contrast the chemical and microbiological characteristics of the soil in the previous mentioned locations. With this information is possible to prove the similarities and differences among the studied locations.

Through multiple *Tukey-Kramer* comparisons of every studied variable, it was possible to demonstrate that, in average, the pH and organic matter of the paddock differs significantly from the other places. In addition, it was found that the average of Shannon index of the Barbas forest differs significantly from the Colibrías and Pavas corridors and the paddock. Moreover, it was possible to determinate that the aluminum concentration was different, in average, between the paddock and the forests, and also was different between the Bremen and Colibrías corridor. By analyzing the microbial abundance, it was found that in average the paddock was different from the other locations, and in addition, the microbial abundance of the Colibrías corridor differs significantly from the others corridors and the Bremen forests. Finally, there was no statistical difference of others soils characteristics, such as cationic interchange, microbial activity, AWCD and microbial richness.

With the gathered results, was possible to observe that the mentioned strategy implemented was effective. Thanks to this strategy, the Pavas and Monos corridors are actually in a ecological succession process, which is driving them to achieve the characteristics (chemical and microbiological) found in mature forests soils. However the Colibrías corridor still has more similarity with the disrupted ecosystems such as the paddock.

**Key words:** indicators of soil quality, microorganism, restoration, biological corridors



## 1. INTRODUCCIÓN

Las desmedidas actividades humanas han alterado, degradado y destruido diversos ecosistemas a lo largo del mundo, lo que ha llevado a muchas especies a la extinción (Primack, 2010). A raíz de esto se ha empezado a priorizar la recuperación de estas áreas afectadas mediante estrategias de restauración ecológica, las cuales consisten en iniciar o acelerar un camino ecológico hacia un estado de referencia. De esta manera, se dice que la restauración fue exitosa cuando el ecosistema afectado recobra suficientes recursos bióticos y abióticos como para sostener su estructura, procesos y funciones ecológicas por sí solo (Gann y Lamb, 2006).

Con el fin de corroborar que en efecto la estrategia de restauración aplicada en un ecosistema particular fue efectiva, se hace necesaria la implementación del monitoreo y evaluación de dicha estrategia dentro del plan de manejo. Para realizar esta tarea se debe verificar el cumplimiento de objetivos como mejorar la diversidad biológica de los paisajes degradados, aumentar las poblaciones y la distribución de especies raras o amenazadas, incrementar la conectividad del paisaje y mejorar los servicios ecosistémicos ofrecidos. Sin embargo, el monitoreo de la mayoría de estos atributos requieren esfuerzos de investigación que probablemente excederán las capacidades, presupuestos y plazos de la mayoría de los proyectos de restauración (Gann y Lamb, 2006). Motivo por el cual se deben utilizar indicadores de la efectividad de la estrategia de restauración que demuestren una trayectoria apropiada hacia la condición del ecosistema de referencia deseado, es decir hacia su recuperación y restablecimiento (SER *international*, 2004).

Uno de los indicadores que han sido recientemente utilizados con el fin de evaluar la recuperación de un ecosistema que fue sometido a un proceso de degradación, corresponde a los indicadores de la calidad del suelo. Esta última se refiere a la capacidad de un suelo para propiciar el buen funcionamiento del ecosistema, mejorar la calidad del aire, el agua y de los servicios ecosistémicos ofrecidos al ser humano (Harris, 2003). Sus indicadores pueden ser propiedades físicas, químicas y/o biológicas del suelo, las cuales deben permitir analizar la situación actual del ecosistema bajo restauración y monitorear el impacto de las intervenciones antrópicas en este (Bautista *et al.*, 2004).

Los indicadores biológicos de la calidad del suelo, en especial los que dan cuenta de la diversidad, actividad y abundancia de microorganismos presentes en este, son los que se consideran brindan la mayor información acerca de la respuesta de un área determinada frente a una estrategia de restauración, debido a que responden rápidamente a los cambios en su entorno. De esta manera, se puede obtener información sobre la efectividad de dicha estrategia en un menor tiempo sucesional comparado con estudios con seres más complejos, como animales y plantas (Eaton y Chassot, 2012).

En Colombia se utilizó una estrategia de restauración, basada en aceleración de la sucesión, en cinco zonas degradadas ubicadas en el municipio de Filandia (Quindío), con el fin de que después de su recuperación sirvieran como corredores biológicos que permitieran la conectividad entre la reserva forestal de Bremen y el cañón del río Barbas, dos parches de bosque andino que sufrieron un proceso de fragmentación (Lozano *et al.*, 2006). El monitoreo y evaluación de la efectividad de esta estrategia se ha venido haciendo con diferentes grupos de organismos tales como arañas, hongos macromicetos, plantas y mamíferos. Sin embargo, aún no se ha considerado la determinación de los indicadores de la calidad del suelo, los cuales pueden complementar y añadir información valiosa que ningún sobre la recuperación de los corredores biológicos.

De esta manera, el propósito y objetivo general de esta investigación consiste en evaluar la eficacia de la estrategia de restauración realizada en el corredor Barbas-Bremen (Filandia-Quindío), mediante la determinación de indicadores de la calidad del suelo de tres corredores biológicos y su posterior comparación con los indicadores de dos bosques maduros, tomados como ecosistemas de referencia, y un potrero, el cual servirá como control negativo. Los indicadores químicos corresponderán al pH, cantidad de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico y a la concentración de macro y micronutrientes. Respecto a los indicadores físicos, solo será tomada en cuenta la textura. Finalmente, los indicadores microbiológicos serán la actividad microbiana determinada a partir de una técnica respirométrica, la diversidad funcional evaluada mediante Ecoplacas Biolog<sup>TM</sup> y la biomasa microbiana estimada utilizando tinción fluorescente con el colorante DAPI.

## **2. DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO**

### **2.1. Planteamiento de la pregunta de investigación**

Este proyecto busca determinar y comparar indicadores químicos y microbiológicos de la calidad del suelo de tres corredores biológicos, dos bosques maduros y un potrero, con el fin de evaluar la eficacia de la estrategia de restauración basada en aceleración de la sucesión implementada en el corredor Barbas-Bremen (Filandia-Quindío).

### **2.2. Justificación**

El crecimiento desmedido de la población ha conducido a la utilización de prácticas agrícolas, pecuarias e industriales inadecuadas; lo que se ha traducido en un manejo no apropiado del paisaje, y por ende, en la explotación y pérdida masiva de recursos naturales. Es por este motivo, que en los últimos años se ha despertado un gran interés por la restauración de ecosistemas alterados o degradados, teniendo como énfasis el mejoramiento de la calidad del suelo (Bautista *et al.*, 2004). Dicha actividad beneficiaría las tierras de cultivo, la calidad del agua, el aire, el hábitat para la vida silvestre y, en general, la productividad de bosques y plantaciones. Además, la restauración lleva a la recuperación y conservación de especies de flora y fauna que son importantes para la estabilidad y biodiversidad dentro de un determinado ecosistema.

Alrededor del mundo se emplean diferentes estrategias de restauración, las cuales tienen como consecuencia final el desencadenamiento de procesos de sucesión natural, que generan cambios importantes en las características físicas y químicas del suelo, en la composición de especies vegetales, animales y microbianas, variables que junto con el clima determinan la calidad del suelo (Kibblewhite *et al.*, 2008).

En este contexto, en el año 2004 se inició un proceso de restauración avalado por el instituto Alexander von Humboldt en el municipio de Filandia-Quindío, en donde se implementaron cinco corredores biológicos con el fin de incrementar la conexión entre parches aislados de bosque andino: El cañón del Río Barbas y La Reserva Forestal Bremen (Lozano *et al.*, 2006). Esta estrategia se llevó a cabo bajo un modelo de aceleración de la sucesión para lograr que los procesos de sucesión se dieran en un periodo de tiempo menor, tratando de reproducir condiciones de composición y estructura de bosques de mayor edad y siguiendo una aproximación metodológica más cercana al proceso natural de sucesión en ecosistemas transformados.

Actualmente, diferentes estudios han tenido como objetivo el seguimiento y evaluación de la estrategia de restauración implementada, utilizando como indicadores diferentes grupos biológicos. Sin embargo, hasta el momento no se ha hecho ninguna investigación que involucre el análisis de la calidad del suelo a partir de la evaluación conjunta de sus características físicas, químicas y microbiológicas.

Realizar este tipo de análisis es de especial importancia puesto que el suelo es un recurso primordial para el establecimiento y sostenimiento de la vida (Schoenholtz *et al.*, 2000). En esta matriz los microorganismos desempeñan funciones importantes para el ecosistema y se han mostrado como excelentes indicadores de su calidad. Además presentan la ventaja de ser más sensibles que los organismos superiores, como animales y plantas, debido a su pequeño tamaño y rápido crecimiento, por lo que son ideales para evaluar actividades de restauración en una escala de tiempo sucesional menor (Eaton y Chassot, 2012). Así, alteraciones en la estructura o función de las comunidades microbianas pueden preceder cambios detectables en las propiedades físicas y químicas del suelo (Nielsen y Winding, 2002) y en los procesos ecosistémicos como el ciclaje y descomposición de nutrientes (Garland, 1997). Por consiguiente, estudiar y entender cómo las comunidades microbianas se comportan en un ecosistema y cómo la interacción con el entorno puede cambiar su funcionamiento, podría ser de gran utilidad para estimar el estado real de los procesos de recuperación y restauración de un ecosistema.

### 3. MARCO TEÓRICO Y ESTADO DEL ARTE

#### 3.1. Restauración ecológica y corredores biológicos

Dentro de las principales causas que generan el deterioro de un ecosistema se encuentran las actividades humanas como el pastoreo, la agricultura, la ganadería y la minería, que al ser practicadas de forma inadecuada y excesiva evitan que se siga la dinámica normal de estos lugares, y por tanto, lleguen a un punto en donde es superada su capacidad para absorber las diferentes perturbaciones y de recuperarse por sí mismos (Primack, 2010). Ante esta situación, se empezó a desarrollar una nueva práctica denominada restauración ecológica, la cual se enfoca en iniciar o acelerar la recuperación, en términos de servicios ecosistémicos, biodiversidad y sostenibilidad, de un determinado ecosistema que ha estado bajo un proceso de degradación o transformación (SER *international*, 2004). Como consecuencia de dichas estrategias se espera que se generen procesos de recambio y recuperación de especies a lo largo del territorio restaurado, es decir, que se dé un proceso de sucesión en un determinado tiempo ecológico (Primack, 2010).

A pesar de que el inicio formal de la restauración ecológica tuvo lugar a finales del siglo XIX, en los últimos 20 años es cuando se ha producido la mayor cantidad de publicaciones y estudios que han tenido como foco diferentes estrategias de restauración, siendo la fragmentación de hábitats boscosos uno de los problemas que más se ha querido solucionar, debido a las graves consecuencias ecológicas que este trae (Choi, 2007). Cuando un determinado ecosistema ha sufrido un proceso de fragmentación, generalmente este viene acompañado de la pérdida de conectividad entre los parches resultantes, es decir, los organismos pierden la habilidad para moverse a través de los fragmentos de hábitat, lo que resulta en la reducción de la extensión del área habitable, disminución de la dispersión y colonización de especies y en el aumento de las probabilidades de extinción y endogamia (Primack, 2010). A partir de esto se empezaron a implementar corredores biológicos, los cuales son áreas diseñadas precisamente para restablecer la conectividad estructural y funcional entre dos sectores de bosque aislados, con el fin de conservar la biodiversidad local y regional, incrementar la disponibilidad de hábitat, rescatar especies amenazadas y brindar servicios ecosistémicos (Hilty *et al.*, 2006).

A nivel nacional, cabe resaltar el desarrollo de los corredores biológicos Barbas-Bremen por parte del Instituto Alexander von Humboldt, los cuales se postulan como la primera experiencia en Colombia que busca generar alternativas de conservación en paisajes rurales ganaderos en los Andes. Esta iniciativa fue tomada debido a que en este paisaje se encontró una alta diversidad de flora y fauna, un número importante de especies endémicas y amenazadas y un gran interés de la comunidad local y regional para participar y desarrollar acciones que conllevaran a un manejo adecuado de los recursos naturales. La estrategia de

conservación diseñada para la cuenca media del río Barbas incluye la conservación y conexión de dos grandes fragmentos de bosque andino: el cañón del Río Barbas y la Reserva Forestal de Bremen (Lozano *et al.*, 2006). Así, se establecieron cinco corredores biológicos bajo un modelo de restauración basada en la aceleración de la sucesión, en donde se plantaron especies pioneras intermedias de crecimiento rápido y alta producción de biomasa y se realizó el rescate y trasplante de plántulas, todo esto para dinamizar y acelerar la sucesión (Delgado, 2012).

Después de implementada esta estrategia se ha priorizado la realización de estudios para su seguimiento, con el fin de evidenciar su eficacia. Para esto se han utilizado aves, arañas, mamíferos, plantas e insectos como bioindicadores del mejoramiento de las condiciones del hábitat e incremento de la conectividad (Lozano *et al.*, 2006; Ortiz, 2013). Por otro lado, teniendo en cuenta indicadores abióticos, Delgado (2012) realizó un estudio de las características físicas y químicas del suelo pertenecientes a corredores biológicos, bosques maduros y potreros, mostrando que los primeros han respondido positivamente a la estrategia de restauración implementada, de modo que características como la cantidad de materia orgánica y la capacidad de intercambio catiónico se han acercado a lo que sería característico en un bosque maduro. Sin embargo se hace necesario realizar un estudio más concluyente a cerca del estado real del suelo expuesto a la restauración, de modo que se incluya la actividad, diversidad y abundancia de los microorganismos y su interacción con su entorno físico y químico.

### **3.2. El suelo y sus características físicas y químicas**

El suelo es considerado un recurso natural renovable, muchos lo describen como un organismo vivo y dinámico con capacidad de regenerarse. Además constituye un sistema complejo compuesto por minerales, materia orgánica, gases, líquidos y millones de macro y microorganismos (Perez, 2008). De esta manera, en el suelo pueden distinguirse propiedades físicas, químicas y biológicas, cuya distribución y composición diferencial caracteriza cada tipo de suelo.

Dentro de las propiedades físicas del suelo se encuentran la textura, porosidad, profundidad, estructura y color, todas estas determinadas en gran medida por la composición del material parental, la topografía y por la proporción de partículas de diferentes tamaños: arena, limo y arcilla (Jaramillo, 2002). Así, la condición física de un suelo determina la rigidez y la fuerza de sostenimiento, la facilidad para la penetración de las raíces, la aireación, la capacidad de drenaje y almacenamiento de agua y la retención de nutrientes (Rucks *et al.*, 2004).

Las propiedades químicas del suelo se refieren a la composición de macro y micronutrientes, a la capacidad de intercambio catiónico y a la acidez. Estas se encuentran determinadas por la meteorización del material de partida causada por el agua, y son de gran importancia puesto que son fundamentales para determinar

la fertilidad y la composición de organismos asociados al suelo de un ecosistema (Jaramillo, 2002).

Sin embargo, las características distintivas de cada tipo de suelo, dadas por sus propiedades físicas y químicas, pueden verse afectadas por la actividad agrícola y ganadera, puesto que la primera involucra el uso de fertilizantes que alteran principalmente el entorno químico y la segunda afecta la estructura física debido al constante pisoteo del ganado, además de aportar material orgánico y biomasa ajenos al sistema, como lo son las excretas de las vacas, ricas en amoníaco (Breure, 2004).

### **3.3. Importancia del suelo en un ecosistema y el rol de los microorganismos**

La importancia del suelo en un determinado ecosistema radica en las diferentes funciones que este desempeña, dentro de las más importantes se pueden mencionar que actúa como un filtro de agua, por lo que determina en cierta medida la calidad de esta; provee hábitat y un medio de crecimiento para millones de organismos, contribuyendo a la biodiversidad; aporta nutrientes a las plantas y almacena la materia orgánica (Kibblewhite *et al.*, 2008). De todas estas, el hecho de albergar gran cantidad de microorganismos pertenecientes a diferentes grupos funcionales es considerado el más relevante, puesto que su actividad es fundamental para que las demás funciones puedan ser llevadas a cabo.

Dicha importancia radica en que los microorganismos realizan funciones como: a) descomponer la materia orgánica; b) transformar nutrientes para que las plantas puedan aprovecharlos; c) degradar residuos tóxicos; d) participar activamente en el flujo de nutrientes y de energía; e) formar asociaciones simbióticas con plantas que facilitan la extracción de nutrientes y evitan o controlan el ataque de organismos patógenos (Breure, 2004). Todas importantes para garantizar la fertilidad, desarrollo y sostenimiento del suelo y por tanto, del ecosistema.

Teniendo en cuenta la importancia del suelo y el rol que cumplen los microorganismos dentro de este, muchos estudios se han enfocado en el reconocimiento de su potencial para determinar el nivel de perturbación o daño que ha sufrido un ecosistema. Esta característica pudo comprobarse en estudios realizados por Eaton y colaboradores (2012), quienes reportaron que los cambios observados en las comunidades microbianas de los ecosistemas edáficos de bosques de tierras bajas y los bosques nublados montanos de Costa Rica, pueden ser usados para determinar el impacto causado por los diferentes manejos dados a la tierra, por la implementación de estrategias de restauración o por el cambio climático. Adicionalmente Harris (2003) demostró que el tamaño, la actividad y la composición de la comunidad microbiana son distinguibles entre tipos de ecosistemas y entre grados de perturbación de los mismos, por lo que determinar dichas características provee información muy importante acerca de un área bajo un proceso de restauración.

### 3.4. Indicadores de calidad del suelo

La calidad del suelo está relacionada con la fertilidad del mismo, e involucra a sus características físicas, químicas y biológicas. De esta manera, la Sociedad Americana de la Ciencia del Suelo (SSSA) definió la calidad del suelo como: “La habilidad que tiene un tipo específico de suelo para funcionar dentro de los límites de un ecosistema natural o intervenido, sostener la productividad de plantas y animales, mantener o mejorar la calidad del aire y el agua, y preservar la salud humana y el hábitat” (Harris, 2003).

Sin embargo, actualmente no se cuenta con un criterio universal para evaluar la calidad del suelo, puesto que esta depende de numerosas variables que dificultan su análisis, como las condiciones climáticas, la vegetación, las características especiales de cada tipo de suelo, el grado de perturbación y la interacción entre estas dentro de un ecosistema (Martinez *et al.*, 2010). Por esta razón, se ha hecho necesaria la implementación de indicadores de la calidad del suelo que sean sensibles a variaciones de clima y manejo, que permitan describir los procesos del ecosistema e integrar propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Bautista *et al.*, 2004). Así, los indicadores que comúnmente se han utilizado con el objetivo de determinar la calidad y funcionamiento de un suelo y el cambio de estos después de una intervención en el ecosistema, se pueden ordenar en tres categorías:

- a) **Indicadores físicos:** corresponden a la textura, porosidad y compactación del suelo, puesto que permiten identificar la capacidad de retención de agua que este posee, la facilidad con la que las raíces de las plantas pueden extenderse, la disponibilidad de microhábitats para los organismos edáficos, el potencial de productividad y el grado de erosión que presenta un suelo perturbado (Nogueira *et al.*, 2013).
- b) **Indicadores químicos:** corresponden a las propiedades que pueden afectar la fertilidad y la composición de los seres vivos asociados al suelo, ya que estas pueden dar indicios de posibles alteraciones medioambientales (Arshad y Coen, 1992). Dentro de los más importantes se pueden mencionar el pH, la capacidad de intercambio catiónico, la presencia de contaminantes y la cantidad de materia orgánica.
- c) **Indicadores biológicos:** son considerados los que mejor responden a cambios ambientales debido a su capacidad de adaptación (Sharma *et al.*, 2010). Hacen referencia a las propiedades que están directamente relacionadas con la actividad y composición de la biota del suelo, como bacterias, hongos, nemátodos, lombrices y artrópodos. Dichos organismos pueden desempeñar un rol como ingenieros del ecosistema al modificar características físicas como la porosidad, o influir en la disponibilidad de



nutrientes al hacer parte de los ciclos biogeoquímicos y al descomponer la materia orgánica (Martinez *et al.*, 2010).

De esta manera, se pueden mencionar algunos de los indicadores más utilizados, enfatizando en los que ofrecen información acerca de los microorganismos. Así, uno de los más comunes corresponde a la actividad microbiana, cuya determinación se ha realizado mediante técnicas respirométricas, como la medición del CO<sub>2</sub> emitido por los microorganismos asociados al suelo debido a sus actividades metabólicas (Bloem *et al.*, 2006). Por otro lado, actualmente se está estudiando la diversidad funcional del suelo mediante la utilización de dispositivos que incluyen una amplia variedad de sustratos orgánicos, lo que permite identificar el conjunto de capacidades metabólicas presentes en un ambiente a partir de un análisis del patrón de utilización de dichos sustratos (Sharma *et al.*, 2010). Otro indicador biológico importante corresponde a la estimación de la biomasa microbiana, la cual es definida como la cantidad de microorganismos por gramo de suelo, y junto con la diversidad metabólica ha sido asociada con la capacidad para descomponer materia orgánica, secuestrar o metabolizar compuestos tóxicos y hacer disponibles los nutrientes para las plantas, funciones determinantes dentro de la dinámica ecosistémica (Nielsen, 2002).

Teniendo en cuenta lo anterior, queda claro que todas las características del suelo están fuertemente relacionadas y dependen una de otra, de forma que cualquier cambio significativo en alguna de estas se reflejará en las otras. Por este motivo, se hace necesaria la medición de los tres tipos de indicadores para determinar la calidad del suelo, puesto que solo de esta manera se obtendrá una estimación cercana a la situación real.

Por último, cabe mencionar que la calidad del suelo, gracias a la información que ofrece, puede ser utilizada como un estimador del grado de perturbación o de recuperación de un ecosistema restaurado, cuando este es comparado con un ecosistema de referencia. Por consiguiente, según Andersen y colaboradores (2006), es probable que después de que un lugar ha pasado por un proceso de restauración a partir de un cambio en la cobertura vegetal, pueden ser observados cambios en las condiciones físicas y químicas del suelo y por tanto, en la abundancia y actividad microbiana (o viceversa).

### **3.5. Grupos funcionales involucrados en la degradación de materia orgánica**

Uno de los principales reservorios de nutrientes y energía que puede tener un ecosistema es la materia orgánica, por lo que contribuye directamente al crecimiento de plantas y comunidades microbianas, teniendo un efecto notorio en las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. La existencia de materia orgánica se debe principalmente a la producción primaria de las plantas y en

menor proporción, a la acumulación de restos y desechos animales y microbianos (Pozuelo, 1991).

La hojarasca, las ramas, los materiales radicales y demás productos de la producción primaria de las plantas están principalmente compuestos por un 15-60% de celulosa, 5-30% de lignina, 10-30% de hemicelulosa y un 2-15% de proteína (Paul, 2007). Para mineralizar estos compuestos orgánicos tan complejos generalmente se hace necesaria la acción conjunta de diversos microorganismos con actividades enzimáticas que catalizan reacciones diferentes, puesto que muy pocos poseen la capacidad metabólica para degradarlos completamente por sí solos. De esta manera, en la naturaleza existen diferentes tipos de microorganismos que se han especializado en la degradación de un tipo especial de sustrato, por lo que se agrupan en una categoría biológica compuesta por organismos que presentan una función similar en un ecosistema, un grupo funcional (Brussaard, 1998).

En los ecosistemas terrestres se pueden encontrar diversos grupos funcionales que intervienen en diferentes pasos de la mineralización de la materia orgánica. Por ejemplo, los organismos celulolíticos son de gran importancia puesto que la celulosa es el compuesto que se encuentra en mayor proporción. Su descomposición está catalizada por el complejo enzimático celulasa, el cual está presente en un gran número de bacterias pertenecientes a este grupo funcional, como es el caso de especies del género *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* y *Clostridium*, y en los hongos (Paul, 2007). En cuanto a la degradación de la hemicelulosa, un polisacárido compuesto por combinaciones de pentosas, hexosas y ácidos urónicos, esta es llevada a cabo por diversas poblaciones de hongos y bacterias, como los actinomicetos y miembros del género *Bacillus*. Seguida de la acción de estos organismos hemicelulolíticos ocurre una rápida asimilación y oxidación de monómeros simples, como la glucosa (Atlas y Bartha, 2006). Otro polímero casi tan abundante como la celulosa y la hemicelulosa corresponde a la lignina. Debido a la alta complejidad de la estructura de este compuesto su degradación es realizada principalmente por hongos como los basidiomicetos, sin embargo, géneros de bacterias como *Arthrobacter*, *Flavobacterium*, *Micrococcus* y *Pseudomonas* también participan en este proceso. Una vez se ha llevado a cabo la depolimerización de la lignina se producen gran variedad de fenoles, ácidos aromáticos y alcoholes aromáticos que pueden ser mineralizados a CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O por otro tipo de bacterias (Atlas y Bartha, 2006). Por su parte, la pectina, un importante componente de la pared celular de las plantas compuesto por unidades de ácido galacturónico, es degradado por especializadas bacterias pectinolíticas como lo son especies del género *Arthrobacter* y *Streptomyces*, mediante la pectina depolimerasa. El resultado de esta degradación permite que un rango más amplio de microorganismos heterotróficos utilicen la enzima ácido galacturónico oxidasa para obtener energía a partir del rompimiento de esta molécula (Paul, 2007).

Además de los anteriores polímeros, las proteínas también forman parte importante de la materia orgánica, no solo como componente de restos vegetales sino también animales. Estas son descompuestas en péptidos y/o aminoácidos mediante un proceso de hidrólisis llevado a cabo por proteinasas y péptidasas, enzimas presentes en microorganismos especializados que se encuentran en el grupo funcional denominado microorganismos proteolíticos, entre los cuales se encuentran miembros de bacterias formadoras de endosporas y del género *Bacillus* y *Clostridium* (Atlas y Bartha, 2006). La cantidad de proteínas disponibles para degradación es de gran importancia, puesto que estas representan una excelente fuente de energía y carbono y son la principal fuente de nitrógeno para la mayoría de los microorganismos.

Así como existe una amplia variedad de grupos funcionales involucrados en la degradación de las fuentes de carbono contenidas en la materia orgánica, también se encuentran en la naturaleza grupos funcionales que se encargan de la transformación y degradación de compuestos orgánicos e inorgánicos que hacen parte de los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno, fósforo, azufre, hierro, entre otros, que permiten la recirculación de la materia orgánica y la disponibilidad de diferentes elementos esenciales para el crecimiento y desarrollo de diferentes organismos.

### **3.6. Perfil fisiológico a nivel de comunidad y ecoplacas Biolog™**

Las comunidades microbianas presentes en el suelo de un determinado ecosistema tienen el potencial de mostrar cambios tanto espaciales como temporales (Garland, 1997). Por esta razón uno de los principales objetivos para entender la dinámica microbiana ha sido encontrar un método que permita caracterizar dichas comunidades. Para lograrlo se empezaron a utilizar técnicas de cultivo en placa, sin embargo, estas requieren de mucho tiempo para el procesamiento y análisis de las muestras. Posteriormente se comenzaron a utilizar métodos moleculares, y aunque son bastante populares, muchas veces resultan costosos e igualmente se necesita de una gran inversión de tiempo para la estandarización y aplicación de la metodología. A raíz de esto, muchos investigadores optaron por recurrir a un nuevo enfoque que permite la caracterización de una comunidad microbiana de una manera más rentable y rápida, el perfil fisiológico a nivel de comunidad (CLPP, por sus siglas en inglés). Esta técnica implica un análisis a nivel de comunidad de patrones de utilización de fuentes de carbono por parte microorganismos extraídos de una muestra natural (Chazarenc *et al.*, 2010).

Para obtener el perfil fisiológico de una comunidad microbiana presente en el suelo de un ecosistema en particular, Biolog™ diseñó unas microplacas, denominadas ecoplacas, que cuentan con 31 diferentes fuentes de carbono por triplicado, clasificadas en carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminoácidos, polímeros, fenoles y aminas (Tabla 1) (Chazarenc *et al.*, 2010). Adicionalmente

cada pozo contiene una concentración del colorante cloruro de tetrazolio que permite evidenciar la utilización del sustrato mediante el desarrollo de color púrpura, el cual se obtiene después de una reacción de oxido-reducción con el NADH producido por los microorganismos como intermediario metabólico durante la degradación del sustrato (Zamora *et al.*, 2012). Posterior a la inoculación de los microorganismos en las microplacas y del periodo de incubación establecido, se obtiene un patrón de utilización de los sustratos y la identidad de los grupos funcionales presentes, dependiendo de la capacidad metabólica que estos posean en su medio natural para degradar las fuentes de carbono evaluadas. Finalmente, el patrón resultante puede ser utilizado para diferenciar entre tipos de suelo, puesto que los diferentes usos y el nivel de perturbación de los mismos determinan en gran parte la composición nutricional presente y por tanto, la diversidad funcional de microorganismos que se puede encontrar (Torsvik y Ovreas, 2002).

**Tabla 1. Identidad de las fuentes de carbono encontradas en las ecoplacas**

<b>Carbohidratos</b>	<b>Ácidos carboxílicos</b>	<b>Aminoácidos</b>	<b>Polímeros</b>	<b>Aminas</b>	<b>Fenoles</b>
Metil-β-D-Glucósido	Ácido pirúvico metil éster	L-Arginina	Tween 40	Feniletil-amina	Ácido-2-hidroxibenzoico
D-Xilosa	Ácido-D-Galacturónico	L-Asparagina	Tween 80	Putrescina	Ácido-4-hidroxibenzoico
i-Eritritol	Ácido-γ-Hidroxibutírico	L-Fenilalanina	α-Ciclodextrina		
Ácido D-Galactónico	Ácido itacónico	L-Serina	Glucógeno		
D-Manitol	Ácido-α-Cetobutírico	L-Treonina			
N-Acetil-D-Glucosamina	Ácido-D-Málico	Glicil-L-Ácido glutámico			
Glucosa-1-Fosfato	Ácido-D-Glucosaminico				
D-L-Glicerol Fosfato					
D-Celobiosa					
α-D-Lactosa					

A pesar de todas las ventajas que trae la determinación del perfil fisiológico a nivel de comunidad mediante la utilización de las ecoplacas, se debe tener en cuenta que esta técnica sigue siendo en esencia un método de cultivo, por lo que los microorganismos que no tengan la capacidad de crecer en un medio de cultivo no serán tenidos en cuenta. De esta manera, se estima que solo el 1 % de la diversidad microbiana total que se encuentra en un suelo puede ser determinada mediante este tipo de técnicas (Rolf, 2005). Además, estas ecoplacas presentan la limitación de que fueron diseñadas para la caracterización únicamente de grupos bacterianos, puesto que los hongos no pueden metabolizar el colorante presente

en estos dispositivos (Preston-Mafham, 2002). Sin embargo, muchos investigadores han reconocido esta técnica como una herramienta útil para comparar comunidades bacterianas de diferentes tipos suelos y que permite tener una visión global de la diversidad funcional encontrada en el suelo de un ecosistema en particular (García 2013).

### **3.8. Modelos de Diseño experimental**

Todo diseño experimental se representa mediante un modelo lineal que permita explorar con eficacia y eficiencia la relación causa-efecto entre numerosas variables del proceso (factores) y las variables respuesta Y (Kuelh, 2001). En esta sección se presentan dos modelos de diseño experimental que enmarcan el estudio realizado.

#### **3.8.1. Análisis de varianza para un diseño unifactorial completamente aleatorizado desbalanceado (ANOVA)**

El Análisis de Varianza (ANOVA) es un análisis de la variación de las medias, este se logra mediante la descomposición de la variabilidad total de los datos. Con esta técnica se puede evaluar un solo factor con  $k$  tratamientos o niveles del factor y la variable respuesta puede depender de la influencia de un único factor, de forma que el resto de las causas de variación se engloban en el error experimental (Kuelh, 2001).

##### **a) Ventajas**

- Flexibilidad y precisión: cualquier número de tratamientos y cualquier número de réplicas pueden ser usadas, siempre y cuando se tengan suficientes unidades experimentales homogéneas.
- Análisis estadístico simple: puede realizarse cuando todos los tratamientos tengan igual número de réplicas (balanceado) o diferente número de réplicas (desbalanceado).

##### **b) Desventajas**

Se puede obtener baja precisión cuando las unidades experimentales no son muy homogéneas.

##### **c) Pruebas de hipótesis**

Con este modelo se plantea las siguientes hipótesis:

- $H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_i$  Las medias de los tratamientos son iguales
- $H_1 : \tau_i \neq 0$  Al menos una de las medias de los tratamientos es diferente

**d) Criterio de decisión:**

- Si  $F_c > F(\alpha, v_1, v_2)$  se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ .
- La distribución  $F$  se basa en  $v_1 = t - 1$  y  $v_2 = n - t$  grados de libertad.
- Si el nivel de significancia observado a partir de los datos ( $Pr > F$ ) es menor que el valor  $\alpha$ , rechaza la hipótesis nula.

Donde:

$FC$ : La distribución  $F$  es el estadístico de prueba para probar la hipótesis

$t$ : Número de tratamiento

$r_i$ : Número de replicas por tratamiento

$n$ : Total de muestras =  $r_i * t$

**e) Interpretación de resultados**

Si se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ), y si se tiene más de dos niveles en el factor tratamiento, es necesario realizar una prueba *post-anova* para determinar entre que tratamientos existe dicha diferencia.

**f) Prueba robusta de Welch para modelos con heterocedasticidad o varianzas poblacionales desiguales**

La corrección de Welch fue diseñada para proporcionar un t-test válido en presencia de varianzas poblacionales desiguales ( $\sigma_1^2 \neq \sigma_2^2$ ), introduciendo una modificación en los grados de libertad de la distribución t de Student. Así, se considera el estadístico que se compara con una distribución t de Student,  $t_{\frac{\alpha}{2}, v}$  donde  $v$  son los grados de libertad aproximados (Scherrer, 1984).

**3.8.2. Análisis de varianza no paramétrico: Kruskal-Wallis para diseños completamente aleatorizados**

Esta prueba fue propuesta por William Henry Kruskal y W. Allen Wallis. La prueba de Kruskal-Wallis es la alternativa no paramétrica al análisis de la prueba F de varianza para un diseño completamente aleatorizado. Su estadístico de prueba es  $H$ , el cual permite rechazar  $H_0$  cuando este excede el valor de  $\chi_\alpha^2$  (Kuehl, 2001).

**a) Supuestos del modelo**

1. Requiere que las mediciones de las variables en estudio se encuentre, al menos, en escala ordinal.
2. No se distribuyen normalmente, no hay homogeneidad en las varianzas y no hay independencia de los errores.

3. Los sujetos sean seleccionados aleatoriamente.

### **b) Pruebas de hipótesis**

Con esta prueba se plantea las siguientes hipótesis:

- $H_0$ : Las  $k$  medianas de los niveles del factor son todas iguales.
- $H_1$ : Al menos un par de medianas de los niveles del factor es diferente.

### **3.8.3. Comparaciones múltiples**

Al ejecutar un modelo de diseño experimental y probar las hipótesis globales mediante la prueba F es posible que se presenten algunas de las siguientes situaciones:

- No rechazar  $H_0$
- Rechazar  $H_0$ . En este caso el investigador desearía conocer cuáles tratamientos son diferentes y cuáles de ellos se comportan de igual manera, pero la prueba F no permite resolver esto porque solamente informa de una manera global que existe diferencia entre todos ellos.

Uno de los métodos para realizar comparaciones múltiples en los cuales se forman grupos de niveles de tratamientos que no difieren dentro del grupo pero sí entre los grupos, es la Prueba de Tukey (diseños balanceados) y Prueba de Tukey-Kramer (diseños desbalanceados) (Kuelh, 2001).

#### **Método de Tukey-Kramer**

Esta prueba es considerada una de las más robustas con respecto a desviaciones de las suposiciones del ANOVA. Utiliza la distribución del rango estudentizado para fijar el valor crítico con el cual se comparan las diferencias entre las medias. Sea el conjunto de medias  $\bar{y}_1, \bar{y}_2, \dots, \bar{y}_k$  con distribución normal y  $s(\bar{y}_j)$  un estimador de la desviación estándar de  $\bar{y}_j$  (Tukey, 1949):

$$q(k, v) = \left( \frac{\text{máx } \bar{y}_j - \text{mín } \bar{y}_j}{s(\bar{y}_j)} \right) \quad (2)$$

El cociente se llama rango estudentizado ( $q$ ) y su distribución se encuentra tabulada para valores de  $k$ ,  $\alpha$  y  $v$  donde  $v$  son los grados de libertad. En el caso de un diseño desbalanceado, es decir, con diferentes  $r_j$  o replicas por tratamiento, la prueba modificada Tukey-Kramer es la siguiente:

$$DHS = q(k, v) \sqrt{\frac{MSE}{2} \left( \frac{1}{r_i} + \frac{1}{r_j} \right)} \quad (3)$$

El grado de desbalance se mide mediante el cociente  $u = \text{máx } r_j / \text{mín } r_j$ . Según Spjøtvoll y Stolone (1973) se prefiere esta técnica para  $k \geq 15$  con cualquier  $u$ ;  $6 \leq k < 15$  cuando  $u \leq 2$  y para  $k < 6$  cuando  $u \leq 1,2$ .

Para este estudio se tiene que  $k = 6$  y  $u = \frac{3}{2} = 1,5$  entonces el resultado se encuentra entre el rango de  $6 \leq k < 15$  y un valor de  $u \leq 2$ , por tanto se prefiere el método de *Tukey-Kramer* para las comparaciones (Díaz, 2009).

- **Intervalos de confianza simultáneos de  $100(1 - \alpha)$  %.**

Las estimaciones de los intervalos simultáneos de dos lados para el valor absoluto de todas las diferencias por pares  $\mu_i - \mu_j$  para toda  $i < j$  son:

$$|\bar{y}_i - \bar{y}_j| \pm DSH q(k, v)$$

- **Prueba de desigualdades  $100(1 - \alpha)$  %.**

Se establece que dos medias de tratamientos no son iguales,  $\mu_i - \mu_j \neq 0$ , si:

$$|\bar{y}_i - \bar{y}_j| > DSH q(k, v)$$



## **4. OBJETIVOS**

### **4.1. Objetivo general**

Evaluar la eficacia de la estrategia de restauración realizada en el corredor Barbas-Bremen (Filandia-Quindío) mediante la determinación y comparación de indicadores de la calidad del suelo de los corredores biológicos, bosques maduros y potrero.

### **4.2. Objetivos específicos**

- Identificar dentro de los parámetros químicos y microbiológicos evaluados, aquellos que permitan determinar de forma precisa la calidad del suelo en las zonas objeto de estudio.
- Evaluar la relación existente entre las características químicas y las características microbiológicas.
- Determinar, de acuerdo a las características químicas y microbiológicas evaluadas, si el suelo de las zonas restauradas presenta mayor similitud con el suelo de un bosque maduro o con el de un potrero.

## 5. METODOLOGÍA

### 5.1. Caracterización del sitio de estudio

La cuenca media del río Barbas es un paisaje rural ganadero ubicado en la vertiente occidental de la cordillera central de los Andes ( $75^{\circ}39'38''\text{W}/4^{\circ}42'47''\text{N}$  y  $75^{\circ}35'42''\text{W}/4^{\circ}40'48''\text{N}$ ), entre los 1500 y 2200 msnm, bajo la jurisdicción del municipio de Filandia-Quindío. Dentro de este paisaje se encuentran la Reserva Forestal de Bremen y el Cañón del Río Barbas, dos parches de bosque andino que juntos suman una extensión aproximada de 1600 ha (Gil & Herrera, 2012). Esta zona cuenta con una temperatura media de  $18^{\circ}\text{C}$  y precipitaciones anuales que varían entre los 2000 y 4000 mm (CRQ, 2006). En cuanto a su flora y fauna, se ha estimado que entre ambos bosques se pueden encontrar 95 especies de hormigas, 409 especies de árboles y arbustos, 199 especies de aves, 54 especies de mamíferos y tres especies de reptiles (Vargas, 2010). Aunque estos dos parches de bosque han sufrido un proceso de fragmentación, cuentan con cinco corredores biológicos que se han implementado con el fin de conectarlos: corredor Los Monos, corredor Los Laureles, corredor Los Colibríes, corredor Las Pavas y corredor Bengala (figura 1). Cabe resaltar que si bien la estrategia de restauración de estos corredores comenzó a implementarse en el 2004, en el caso de Colibríes y Laureles esta inició en el año 2007.

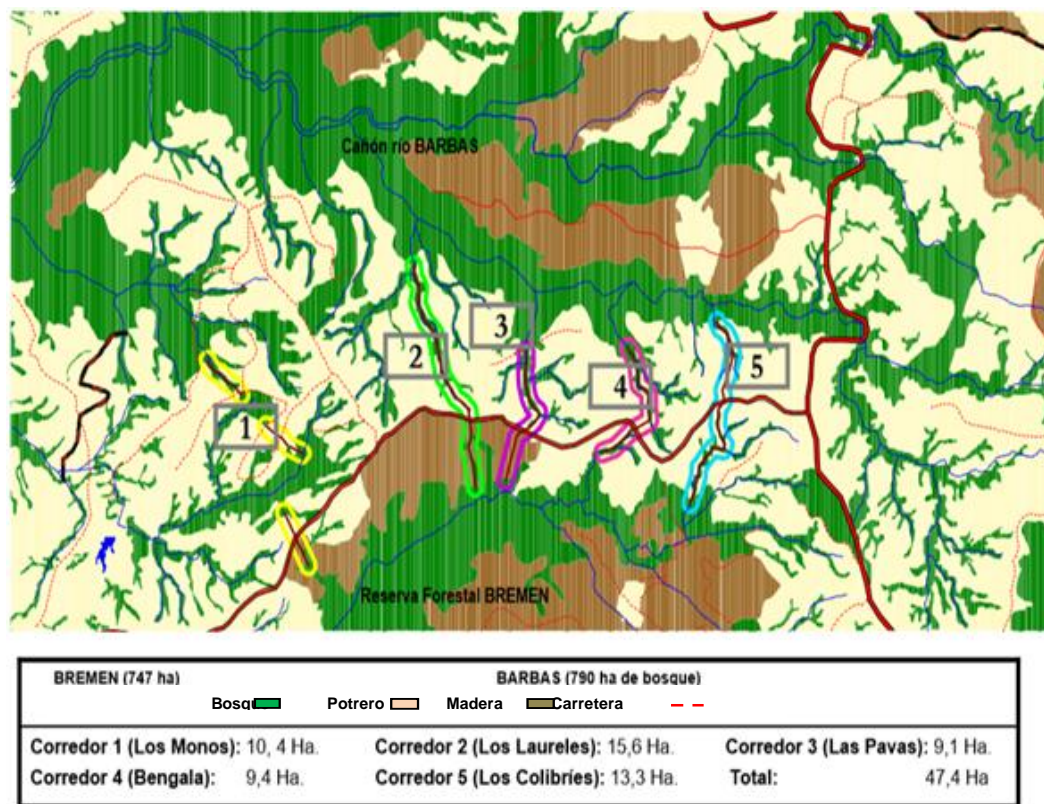


Figura 1. Mapa que muestra la conexión que realizan los cinco corredores biológicos entre la Reserva Forestal de Bremen y el Cañón del Río Barbas. Adaptado de: Delgado, (2012).

El material de origen de los suelos de la cuenca media del río Barbas es cenizas volcánicas y rocas metamórficas, estando relacionadas con erupciones de volcanes como el Ruiz. Se han clasificados como suelos ligeramente ácidos, con alto contenido de materia orgánica, pobres en bases y resistentes a la erosión (Bernal, 1986). En esta zona se han determinado diferentes tipos de usos del suelo y cobertura vegetal, como lo son las áreas para pastoreo, cultivos de café, bosques plantados con eucalipto y pino, áreas cubiertas de guadua y bosques naturales (CRQ, 2006).

## **5.2. Diseño experimental**

Se realizó un diseño experimental unifactorial totalmente aleatorizado para evaluar la efectividad de la estrategia de restauración realizada en los corredores biológicos ubicados en el corredor Barbas-Bremen, Filandia-Quindío. Para esto se definieron las características a medir, los componentes del diseño experimental y el modelo de diseño experimental.

### **5.2.1. Muestreo y unidad experimental**

Se realizó un muestreo de suelo en tres de los cinco corredores biológicos nombrados: corredor Los Monos, corredor Las Pavas y corredor Los Colibríes. Además se muestreó el suelo de un potrero al lado del corredor Los Monos, el cual será utilizado como referente negativo; como ecosistema de referencia hacia el cual se espera que las condiciones de los corredores se asemejen, se muestreó el suelo de los bosques maduros de Barbas y Bremen.

El muestreo se realizó tomando muestras de un kilogramo compuestas por 10 submuestras debidamente homogeneizadas, estas últimas se tomaron en forma de zig-zag cada cinco metros. Para la recolección de cada submuestra de suelo se removió la hojarasca del lugar en donde se realizaría el hueco con una profundidad de 10 cm. Posterior a esto se procedió al almacenamiento del suelo recolectado perteneciente a cada submuestra en un recipiente para su homogenización. Se tomaron para análisis y como unidad experimental tres muestras compuestas del suelo de cada corredor, para los bosques y el potrero dos muestras compuestas.

Después de obtener las muestras compuestas, el manejo posterior de estas se realizará teniendo en cuenta lo indicado en la NTC 4113-6 (1997), la cual es una guía para la recolección, manejo y almacenamiento de suelo para la evaluación de procesos microbianos aeróbicos en laboratorio.

### 5.2.2. Factor y niveles

En este experimento se tiene un factor de análisis denominado *suelo de los distintos lugares*, cuyos niveles son seis: i) Bosque Barbas, ii) Bosque Bremen, iii) Corredor Monos, iv) Corredor Colibríes, v) Corredor Pavas y vi) Potrero.

### 5.2.3. Tratamiento

Al tener sólo un factor y seis niveles, entonces se obtuvieron  $1 \times 6 = 6$  tratamientos, donde para el bosque Barbas, bosque Bremen y potrero se contó con dos réplicas, mientras que para los corredores Monos, Colibríes y Pavas tres réplicas. Por tanto el número de unidades experimentales fue de 15. Los tratamientos se observan a continuación en la Tabla 2.

Tabla 2. Tratamientos del experimento

Tratamiento	No. de sesiones experimentales		
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3
Bosque Barbas	1	2	
Bosque Bremen	3	4	
Corredor monos	5	6	7
Corredor colibríes	8	9	10
Corredor pavas	11	12	13
Potrero	14	15	

### 5.2.4. Análisis físico y químico de las muestras de suelo

Se enviaron al laboratorio de análisis de suelo del ingenio Riopaila Castilla cada muestra de suelo perteneciente a los corredores biológicos, a los bosques y al potrero para el análisis de sus características físicas y químicas.

La característica física determinada corresponde a la textura. En cuanto a las características químicas, se determinaron el pH, la cantidad de materia orgánica, la capacidad de intercambio catiónico, la concentración de fósforo, aluminio, potasio y de elementos menores como el magnesio, calcio, cobre, hierro, zinc y manganeso.

Sin embargo, para análisis solo se tendrán en cuenta las variables pH, cantidad de materia orgánica (MO), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y concentración de aluminio. En la sección de anexos (ver anexo 1) se puede encontrar la definición de cada una de estas variables junto con su interpretación e importancia en el ecosistema. Además se presenta la tabla que contiene los valores de todas las características (físicas y químicas) que se determinaron (ver anexo 5).

## 5.2.5. Análisis microbiológico de las muestras de suelo

### a) *Actividad microbiana*

La determinación de la actividad microbiana se realizó por medio de una técnica respirométrica que consta de la medición del CO<sub>2</sub> producido por el metabolismo de los microorganismos después de ocurrida la oxidación de la materia orgánica, mediante su secuestro en una trampa de alcalí (NaOH) en forma de carbonatos (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>). Así, la cantidad de CO<sub>2</sub> desprendido será equivalente a la actividad microbiana.

La determinación de la emisión de CO<sub>2</sub> o respiración basal del suelo se realizó siguiendo la metodología descrita por Zhong y colaboradores (2009). De esta manera, se incubaron por 10 días 30 g de suelo de cada una de las muestras en un erlenmeyer, el cual se conectó a un recipiente con 10 mL de NaOH al 1 M (ver anexo 2). El CO<sub>2</sub> capturado en la solución de NaOH fue titulado en los días 2, 5 y 10 del periodo de incubación. Para esto, a dicha solución se le añadieron 2 mL de BaCl<sub>2</sub> al 2% para precipitar los carbonatos (CO<sub>3</sub><sup>2-</sup>) formados por la reacción del NaOH con el CO<sub>2</sub>, para que así pudiera ser titulado el exceso de hidróxido con HCl 0.5 M en presencia de fenolftaleína, la cual actuó como indicador del punto final de la titulación. Finalmente, la cantidad de CO<sub>2</sub> secuestrada por el NaOH se determinó mediante la diferencia entre el NaOH inicial y la cantidad remanente después de la reacción con el gas.

Las siguientes ecuaciones reflejan los procesos ocurridos:

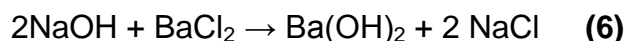
#### 1. Reacción del NaOH con el CO<sub>2</sub>



#### 2. Adición del BaCl<sub>2</sub> para precipitar carbonatos



#### 3. Reacción del NaOH en exceso (que no reacciona con el CO<sub>2</sub>) con el BaCl<sub>2</sub>



#### 4. Al momento de titular



## **b) Biomasa microbiana**

La biomasa microbiana, entendida como la cantidad de células por gramo de suelo, se determinó por medio del conteo directo en placa utilizando tinción fluorescente con el colorante 4',6-diamidino-2-phenylindole (DAPI), el cual se une preferiblemente al ADN y emite una fluorescencia azul cuando es excitado con luz a una longitud de onda de 365 nm (Yu *et al.*, 1995). Cabe resaltar que mediante este procedimiento únicamente se hará referencia a la biomasa bacteriana, puesto que los demás microorganismos como hongos, algas y protozoos no pudieron ser contabilizados con esta técnica.

Para lograr la extracción o separación de microorganismos de cada muestra de suelo se siguió el tratamiento tres descrito en la metodología utilizada por Latorre (2007). De esta manera, se diluyeron 5 g de cada muestra de suelo en 45 mL de solución salina al 0.85 % y posteriormente dicha dilución se sometió a agitación a 160 rpm por 15 minutos. Finalmente se realizaron diluciones base 10 hasta llegar a la dilución  $10^{-2}$ , la cual fue utilizada para la posterior tinción de las células y su conteo. Para esto último se siguió la metodología utilizada por Belalcázar (2013), en donde una alícuota de 250  $\mu$ L de la dilución seleccionada que resultó de cada muestra de suelo se tiñó con 20  $\mu$ l de DAPI (1.25  $\mu$ L) por 15 minutos. Seguidamente, se filtró al vacío la muestra con DAPI utilizando una membrana de celulosa. Finalmente, se eliminó con agua destilada el exceso de colorante presente en la membrana y esta se dispuso en un portaobjetos para ser visualizada en el microscopio de fluorescencia

La determinación del número de células presentes en la muestra se realizó utilizando la siguiente fórmula:

$$TCC = \frac{(MTCC)(CM)(FD)}{V_m} \quad (8)$$

Donde:

TCC= Total de células contadas (células.  $g^{-1}$  suelo)

MTCC= Promedio de células contadas

CM= Campos microscópicos existentes en el segmento analizado

FD: Factor de dilución

$V_m$ : Volumen o gramos de muestra analizados

## **b) Diversidad funcional con ecoplacas *Biolog*<sup>TM</sup>**

Para proceder a la determinación de la diversidad funcional con las ecoplacas, se extrajeron los microorganismos de las muestras de suelo como se indicó en la sección de biomasa microbiana, y la inoculación y lectura de las ecoplacas se realizó según lo indicado en la metodología de Calbrix y colaboradores (2005).

Con el fin de resumir los datos obtenidos en la lectura de las ecoplacas se calcularon tres indicadores que expresan la capacidad funcional de los microorganismos en los lugares estudiados, los cuales se definen a continuación:

- *Desarrollo promedio de color púrpura por pozo (AWCD, por sus siglas en inglés)*: se utilizó como indicador de la respuesta microbiana hacia la degradación de sustratos presentes en cada microplaca. Para determinarlo se utilizó la siguiente fórmula:

$$AWCD = OD_i/31 \quad (9)$$

Donde  $OD_i$  es el valor de densidad óptica o absorbancia obtenido en cada pozo.

- *Riqueza (R)*: este valor se obtuvo a partir del conteo del número de sustratos degradados, es decir se contaron solo los pozos en donde se evidenció color púrpura.
- *Índice de Shannon (H)*: es un índice de biodiversidad que en este caso utiliza los valores de absorbancia obtenidos en cada pozo después de la degradación de los sustratos, para hacer referencia a la diversidad funcional encontrada en el suelo de los lugares de interés. Para calcularlo se utilizó la siguiente fórmula:

$$H = -\sum p_i (\ln p_i) \quad (10)$$

Donde  $p_i = OD_i / \sum OD_i$  (11), es decir, es la proporción de la degradación del sustrato  $i$  en la degradación total causada por los microorganismos.

Para calcular los valores de riqueza e índice de Shannon se tomaron en cuenta solo los pozos que presentaron una absorbancia mayor o igual a 0.25, esto con el fin de evitar falsos positivos (Frac *et al.*, 2012).

### 5.3. Análisis estadístico

El análisis estadístico se estratificó por grupo de características químicas y microbiológicas en cada una de las etapas:

#### 5.3.1. Etapa 1: Análisis descriptivo de características químicas y microbiológicas

Para la descripción de las características químicas (pH, MO, CIC y AI) y microbiológicas (actividad microbiana, abundancia microbiana, índice de Shannon, AWCD y riqueza) y con el fin de observar un patrón de similitud respecto a estas

variables entre los lugares evaluados, se realizó para cada variable, a nivel general y según el lugar de suelo, las gráficas de barras con errores estándar ( $\bar{x} \pm sd$ ), las cuales muestran como medida de tendencia central el promedio y como medida de dispersión la desviación estándar y el coeficiente de variación

### 5.3.2. Etapa 2: Análisis de correlaciones entre características químicas y microbiológicas

Se realizó la estimación y visualización gráfica de la matriz de correlaciones para las características químicas y microbiológicas, con el objetivo de evaluar el grado de relación entre estas.

#### a) Contraste de hipótesis:

Las hipótesis a contrastar son:

$$H_0: \rho_{XY} = 0 \quad \forall X \neq Y \quad \text{No existe correlación entre un par de variables}$$

$$H_1: \rho_{XY} \neq 0 \quad \text{Existe algún grado de correlación entre las dos variables}$$

#### b) Criterio de decisión:

El coeficiente de correlación puede tomar valores entre -1 y 1, donde una correlación igual a cero (0) indica que no existe relación entre un par de variables (Goviden, 1985). Para decidir cuándo se debe rechazar o no la hipótesis nula planteada y analizar los valores generados en la matriz de correlaciones se consideraron los criterios de la Tabla 3. Además de esto, se obtuvo la significancia de la correlación.

Tabla 3. Interpretación de correlaciones de Pearson

Rango de valor absoluto de coeficiente de correlación	Interpretación
0.8 y 1.0	Correlación muy fuerte
0.6 y 0.79	Correlación fuerte
0.4 y 0.59	Correlación moderada
0.2 y 0.39	Correlación débil
0.0 y 0.29	Correlación muy débil

### 5.3.3. Etapa 3: Evaluación de modelo de diseño experimental para las características químicas y microbiológicas

Para evaluar la existencia de diferencias significativas entre los suelos de los diferentes lugares en cuanto a las características químicas y microbiológicas, se propusieron dos modelos que contemplan los diferentes comportamientos que pueden tomar los datos disponibles: i) Modelo A. ANOVA y ii) Modelo B. Kruskal Wallis.



Una vez se seleccionó el modelo adecuado para el conjunto de datos la metodología que se siguió fue: i) Especificar el modelo, ii) Realizar el diagnóstico del modelo mediante el análisis de los residuos, para comprobar si las hipótesis del modelo pueden ser válidas, iii) Estimar los parámetros del modelo, iv) Contrastar si el factor suelo de los diferentes lugares influye en las variables respuesta, es decir, si los valores promedios de las diferentes características químicas y microbiológicas son diferentes al cambiar el nivel del factor, y v) Buscar las diferencias entre los niveles del factor suelo de los diferentes lugares cuando se encuentre que el factor influye en la variable respuesta, es decir, que los promedios no sean iguales.

#### **a) Modelo A. Análisis de Varianza de variables dependientes**

Como primera opción se propuso evaluar el efecto del suelo de los diferentes lugares mediante un ANOVA para un diseño unifactorial de efectos fijos aleatorizado con tamaño de replicas desiguales para cada una de las variables dependientes, con el fin de contrastar si existen diferencias significativas entre los diferentes lugares para cada una de las características químicas o microbiológicas, según sea el caso.

#### **Especificación del modelo**

A continuación se define el modelo general del diseño experimental que permite evaluar el efecto del suelo de los diferentes lugares sobre cada una las variables microbiológicas y/o químicas. Esta estructura corresponde a un diseño factorial con un factor y se expresa de la siguiente forma (Kuelh, 2001):

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \quad (12)$$

Donde:

$i = 1,2,3,4,5,6$  (tratamientos)

$j = r_1:2 \ r_2:2 \ r_3:3 \ r_4:3 \ r_5:3 \ r_6:2$  (replicas)

$Y_{ij}$ : Característica microbiológica o química del  $i$ -ésimo lugar de suelo en la  $j$ -ésima réplica.

$\mu$ : Promedio general de la característica microbiológica o química sin tener en cuenta el lugar de suelo.

$\tau_i$ : Efecto debido al  $i$ -ésimo lugar de suelo sobre la característica microbiológica o química.

$\varepsilon_{ij}$ : Error aleatorio debido al  $i$ -ésimo lugar de suelo en la  $j$ -ésima réplica.

- Supuestos del modelo

La validez de las estimaciones y pruebas de hipótesis para los análisis derivados del modelo lineal se apoya en los valores de varias suposiciones clave. Se supone que los errores experimentales aleatorios son independientes, siguen una distribución normal con una media igual a cero y tienen una varianza común ( $\sigma^2$ ) para todos los grupos de tratamiento (Díaz, 2009). Cualquier discrepancia entre los datos y una o más de estas suposiciones afecta las estimaciones de las medias de tratamiento y las pruebas de significancia del análisis de varianza. Para contrastar estos supuestos se realizaron las pruebas teóricas: de normalidad Shapiro Wilk y de homogeneidad de varianzas de Levene. Para la evaluación de los supuestos se estableció un nivel de significancia de 0.05. En los casos en que no se cumplió con el supuesto de normalidad se descartó la aplicación del ANOVA de variables dependientes y se revisó el siguiente modelo propuesto (Kruskall Wallis), de lo contrario se continuó con el contraste de hipótesis.

- Corrección de Welch

En los casos en que se evidenció heterocedasticidad en un modelo se aplicó el ANOVA con la corrección de Welch, en donde se asume que las varianzas de los grupos no son iguales, para así obtener valores p más precisos y continuar con el contraste de hipótesis (Scherrer, 1984).

- Contraste de hipótesis

Para los análisis de varianza de cada variable dependiente en estudio, se establecieron las siguientes hipótesis a contrastar con un nivel de significancia de 0.05:

$$H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_6 \text{ Las medias de los suelos de los diferentes lugares son iguales}$$
$$H_1 : \tau_i \neq 0, \exists i \text{ Al menos un par de medias de los suelos de los diferentes lugares es diferente}$$

**b) Modelo C. Análisis de varianza no paramétrico: Kruskall Wallis**

Cuando no se cumplió el supuesto de normalidad, se planteó probar si existen diferencias significativas entre las medianas de los suelos de los diferentes lugares para cada una de las características químicas y microbiológicas, mediante el análisis de varianza no paramétrico Kruskall Wallis.

- Contraste de hipótesis

Para los análisis de varianza de cada variable dependiente en estudio, se establecieron las siguientes hipótesis a contrastar con un nivel de significancia de 0.05:

$H_0 : \tau_1 = \tau_2 = \dots = \tau_6$  *Las medianas de los suelos de los diferentes lugares son iguales*

$H_1 : \tau_i \neq \tau_j, \exists i, j$  *Al menos un par de las medianas de los suelos de los diferentes lugares es diferente*

#### **5.3.4. Comparaciones múltiples**

Al finalizar la evaluación de cada modelo se identificó entre que niveles del factor evaluado se presentaron diferencias a un nivel de significancia de 0.05 mediante la corrección de Tukey-Kramer.

#### **5.3.5. Software estadístico**

Para realizar el análisis estadístico de los datos se utilizó el software estadístico R Core Team versión 3.1.1 (2014-07-10)

## 6. RESULTADOS

De todas las características químicas evaluadas que se especificaron en la sección de metodología, para análisis solo se tendrán en cuenta las variables pH, porcentaje de materia orgánica (MO), capacidad de intercambio catiónico (CIC) y concentración de aluminio, puesto que estas son las que según la literatura muestran una mayor relación e influencia con los componentes bióticos del suelo, y además, fueron las variables que según un análisis descriptivo previo permitían evidenciar algún tipo de patrón de similitud entre los lugares estudiados (ver anexo 3). Por otro lado, al ser la textura la única característica física evaluada y al ser esta la misma para todos los lugares estudiados, tampoco se tendrá en cuenta para análisis.

En la Tabla 4 se presenta el resumen de cada variable química y microbiológica según lo encontrado en el suelo de cada lugar estudiado.

**Tabla 4. Estadísticos resumen para las características químicas y microbiológicas según lugar de estudio**

Variable	Bosque Barbas	Bosque Bremen	Corredor Monos	Corredor Colibríes	Corredor Pavas	Potrero
<b>Promedio</b>						
pH	4.61	4.23	4.53	4.55	4.52	5.11
MO (%)	16.83	17.88	16.25	16.04	14.51	12.31
CIC (meq/100 g)	48.20	54.05	44.07	41.70	41.47	33.00
Al (meq/100 g)	2.47	2.71	1.77	1.35	1.48	0.71
Actividad (g CO <sub>2</sub> )	0.025	0.030	0.025	0.026	0.022	0.016
Abundancia (# células/g)	962550	668400	814333	1304367	630400	1823800
Índice de Shannon (H)	2.6794	2.9385	2.9653	3.0068	3.0306	3.0477
AWCD (absorbancia)	0.617	0.852	0.970	1.096	0.917	0.991
Riqueza (R)	18	22	22	23	24	24
<b>Desviación estándar</b>						
pH	0.071	0.007	0.138	0.131	0.141	0.205
MO (%)	0.404	1.214	1.132	1.815	0.903	0.405
CIC (meq/100 g)	1.414	6.152	2.205	1.572	0.551	3.960
Al (meq/100 g)	0.594	0.375	0.447	0.220	0.053	0.071
Actividad (g CO <sub>2</sub> )	0.0066	0.0044	0.0043	0.0029	0.0019	0.0003
Abundancia (# células/g)	44760	12728	89900	244193	108633	161220
Índice de Shannon (H)	0.131	0.0991	0.136	0.0744	0.0641	0.0674
AWCD (absorbancia)	0.0669	0.0254	0.238	0.244	0.101	0.0980
Riqueza (R)	2.828	1.414	3.215	2.0820	1.528	1.414
<b>Coefficiente de variación (%)</b>						
pH	1.53	0.17	3.05	2.87	3.12	4.02
MO	2.40	6.79	6.97	11.31	6.22	3.29
CIC	2.93	11.38	5.00	3.77	1.33	12.00
Al	24.05	13.85	25.23	16.30	3.58	9.96
Actividad	26.57	14.66	17.04	11.09	8.34	1.76
Abundancia	4.65	1.90	11.04	18.72	17.23	8.84
Índice de Shannon (H)	4.90	3.37	4.57	2.47	2.12	2.21
AWCD	10.84	2.99	24.49	22.26	10.96	9.88
Riqueza (R)	15.71	6.43	14.39	8.92	6.45	5.89

## 6.1. Análisis de correlaciones entre las características químicas y microbiológicas

En la Tabla 5 puede apreciarse que, en general, se encuentra que entre las características químicas existe una correlación que varía entre muy fuerte y fuerte, mientras que entre las microbiológicas la correlación varía entre muy fuerte, moderada y débil. Respecto a la relación que existe entre las características químicas y las microbiológicas, se observa que la concentración de aluminio presenta una fuerte correlación negativa con R, H y AWCD, por lo que altas concentraciones de aluminio pueden llevar a resultados bajos en estas otras tres variables. Se evidencia además una correlación positiva fuerte entre la capacidad de intercambio catiónico y la actividad microbiana, y entre el pH y la abundancia microbiana. Adicionalmente, se tiene que la actividad microbiana presenta una correlación positiva fuerte con la materia orgánica y una correlación negativa fuerte con el pH. La abundancia microbiana también presentó una correlación negativa fuerte con la capacidad de intercambio catiónico y moderada con la materia orgánica. En todos estos casos dicha correlación fue significativa puesto que se obtuvo un valor p menor o igual al nivel de significancia establecido (0,05).

**Tabla 5. Matriz de correlación para las variables medidas**

	pH	MO	CIC	Al	Actividad	Abundancia	R	H	AWCD
pH	1	-0,80 0,00 <sup>†</sup>	-0,72 0,00 <sup>†</sup>	-0,7 0,00 <sup>†</sup>	-0,63 0,01 <sup>†</sup>	0,76 0,00 <sup>†</sup>	0,29 0,10 <sup>†</sup>	0,25 0,14 <sup>†</sup>	0,21 0,16 <sup>†</sup>
MO	-0,80 0,00 <sup>†</sup>	1	0,83 0,00 <sup>†</sup>	0,8 0,00 <sup>†</sup>	0,68 0,00 <sup>†</sup>	-0,45 0,05 <sup>†</sup>	-0,57 0,01 <sup>†</sup>	-0,56 0,02 <sup>†</sup>	-0,39 0,07 <sup>†</sup>
CIC	-0,72 0,00 <sup>†</sup>	0,83 0,00 <sup>†</sup>	1	0,92 0,00 <sup>†</sup>	0,76 0,00 <sup>†</sup>	-0,6 0,01 <sup>†</sup>	-0,5 0,03 <sup>†</sup>	-0,53 0,02 <sup>†</sup>	-0,42 0,06 <sup>†</sup>
Al	-0,7 0,00 <sup>†</sup>	0,8 0,00 <sup>†</sup>	0,92 0,00 <sup>†</sup>	1	0,57 0,01 <sup>†</sup>	-0,6 0,01 <sup>†</sup>	-0,73 0,00 <sup>†</sup>	-0,74 0,00 <sup>†</sup>	-0,64 0,00 <sup>†</sup>
Actividad	-0,63 0,01 <sup>†</sup>	0,68 0,00 <sup>†</sup>	0,76 0,00 <sup>†</sup>	0,57 0,01 <sup>†</sup>	1	-0,41 0,06 <sup>†</sup>	-0,15 0,30 <sup>†</sup>	-0,17 0,27 <sup>†</sup>	-0,12 0,34 <sup>†</sup>
Abundancia	0,76 0,00 <sup>†</sup>	-0,45 0,05 <sup>†</sup>	-0,6 0,01 <sup>†</sup>	-0,6 0,01 <sup>†</sup>	-0,41 0,06 <sup>†</sup>	1	0,15 0,29 <sup>†</sup>	0,16 0,28 <sup>†</sup>	0,19 0,24 <sup>†</sup>
R	0,29 0,10 <sup>†</sup>	-0,57 0,01 <sup>†</sup>	-0,5 0,03 <sup>†</sup>	-0,73 0,00 <sup>†</sup>	-0,15 0,30 <sup>†</sup>	0,15 0,29 <sup>†</sup>	1	0,98 0,00 <sup>†</sup>	0,84 0,00 <sup>†</sup>
H	0,25 0,14 <sup>†</sup>	-0,56 0,02 <sup>†</sup>	-0,53 0,02 <sup>†</sup>	-0,74 0,00 <sup>†</sup>	-0,17 0,27 <sup>†</sup>	0,16 0,28 <sup>†</sup>	0,98 0,00 <sup>†</sup>	1	0,82 0,00 <sup>†</sup>
AWCD	0,21 0,16 <sup>†</sup>	-0,39 0,07 <sup>†</sup>	-0,42 0,06 <sup>†</sup>	-0,64 0,00 <sup>†</sup>	-0,12 0,34 <sup>†</sup>	0,19 0,24 <sup>†</sup>	0,84 0,00 <sup>†</sup>	0,82 0,00 <sup>†</sup>	1

<sup>†</sup> Valores p significativos cuando el nivel de significancia es 0.05

## 6.2. Evaluación del modelo de diseño experimental para las características químicas y microbiológicas

### 6.2.1. Modelo A. ANOVA unifactorial desbalanceado

#### a) Validación de supuestos del modelo

Se realiza entonces la validación del supuesto de normalidad de manera univariada para identificar si es posible la aplicación del modelo para el Análisis de varianza paramétrico unifactorial desbalanceado, tal como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6. Prueba de normalidad por variable dependiente

Características	Variable dependiente	Shapiro Wilk W	Valor p
Características químicas (gl1=5; gl2=9)	pH	0.9060	0.118
	MO	0.9724	0.892
	CIC	0.9449	0.448
	AI	0.9499	0.523
Características microbiológicas (gl1=6; gl2=8)	Actividad	0.9735	0.907
	Abundancia	0.8731	0.0375*
	R	0.9276	0.251
	Shanon	0.8941	0.0775
	AWCD	0.9446	0.443

\*Valor p significativo a un nivel de significancia de 0.05

Con un nivel de significancia de 0.05 existe evidencia para no rechazar la normalidad de cada una de las características químicas: pH, MO, CIC y AI, así como para las características microbiológicas: actividad microbiana, R, Shannon y AWCD. Sin embargo, existe evidencia para rechazar la hipótesis nula que indica que las observaciones de la característica microbiológica abundancia microbiana se distribuye normalmente.

Por otro lado, en la Tabla 7 puede verse el estadístico de la prueba de Levene y su significancia por variable dependiente para evaluar el supuesto de homogeneidad de varianza en los grupos. Los resultados muestran que se obtuvieron niveles de significancia superiores a 0.05 con la prueba de Levene para las características químicas pH (*Levene: p=0.063*) y MO (*Levene: p=0.437*), no obstante para las variables CIC (*Levene: p=0.000*) y AI (*Levene: p=0.035*) se rechaza la hipótesis nula de homogeneidad de varianzas al encontrarse valores p menores al nivel de significancia establecido, lo que indica que existe la probabilidad de que la varianza del error de estas dos variables no sea igual en todos los lugares de suelos. En las características microbiológicas también se rechaza dicha hipótesis nula para las variables abundancia microbiana y AWCD.

**Tabla 4. Prueba de homogeneidad de varianza por variable dependiente**

Prueba de Levene	Variable dependiente	Levene F	Valor p
Características químicas (gl1=5; gl2=9)	pH	3.1800	0.0630
	MO	1.0700	0.437
	CIC	16.045	0.000*
	AI	3.9810	0.0350*
Características microbiológicas (gl1=6; gl2=8)	Actividad	2.4041	0.125
	Abundancia	5.3965	0.0164*
	R	2.0631	0.169
	Shannon	1.8654	0.203
	AWCD	3.5545	0.0509*

\*Valor p significativo a un nivel de significancia de 0.05

Para el supuesto de correlación de los errores, se asume que estos son independientes ya que con el mecanismo de aleatorización utilizado se seleccionaron las unidades muestrales al azar y las mediciones resultantes del experimento son independientes, por lo que se puede decir que los errores son incorrelacionados en cada uno de los modelos de Análisis de varianza que se especifican para cada variable dependiente.

#### **b) Contraste de hipótesis del ANOVA unifactorial desbalanceado**

Como se observa en la Tabla 8, se encontraron diferencias significativas en las mediciones promedio del pH y de la materia orgánica (MO) de al menos dos de los sitios estudiados, pues se obtuvieron valores p menores al nivel de significancia de 0.05 para el ANOVA de estas características químicas. En lo que se refiere a los resultados encontrados en los ANOVA de las características microbiológicas, puede decirse que no se rechaza la hipótesis nula que indica que los promedios de actividad microbiana y riqueza no presentan diferencias significativas entre los suelos de los diferentes lugares de interés, pues el valor p para el análisis de varianza fue mayor al nivel de significancia establecido; mientras que existe evidencia para rechazar la hipótesis nula e indicar que existen diferencias entre los promedios del índice de Shannon de al menos dos de los lugares estudiados ( $p=0.034$ ).

**Tabla 8. ANOVA de las características químicas (pH y MO) y microbiológicas (actividad, R e índice Shannon)**

Características	Modelo	F <sub>(5,9)</sub>	p-value
Químicas	pH~Lugar.suelo	11.512	0.00107**
	MO~Lugar.suelo	5.8043	0.0115*
Microbiológicas	Actividad~Lugar.suelo	3.2014	0.0619
	R~Lugar.suelo	2.0191	0.169
	Shanon~Lugar.suelo	4.0068	0.0344*

\*Valor p significativo a un nivel de significancia de 0.05

\*\* Valor p significativo a un nivel de significancia de 0.01

- **Comparaciones múltiples**

En la tabla 9 se muestra que al realizar las comparaciones múltiples para identificar entre qué lugares se presentan las diferencias detectadas en el análisis de varianza, las mediciones promedio de pH en el suelo del potrero difieren significativamente ( $p < 0.05$ ) con las mediciones promedio de pH de los suelos de los demás lugares estudiados. Adicionalmente, las mediciones promedio de pH entre el bosque Bremen y el corredor Colibríes presentan diferencias a un nivel de significancia de 0.10. Por otra parte, con un nivel de confianza del 95% se encuentra que las mediciones promedio de materia orgánica en los suelos del potrero son significativamente diferentes de las mediciones obtenidas en los bosques Barbas y Bremen y el corredor Monos. Las diferencias detectadas entre las mediciones promedio de MO del potrero y el corredor Colibríes, así como las del bosque Bremen y el corredor Colibríes son significativas a un nivel de 0.10. Finalmente, también se determinó que las mediciones promedio del índice de Shannon del suelo del bosque Barbas son diferentes significativamente ( $p < 0.05$ ) con las mediciones promedio de los corredores Colibríes y Pavas y con las del potrero.

**Tabla 95. Comparaciones múltiples de los suelos de los diferentes lugares para las características químicas pH y MO y la característica microbiológica Índice de Shannon**

Característica	Contraste	Diferencias Tukey-Kramer	Valor p	
pH	6 Potrero	1 Bosque Barbas	0.500	0.0316 *
		2 Bosque Bremen	0.950	0.0004 *
		3 Corredor Monos	0.617	0.0050 *
		4 Corredor Colibríes	0.583	0.0072 *
		5 Corredor Pavas	0.617	0.0050 *
	2 Bosque Bremen	4 Corredor Colibríes	0.366	0.0939 •
MO	6 Potrero	1 Bosque Barbas	-4.530	0.0336 *
		2 Bosque Bremen	-5.580	0.0099 *
		3 Corredor Monos	-3.942	0.0434 *
		4 Corredor Colibríes	-3.732	0.0573 •
	2 Bosque Bremen	4 Corredor Colibríes	0.367	0.0919 •
Índice de Shannon	1 Bosque Barbas	4 Corredor Colibríes	0.327	0.0444 *
		5 Corredor Pavas	0.351	0.0306 *
		6 Potrero	0.368	0.0387 *
		3 Corredor Monos	0.286	0.0859 •

\* Los promedios de los lugares de suelo en contraste son diferentes con un nivel de significancia de 0.05  
 • Los promedios de los lugares de suelo en contraste son diferentes con un nivel de significancia de 0.10

**c) Contraste de hipótesis del ANOVA unifactorial desbalanceado con Corrección de Welch**

El diagnóstico de los modelos para cada ANOVA de las variables dependientes: CIC, AI y AWCD sugiere entonces que estos sean estimados con la corrección de Welch, considerando que presentan diferencias entre las varianzas encontradas en los diferentes lugares y siguen una distribución normal. Los resultados se presentan en la Tabla 10, donde la significancia del estadístico de Welch para el



análisis de varianza de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) evidencia que no se rechaza la hipótesis nula de igualdad de medias, esto significa que no se presentan diferencias significativas entre los promedios de CIC encontrados en los suelos de los diferentes lugares estudiados. Por el contrario, la hipótesis nula se rechaza para la característica química concentración de aluminio, evidenciándose que existen diferencias estadísticas a un nivel de significancia de 0.05 entre las concentraciones promedio de aluminio presentadas en al menos dos de los lugares. Adicionalmente, el promedio de desarrollo de color púrpura por pozo de las ecoplacas (AWCD) da evidencia de no rechazar la hipótesis nula de igualdad de medias, esto significa que no se encontraron diferencias significativas entre los promedios de AWCD en los suelos de los diferentes lugares.

**Tabla 60. ANOVA unifactorial y prueba robusta de Welch para la igualdad de las medias**

Características	Modelo	ANOVA		Welch		
		F <sub>(5,9)</sub>	Valor p	F <sub>(5,gl2)</sub>	gl2	Valor p
Químicas	CIC~Lugar.suelo	12.976	0.001	6.692	3.141	0.0690
	Al~Lugar.suelo	5.6520	0.012	11.262	3.527	0.0250*
Microbiológicas	AWCD~Lugar.suelo	2.0454	0.166	3.875	3.682	0,118

\* Valor p significativo a un nivel de significancia de 0.05

- **Comparaciones múltiples**

Según los resultados presentados en la Tabla 11, las concentraciones promedio de aluminio del bosque Bremen son significativamente distintas a las concentraciones promedio del corredor Colibríes y a las del potrero; de igual manera se presentan estas diferencias entre el bosque Barbas y el potrero. Con un menor nivel de confianza (90%) se evidencia dichas diferencias entre el bosque Barbas y el corredor Colibríes, así como entre las concentraciones de aluminio del corredor Monos y el el potrero.

**Tabla 71. Comparaciones múltiples de los suelos de los diferentes lugares para la concentración de aluminio**

Característica	Contraste		Diferencias Tukey-Kramer	Valor p	
Al	2	Bosque Bremen	4 Corredor Colibríes	-1.355	0.0307 *
			5 Corredor Pavas	-1.235	0.0763 •
			6 Potrero	-1.995	0.0055 *
	1	Bosque Barbas	6 Potrero	-1.760	0.0118 *
			4 Corredor Colibríes	-1.120	0.0786 •
	3	Corredor Monos	6 Potrero	-1.063	0.0989 •

\* Los promedios de los lugares de suelo en contraste son diferentes con un nivel de significancia de 0.05  
 • Los promedios de los lugares de suelo en contraste son diferentes con un nivel de significancia de 0.10

### 6.2.2. Modelo B. ANOVA no paramétrico: Kruskal-Wallis

Para la variable abundancia microbiana, cuyos supuestos de normalidad y homocedasticidad no se cumplieron, se especifica un modelo no paramétrico para el análisis de varianza a través de la prueba Kruskal-Wallis.

- **Contraste de hipótesis**

Como se observa en la Tabla 12, se encuentran diferencias significativas para determinar que al menos dos lugares difieren en cuanto a la mediana de abundancia microbiana, pues se obtuvo un valor p menor al nivel de significancia de 0.05 para el ANOVA no paramétrico Kruskal-Wallis.

**Tabla 82. ANOVA no paramétrico Kruskal-Wallis**

Modelo	Chi <sup>2</sup> <sub>(5)</sub>	Valor p
Abundancia~Lugar.suelo	12.883	0.0245*

\*Valor p significativo a un nivel de significancia de 0.05

**Comparaciones múltiples**

Al realizar las comparaciones múltiples para identificar entre qué lugares de interés se presentan las diferencias detectadas en el análisis de varianza, se encontró que el promedio de la abundancia microbiana en el suelo del potrero difiere significativamente ( $p < 0.05$ ) con el promedio encontrado en los demás lugares estudiados. También se encuentra que el promedio de la abundancia microbiana en el suelo del corredor Colibríes difieren significativamente ( $p < 0.05$ ) con los del bosque Bremen, corredor Monos y corredor Pavas a un nivel de significancia de 0.05 (Tabla 13).

**Tabla 13. Comparaciones múltiples de los suelos de los diferentes lugares para la abundancia microbiana**

Característica	Contraste	Diferencias Tukey-Kramer	Valor p	
<b>Abundancia</b>	6 Potrero	1 Bosque Barbas	861250.0	0.0020 *
		2 Bosque Bremen	1155400.0	0.0002 *
		3 Corredor Monos	1009466.7	0.0003 *
		4 Corredor Colibríes	519433.3	0.0286 *
		5 Corredor Pavas	1193400.0	0.00008*
	4 Corredor Colibríes	2 Bosque Bremen	635966.7	0.0085 *
		3 Corredor Monos	-490033.3	0.0211 *
		5 Corredor Pavas	-673966.7	0.0027 *

\* Los promedios de los lugares de suelo en contraste son diferentes con un nivel de significancia de 0.05

## 7. DISCUSIÓN

### 7.1. Características químicas

Inicialmente, cuando los corredores biológicos aún no habían sido sometidos a la estrategia de restauración basada en aceleración de la sucesión, estos eran potreros utilizados con fines pastoriles. Por esta razón, en este estudio se consideró el suelo del potrero aledaño al corredor Los Monos como referente negativo, pues indica las condiciones encontradas en un lugar perturbado o alterado por intervenciones antropogénicas que no ha estado bajo ningún proceso de restauración.

Conforme un ecosistema inicia y avanza en un proceso de sucesión se pueden observar una serie de cambios o tendencias, las cuales involucran un aumento progresivo de la biomasa y la producción primaria, hasta que se alcanza un estado de equilibrio en el que la respiración iguala a la fotosíntesis. Además, se observa un aumento en la biodiversidad y un reemplazo de los organismos con estrategia r por los que presentan una estrategia K, los cuales son más comunes en hábitats estables con fuertes relaciones intra e inter específicas. Todo esto finalmente lleva al desarrollo de hábitats más complejos, estables y en los cuales el flujo energético que recorre el ecosistema disminuye, debido a que al pasar la energía por muchos más organismos se producen más pérdidas y la productividad se reduce (Odum, 2006).

Los resultados permiten observar que el suelo con el mayor valor de pH fue el del potrero, y que este presentó una diferencia significativa respecto a los valores de pH encontrados en los demás lugares estudiados. Adicionalmente, se encontró que el potrero fue el lugar con el menor porcentaje de materia orgánica y la menor concentración de aluminio, diferenciándose significativamente de lo encontrado en los bosques y en el corredor Monos. A partir de esto y junto con el conocimiento acerca de lo que ocurre durante un proceso de sucesión, se puede afirmar que estas tres variables cambian según el estadio sucesional de un ecosistema, variando según la composición vegetal y el grado de perturbación encontrados, mostrando también la capacidad de servir como indicadores de la calidad del suelo al permitir describir los procesos que están ocurriendo en el ecosistema (Bautista *et al.*, 2004).

Los patrones mencionados anteriormente pueden explicarse por la interacción que presentan cada una de estas características entre sí. Respecto a la materia orgánica, se tiene que en un ecosistema joven o sujeto a constantes perturbaciones, la biomasa acumulada es menor que la productividad, mientras que en los ecosistemas maduros la relación es inversa, por lo que se favorece la acumulación de materia orgánica en estos últimos (Primack, 2010), tal como se observó en este estudio. Respecto al pH de los suelos de los lugares evaluados, en los resultados se encontró que este parámetro presentaba una correlación

negativa muy fuerte con la materia orgánica, es decir, que a mayor pH encontrado en estos suelos, menor cantidad de materia orgánica presentará el ecosistema. Esto concuerda con la teoría, pues a pesar de que la disminución del pH puede deberse a otros factores, la materia orgánica juega un papel importante en la acidificación de los suelos, ya que como resultado de la actividad descomponedora de los microorganismos se producen ácidos húmicos y fúlvicos y dióxido de carbono, que al reaccionar con agua forma ácido carbónico (Atlas y Bartha, 2006). Adicionalmente, al tener en cuenta que cuando las raíces de las plantas toman del suelo nutrientes en forma de cationes ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{NH}_4^+$ ) esta absorción viene acompañada de una transferencia de  $\text{H}^+$  desde la raíz a la solución de suelo, podría pensarse que los hábitats que presenten una cobertura vegetal abundante, tal como ocurre en los bosques, tendrían suelos más ácidos (Zapata, 2004). Finalmente, para explicar el patrón observado en la concentración de aluminio encontrada en el suelo de los lugares de interés, debe tenerse en cuenta que a un pH menor a 5 este elemento se hace mucho más soluble en la solución de suelo, ya que pasa de estar en complejos inmovilizadores a una forma soluble ( $\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6^{3+}$ ) (Garcidueñas y cervantes, 1996). Así, teniendo en cuenta que en los suelos de los bosques y corredores se presentaron valores de pH que variaron entre 4.23 y 4.61, lo que los clasifica como suelos extremadamente ácidos y muy fuertemente ácidos; mientras que el suelo del potrero presentó un pH de 5.11, lo que lo ubica en la clasificación de fuertemente ácido, por lo que era de esperarse que en los suelos más ácidos la concentración de aluminio en su forma soluble fuera mayor.

De manera particular, en los resultados pudo apreciarse que el suelo del bosque Bremen presentó diferencias significativas con el del corredor Colibríes respecto a las características pH, porcentaje de materia orgánica y concentración de aluminio. Estos resultados junto con el hecho de que Colibríes es uno de los corredores más jóvenes, permiten afirmar que posiblemente, de los tres corredores evaluados, este se encuentra en una etapa más temprana de su sucesión, en donde sus características químicas aún se asemejan a las encontradas en un potrero.

Respecto a la capacidad de intercambio catiónico determinada, esta no presentó diferencias significativas entre los lugares evaluados, lo que indica, según este estudio, que no es una variable tan sensible como las anteriormente mencionadas ante cambios en el uso del suelo. Sin embargo, cabe resaltar su importancia en un ecosistema al ser una variable que determina en gran medida la fertilidad de los suelos, ya que altos niveles de CIC (ver anexo 1) están relacionados con una buena capacidad de retener los nutrientes y de evitar que estos se pierdan por escorrentía (Arshad y Coen, 1992). De esta manera, aunque no se encontraron diferencias significativas para esta variable, en los resultados descriptivo pudo verse que los lugares con mayor CIC fueron los bosques, por lo que puede decirse que posiblemente estos sean los suelos más fértiles y con una mayor disponibilidad de nutrientes.

## **7.2. Características microbiológicas y regulación de la diversidad y abundancia microbiana**

Los diferentes grupos de microorganismos, al igual que las plantas o animales, necesitan de ciertas condiciones bajo las cuales su crecimiento, desarrollo y reproducción se ven favorecidos (Atlas y Bartha, 2006). De esta manera, la diversidad y abundancia de los organismos está determinada por variables abióticas tales como los nutrientes, la temperatura, el pH, la salinidad, etc., encontradas en el medio. Lo anterior es la tesis fundamental de la Ley de tolerancia de Shelford, la cual afirma que hay límites para los factores ambientales, por encima y por debajo de los cuales no es posible que los microorganismos sobrevivan. Por otro lado, las interacciones bióticas como la competencia intra e interespecífica, depredación, parasitismo, entre otras, también juegan un papel muy importante en la regulación de la presencia y abundancia de microorganismos, debido a su influencia en la tasa de reproducción y muerte de una población particular (Paul, 2007). Por consiguiente, para entender los resultados y tendencias encontradas en cuanto a las características microbiológicas determinadas en los suelos de los lugares de interés, es necesario tener en cuenta las interacciones tanto bióticas como abióticas que se presenten el medio.

De acuerdo al análisis de abundancia realizado, el lugar con el mayor número de microorganismos por gramo de suelo fue el potrero, diferenciándose significativamente de lo encontrado en los demás lugares evaluados. Esto puede deberse a que en los potreros la aplicación de agroquímicos, las heces del ganado y las condiciones de temperatura, humedad y radiación solar podrían afectar negativamente el desarrollo de grupos microbianos, pero potenciar el crecimiento de poblaciones particulares que tengan la capacidad de sobrevivir en estos ambientes. Estas últimas, al predominar y crecer sin ningún tipo de regulación a causa de la escasa competencia por recursos, aumentan la abundancia en estos lugares (Paul, 2007).

El hecho de encontrar una menor abundancia microbiana en bosques y corredores a comparación del potrero, también puede deberse al pH y a la concentración de aluminio reportados en estos lugares, pues según los resultados observados en la matriz de correlaciones, el primero presenta una fuerte correlación positiva con la abundancia y el segundo una fuerte correlación negativa con esta misma. De esta manera, debido a que el potrero fue el lugar con la menor concentración de aluminio y el mayor pH, se esperaba que su abundancia microbiana estuviera por encima de lo encontrado en los demás lugares.

Para entender la razón de por qué el pH puede afectar la abundancia de microorganismos encontrada en el suelo de cada lugar de estudio, hay que tener en cuenta que muchos microorganismos son metabólicamente intolerantes a un pH tan bajo como los presentados en bosques y corredores, debido a que a estos

niveles de acidez las enzimas microbianas comienzan un proceso de depolimerización, y como consecuencia, el organismo ya no tiene la capacidad de utilizar sustratos vitales para su crecimiento y desarrollo (Paul, 2007). De los microorganismos presentes en la matriz edáfica, la gran mayoría de grupos bacterianos son los que resultan más afectados con valores de pH bajo, mientras que los hongos predominan en estos lugares, siendo mucho más competitivos que las bacterias y constituyendo en gran parte de la biomasa microbiana presente (Atlas y Bartha, 2006). Además, estudios han demostrado que las bacterias a menudo dominan sistemas altamente perturbados, por su parte, los hongos tienden a dominar en suelos que están bien aireados y estables, como los bosques, puesto que estas condiciones permiten el establecimiento adecuado de estos organismos y su crecimiento efectivo (Horman y Islam, 2010). A partir de esto y resaltando que la tinción fluorescente con el colorante DAPI es particularmente efectiva para el conteo de células bacterianas, puede inferirse que es posible que en bosques y corredores la biomasa microbiana resultara mayor que en el potrero si se hubiese realizado adicionalmente el conteo de hongos microscópicos, ya que por los valores de pH encontrados era de esperarse que las bacterias estuvieran significativamente reducidas en comparación con las poblaciones del potrero, pero que los hongos tuvieran una mayor representación en los bosques y corredores, cuyas características favorecen el crecimiento de estos.

En cuanto al aluminio, altas concentraciones de este llevan a una disminución de la abundancia microbiana debido a que este es un elemento que resulta tóxico para muchos microorganismos. En su estudio, Garcidueñas y Cervantes (1996) reportaron que el crecimiento de las especies *Escherichia coli*, *Arthrobacter aureus*, *Bradyrhizobium* spp y del género *Rhizobium* se vio marcadamente disminuido cuando los niveles de aluminio se encontraban por encima de 0.9 mM o incluso a concentraciones de 50  $\mu$ M, todas estas concentraciones más bajas que las reportadas en los bosques de Barbas y Bremen. Esta toxicidad se asocia a que el aluminio puede actuar como competidor del hierro y del magnesio, nutrientes esenciales para el crecimiento y desarrollo de estos organismos. Además, también causa problemas estructurales al afectar la expresión de proteínas importantes, como la flagelina, al unirse a fragmentos de DNA. Por otro lado, aunque anteriormente se menciona que la abundancia de hongos podría ser mayor que la de las bacterias en los bosques y corredores, esta también puede verse afectada por las altas concentraciones de aluminio, ya que este elemento tiene la capacidad de unirse a la pared celular de los hongos causando su desestabilización (Garcidueñas y Cervantes, 1996). Sin embargo, los mismos autores han reportado que los hongos tienen un mayor rango de tolerancia al aluminio, y que algunos géneros tienen la capacidad de eliminar este elemento gracias a la presencia de vacuolas en sus células.

Por otra parte, similar a lo encontrado en los resultados de las características químicas, la abundancia del corredor Colibríes mostró una diferencia significativa

respecto al bosque Bremen y los otros dos corredores, lo que indica nuevamente que este corredor se encuentra en una etapa más temprana del proceso de sucesión en comparación con Monos y Pavas, pues a pesar de que sí muestra diferencias significativas con el potrero, aún no se evidencia una tendencia hacia las condiciones de los bosques maduros.

Otra de las características microbiológicas evaluada fue la diversidad funcional, la cual se determinó mediante las ecoplacas Biolog<sup>TM</sup>. Para interpretar los resultados obtenidos en las microplacas de cada lugar de estudio, se calcularon tres indicadores de la capacidad metabólica de los microorganismos presentes en el suelo: el índice de Shannon (H), la riqueza (R) y el desarrollo promedio del color púrpura por pozo (AWCD). De estos tres, el que se utilizará para análisis es el índice de Shannon, puesto que fue el que presentó diferencias significativas entre los diferentes lugares. Así, los resultados permitieron evidenciar que el bosque Barbas fue el lugar con el menor índice de Shannon, diferenciándose significativamente de lo encontrado en el potrero y en los corredores. Esto indica que los bosques tienen una diversidad funcional significativamente menor en comparación con los demás lugares.

Este resultado presentado es contrario a lo que se esperaría según lo que afirma la teoría y diferentes estudios, esto es, que en ecosistemas complejos y en donde existen variedad de nichos disponibles y presiones selectivas causadas por competencia o depredación, tal como ocurre en los bosques, es común encontrar una diversidad funcional mayor que en sistemas perturbados, como lo es el potrero (Atlas y Bartha, 2006). Sin embargo, podrían existir factores que disminuyan la diversidad encontrada en los bosques. En este caso, tomando en cuenta la matriz de correlaciones presentada en los resultados, puede decirse que el factor que principalmente está afectando la diversidad funcional de los bosque es la concentración de aluminio, ya que se encontró que esta presenta una fuerte correlación negativa con el índice de Shannon, por lo que es posible que la toxicidad por aluminio sea una variable determinante en el resultado obtenido.

Cabe resaltar que el uso de las ecoplacas en diferentes estudios ha llevado a resultados contundentes que han respondido a variadas preguntas de investigación. Tal es el caso del estudio realizado por Chazarenc y colaboradores (2010), en donde se logró evidenciar mediante el uso de estos dispositivos que las comunidades bacterianas encontradas en diferentes humedales presentan cambios tanto estacionales como espaciales. Sin embargo, en este caso, si se tiene en cuenta los sustratos evaluados en las ecoplacas (Tabla 1), que estas dejan de lado la diversidad funcional que aportan los hongos al solo tener en cuenta a las bacterias y que el porcentaje de utilización de las fuentes de carbono en cada lugar de estudio fue similar (ver anexo 3), puede decirse que estos dispositivos no fueron los apropiados para comparar la diversidad funcional de los suelos de los lugares estudiados. Esto debido a que en primer lugar, ninguno de los polímeros que hacen parte de la materia orgánica se evalúan, en su lugar se

encuentran sustratos que son resultados de la degradación de estos, como es el caso de la D-xilosa, un glicano que resulta de la descomposición de la hemicelulosa y pectina, o de la D-celobiosa, la cual se forma después de la hidrólisis de la celulosa, entre otros. Todos estos compuestos mucho más simples y de fácil utilización por parte de una gran cantidad de géneros bacterianos o por bacterias generalistas, las cuales son más comunes en lugares perturbados y sin fuertes interacciones ecológicas (Atlas y Bartha, 2006). En segundo lugar, en ambientes ácidos como los que se están estudiando, los principales descomponedores de materia orgánica son los hongos (Paul, 2007), de manera que intervienen en la degradación de celulosa, hemicelulosa, pectina, lignina, proteínas y grasas de manera más activa que las bacterias, por lo que un estudio de la diversidad funcional de hongos podría ser un buen complemento de este trabajo.

El hecho de que en las ecoplagas no se evalúe la presencia de bacterias que tengan la capacidad de degradar los complejos compuestos orgánicos que componen la materia orgánica (celulosa, hemicelulosa, pectina, etc.), no permite que se determine de forma precisa la diversidad funcional de los lugares estudiados, puesto que grupos funcionales tan importantes dentro de un ecosistema boscoso como lo son las bacterias celulolíticas, hemicelulolíticas, pectinolíticas, etc., no se toman en cuenta, afectando considerablemente los resultados. Además, al solo evaluar fuentes de carbono, también se excluye de análisis los grupos de las solubilizadoras de fosfato y fijadoras de nitrógeno, los cuales cumplen un rol fundamental en el ciclaje de nutrientes dentro de cualquier ecosistema (Paul, 2007). De otra manera, al haber mayor materia orgánica y complejidad estructural en bosques y corredores a comparación del potrero, podría esperarse que en estos lugares los grupos funcionales mencionados tuvieran una mayor representación y el índice de Shannon estaría por encima del calculado en el potrero.

Adicionalmente, se pudo apreciar que los bosques presentaron una menor diversidad funcional en comparación con los corredores, hecho que coincide con lo reportado en la literatura, en donde se afirma que durante los primeros estadios de una sucesión la diversidad tiende a aumentar y consigue su máximo en esta primera fase o fases intermedias, sin embargo, conforme el ecosistema alcanza su estado de equilibrio o clímax, esta diversidad disminuye (Atlas y Bartha, 2006). Hasta este momento no se conoce la relación óptima entre diversidad y estabilidad, aunque está claro que conforme se avanza en la sucesión las variables bióticas y abióticas del sistema ejercen una presión selectiva sobre los organismos, estabilizando de esta manera el tipo de comunidades que se pueden encontrar (Harris, 2009).

Respecto a la actividad microbiana, esta no presentó diferencias significativas entre ninguno de los lugares evaluados, lo que pudo ser efecto de la falta de estandarización del método utilizado para determinarla. Sin embargo, al observar



los resultados descriptivos, se puede notar que el potrero fue el lugar con una menor actividad microbiana y el bosque Bremen con la mayor, lo que era de esperarse ya que, generalmente, un suelo con un alto contenido de materia orgánica presenta una gran actividad microbiana, puesto que hay una mayor cantidad de sustratos que pueden ser metabolizados. Además, este patrón indica que, posiblemente, los bosques poseen óptimas condiciones físicas y químicas que permiten el desarrollo de los procesos metabólicos de bacterias, hongos, algas y actinomicetos y de su acción sobre los sustratos orgánicos (Mora, 2006).

Teniendo en cuenta lo dicho respecto a las características microbiológicas, puede decirse que estas sí pueden ser consideradas como efectivos indicadores microbiológicos de la calidad del suelo, puesto que se pudo evidenciar que tienen la capacidad de responder ante cambios ambientales como el pH, la concentración de aluminio y el porcentaje de materia orgánica. Además, a partir de la determinación de estas características se puede conocer la estructura de la comunidad microbiana que puede estar desarrollándose en un determinado ecosistema, pues aunque no se logró una determinación precisa de la diversidad funcional presente en cada lugar de estudio, sí se pudo hipotetizar acerca de esta y del rol de hongos y bacterias en estos lugares. Por esto, se debe tener presente que los resultados mostrados tuvieron la limitación de no tener en cuenta a la comunidad de hongos, los cuales son importantes para los procesos de cualquier ecosistema, pero lo son aun más en ambientes ácidos como los tratados en este estudio.

Finalmente, para responder al problema de investigación planteado, se puede decir que aunque es muy poco probable que un ecosistema llegue a ser idéntico a otro, los indicadores de la calidad del suelo determinados en los tres corredores evaluados muestran que está ocurriendo un proceso de sucesión, desencadenado por la restauración realizada, que los está llevando hacia la adquisición de características químicas y microbiológicas similares a las encontradas en el suelo de los bosques maduros, alejándose cada vez más de las condiciones de un ecosistema perturbado e inestables, como lo es el potrero. De esta manera, se puede concluir que la estrategia de restauración basada en aceleración de la sucesión implementada en los corredores biológicos sí está cumpliendo su objetivo, y que estas zonas gradualmente están desarrollando una cobertura vegetal, estructura edáfica y complejidad ecológica, propias de un bosque maduro.

## 8. CONCLUSIONES

- Los corredores biológicos Monos y Pavas mostraron una tendencia hacia la adquisición de características químicas y microbiológicas encontradas en los bosques de Barbas y Bremen, puesto que únicamente se encontraron diferencias significativas para el índice de Shannon entre estos dos elementos del paisaje.
- En caso del corredor Colibríes, este presentó diferencias significativas con los bosques respecto a todas las características evaluadas, lo que indica que es el corredor que se encuentra en una etapa más temprana de la sucesión, donde sus características químicas y microbiológicas aún se asemejan a las encontradas en un lugar perturbado.
- El pH, el porcentaje de materia orgánica y la concentración de aluminio son características químicas que pueden ser útiles como indicadores de la calidad del suelo y para evaluar el proceso de sucesión de un ecosistema.
- Como consecuencia del pH ácido encontrado en el suelo de los lugares estudiados, en especial en bosques y corredores, es posible que los hongos predominen sobre las bacterias, tanto en abundancia como en diversidad.
- Se evidenció que existe una interacción entre las características química y microbiológicas evaluadas, presentándose correlaciones de tipo fuerte y muy fuertes entre estas. Esto implica que a medida que el uso del suelo varía, estas responden de manera conjunta para generar cambios de composición y estructura microbiana en un ecosistema.

## 9. RECOMENDACIONES

- Para futuros diseños experimentales se recomienda aumentar el número de unidades muestrales para cada lugar, con el fin de obtener una estimación más válida de la varianza, y de esta manera, resultados más representativos del comportamiento real del lugar estudiado.
- Se recomienda tener un número de replicas igual para cada lugar de interés, con el fin de obtener un diseño balanceado y conocer la varianza del error experimental, evitando así problemas en el cumplimiento de supuestos de homogeneidad de los errores entre grupos.
- Realizar un estudio que tenga en cuenta la diversidad funcional y la abundancia de los hongos microscópicos presentes en los suelos de los lugares estudiados, con el fin de complementar los resultados aquí presentados.
- Realizar un estudio de la diversidad genética de los microorganismos presentes en los suelos de los seis lugares evaluados, con el fin de conocer la comunidad a nivel de género o especie e identificar organismos clave dentro de la dinámica del ecosistema que puedan ser útiles para futuros procesos de biorremediación.
- Determinar y analizar indicadores de la calidad del suelo de estos lugares cada cierto periodo de tiempo, con el fin de continuar con la fase de seguimiento y evaluación de la estrategia de restauración implementada en los corredores biológicos.

## 10. REFERENCIAS

- Andersen, R., Francez, A.J., y Rochefort, L. (2006). The physicochemical and microbiological status of a restored bog in Québec: Identification of relevant criteria to monitor success. *Soil Biology and Biochemistry*, 38, 1375–1387.
- Arshad, M., y Coen, G. (1992). Characterization of soil quality: Physical and chemical criteria. *American Journal of Alternative Agriculture*, 25-31.
- Atlas, R., y Bartha, R. (2006). Ecología microbiana y Microbiología ambiental (Cuarta edición). Madrid: Pearson.
- Bautista, A., Etchevers, J., Del Castillo, R., y Gutiérrez, C. (2004). La calidad del suelo y sus indicadores. *Ecosistemas*, 13 (2), 90-97.
- Belalcázar, Stefanía. (2013). Evaluación del biocarbón derivado de cascarilla de arroz como potenciador del establecimiento y proliferación de bacterias en suelos. *Trabajo de Grado*. Santiago de Cali: Universidad Icesi.
- Bernal, R. F. (1986). Estudio de zonificación y uso potencial del suelo en la zona cafetera del departamento del Quindío. Bogotá: Federación Nacional de Cafeteros de Colombia.
- Bloem, J., Hopkins, D. W., y Benedetti, A. (2006). Microbiological methods for assessing soil quality. London: CABI Publishing.
- Breure, A. M. (2004). Soil biodiversity: measurements, indicators, threats and soil functions. *I International conference: Soil and Compost Eco-Biology* (págs. 83-96). León, España: SoilAce.
- Brussaard, L. (1998). Soil fauna, guilds, functional groups and ecosystem processes. *Applied soil ecology*, 9, 123-135.
- Calbrix, R., Laval, K., y Barray, S. (2005). Analysis of the potential functional diversity of the bacterial community in soil: a reproducible procedure using sole-carbon-source utilization profiles. *European Journal of Soil Biology*, 41, 11-20.
- Chazarenc, F., Brisson, J., y Merlin, G. (2010). Seasonal and spatial changes of microorganism communities in constructed wetlands: a community level physiological profiling analysis. *International Journal of Chemical Engineering*, 1-6.
- Choi, Y. (2007). Restoration ecology to the future: a call for new paradigm. *Restoration Ecology*, 15(2), 351–353.

- Corporación Autónoma Regional del Quindío (CRQ). (2006). Agenda Ambiental Municipal del municipio de Filandia. Colombia: Alcaldía Municipal de Filandia (Quindío).
- Cuadras, C. M. (2007). Nuevos métodos de análisis multivariante. Barcelona: CMC editions
- Delgado, Marcela. (2012). Aplicación de las Características Físicoquímicas del Suelo como Indicadoras de la Efectividad de las Estrategias de Restauración Implementadas en el Corredor Barbas–Bremen (Quindío – Colombia). *Trabajo de Grado*. Santiago de Cali: Universidad Icesi.
- Díaz, A. (2009). Diseño estadístico de experimentos 2a Ed. Universidad de Antioquia.
- Eaton, W. D., y Chassot, O. (2012). Characterization of soil ecosystems in Costa Rica using microbial community metrics. *Tropical Ecology*, 53 (2), 185-195.
- Fraç, M., Oszust, K., y Lipiec, J. (2012). Community Level Physiological Profiles (CLPP), characterization and microbial activity of soil amended with dairy sewage sludge. *Sensors*, 12, 3253-3268
- Fisher, R. (1929). The Arrangement of field experiments. *Journal of the Ministry of Agriculture of Great Britain*, 33, 503-513.
- Garcia, E. (2013). Estrategias para la recuperación de suelo degradados en ambientes semiáridos: adición de dosis elevadas de residuos orgánicos de origen urbano y su implicación en la fijación de carbono. *Tesis doctoral*. Murcia, España: Universidad de Murcia.
- Garcidueñas, R., Cervantes, C. (1996). Microbial interactions with aluminium. *BioMetals*, 9, 311-316.
- Gann, G.D., y D. Lamb, redactores, 2006. La restauración ecológica: un medio para conservar la biodiversidad y mantener los medios de vida (versión 1.1). *Society for Ecological Restoration (SER) International*, Tucson, Arizona, EE.UU. y IUCN, Gland, Suiza.
- Gil, Diana y Herrera, Jennifer. (2013). Gestión ambiental participativa en el Distrito de Conservación de Suelos Barbas-Bremen, departamento de Risaralda. *Trabajo de Grado*. Pereira (Risaralda): Universidad tecnológica de Pereira.
- Goviden, L. (1985). *Introducción a la Estadística*. Bogotá: Mcgraw Hill.

- Harris, J. (2003). Measurements of the soilmicrobial community for estimating the success of restoration. *European Journal of Soil Science*, 801–808.
- Hayter, A. J. (1984). A proof of the conjecture that the Tukey-Kramer multiple comparisons procedure is conservative. *The Annals of Statistics*, 61-75.
- Hilborn R., Mangel M. (1997). The ecological detective. Confronting models with data. Princeton University Press, Princeton, NJ.
- Hilty, J. A., Lidicker, W. Z., y Merendeler, A. M. (2006). *Corridor Ecology. The Science and Practice of Linking Landscapes for Biodiversity Conservation*. Washington: Island Press.
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Certificación (ICONTEC). (1997). Norma Técnica Colombiana (NTC) 4113-6: Gestión ambiental. Calidad de suelo. Muestreo. Guía para la recolección, manejo y almacenamiento de suelo para la evaluación de procesos microbianos aeróbicos en el laboratorio. Bogotá, D.C.
- Islam, R., Hoornan, J. (2010). Understanding Soil Microbes and Nutrient Recycling. *Fact Sheet: The Ohio State University*
- Jaramillo, D. (2002). Introducción a la ciencia del suelo. Medellín: Universidad Nacional de Colombia.
- Kepner, R., y Pratt, J. R. (1994). Use of fluorochromes for direct enumeration of total bacteria in environmental samples: past and present. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 603-615.
- Kéry M., Schaub M. (2012). Bayesian Population Analysis Using WinBUGS. Elsevier, Amsterdam.
- Kibblewhite, M., Ritz, K., y Swif, M. (2008). Soil health in agricultural systems. *Phil. Trans. R. Soc. B*, 363, 685-701.
- Latorre, N.E. (2007). Evaluación de medios de cultivo altos y bajos en nutrientes para la recuperación de heterótrofos edáficos en la ecorregión cafetera de los Andes. *Trabajo de Grado*. Bogotá: Universidad Javeriana.
- Lozano, F. H., Vargas, A. M., Vargas, W. G., Jimenez, E., Mendoza, J. E., Caycedo, P., Aristizábal, S.L., Ramirez, D.P., Murillo, X., y Rios, C.I. (2006). Modelo de manejo sostenible de para la conservación de la biodiversidad en la región andina Colombiana. Bogota: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos "Alexander Von Humboldt".

- Martinez, M., Gutiérrez, V., Janssens, M., y Ortega, R. (2010). Biological soil quality indicators: a review. *Microbiology Series*, 319-328.
- Mora, J.R. (2006). La actividad microbiana: un indicador integral de la calidad del suelo. *Trabajo experimental*. Palmira: Universidad Nacional de Colombia.
- Moreira, Mariana. (2009). Aplicación y selección de indicadores de calidad ecológica en la utilización de fertilizantes orgánicos para la producción de forraje. *Tesis doctoral*. Galicia (España): Universidad de Santiago de Compostela.
- Nielsen, M.N. y Winding, A. (2002). Microorganisms as Indicators of Soil Health. National Environmental Research Institute, Denmark. Technical Report No. 388
- Nogueira, E., Figueiredo, R., Bini, D., Horta, M., Alcantara, C., Lopes, P., Monteiro, A., Shigeyoshi, A., de Moraes, J., Nogueira, M. (2013). Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health? 274-289.
- Odum, E., y Barrett, G. (2006). Fundamentos de ecología (Quinta edición). Cengage Learning Latin America.
- Ortiz, Carolina. (2013). Evaluación de la diversidad de arañas como indicadoras de la efectividad de las estrategias de restauración implementadas en el corredor biológico Barbas-Bremen, Filandia (Quindío-Colombia). *Trabajo de Grado*. Santiago de Cali: Universidad Icesi.
- Paul, E. (Ed.). (2007). Soil microbiology, ecology, and biochemistry (third edition) . Elsevier.
- Perez, L.Y. (2008). Evaluación microbiológica de la calidad del suelo en cultivos de tabaco (*Nicotiana tabacum*) en los municipios de Girón y Piedecuesta (Santander) utilizando como indicadores los grupos funcionales de microorganismos. *Trabajo de Grado*. Bucaramanga: Universidad industrial de Santander.
- Pozuelo, J.M.(1991). Estudio de grupos funcionales de microorganismos edáficos en la rizosfera de *Alnus glutinosa*. *Tesis doctoral*. Madrid, España: Universidad Complutense.
- Preston-Mafham, J., Boddy, L., y Randerson, P. (2002). Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilization profiles - a critique. *FEMS Microbiology Ecology*, 42, 1-14.

- Primack, R. B. (2010). *Essentials of Conservation Biology*. Massachusetts: Sinauer Associates.
- R Core Team (2014). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <http://www.R-project.org/>.
- Rolf, Daniel. (2005). The metagenomics of soil. *Nature Publishing Group*, 470-478.
- Rucks, L.; F. García, A. Kaplán, L. J. Ponce y M. Hill. 2004. Propiedades físicas del suelo. Departamento de suelos y Aguas. Facultad de Agronomía. Universidad de la República.
- Schoenholtz, S., Van Miegroet, H., y Burger, J. (2000). A review of chemical and physical properties as indicators of forest soil quality: challenges and opportunities. *Forest Ecology and Management*, 335-356.
- Sharma, S. K., Ramesh, A., Sharma, M. P., Joshi, O. P., Govaerts, B., Steenwerth, K. L., & Karlen, D. L. (2010). Microbial community structure and diversity as indicators for evaluating soil quality. *Sustainable Agriculture Reviews*, 317-358.
- Society for Ecological Restoration (SER) International, Grupo de Trabajo sobre Ciencia y Políticas. (2004). *Principios de SER internacional Sobre la Restauración Ecológica*. Washington.
- Spjotvoll, E., & Stoline, M. R. (1973). An extension of the T-method of multiple comparison to include the cases with unequal sample sizes. *Journal of the American Statistical Association*, 68(344), 975-978.
- Stefanowicz, A. (2006). The Biolog plates technique as a tool in ecological studies of microbial communities. *Polish J. of Environ. Stud.*, 15 (5), 669-676.
- Torsvik, V. y Ovreas, L. (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*, 240-245.
- Tukey, J. W. (1949). Comparing individual means in the analysis of variance. *Biometrics*, 99-114.
- Vargas, W.G. (2010). Consideraciones sobre el estado actual de los corredores de conexión en el sector Barbas-Bremen y el establecimiento de pasos elevados para fauna. Bogotá: Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt.



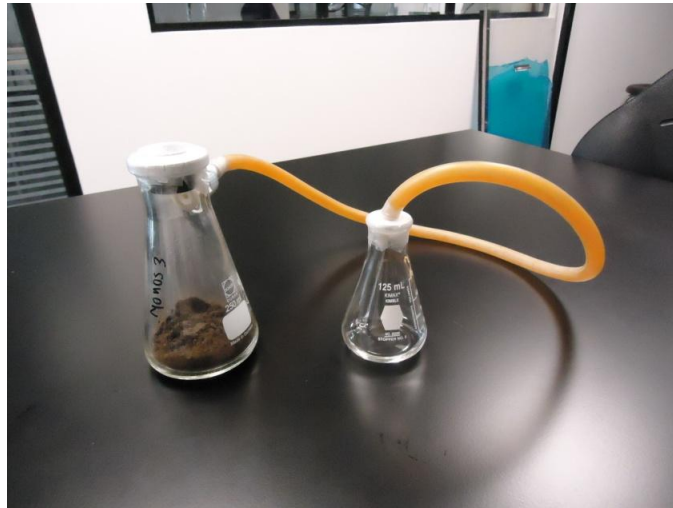
- Yu, W., Dodds, W., Banks, M., Skalsky, J., & Strauss, E. (1995). Optimal staining and sample storage time for direct microscopic enumeration of total and active bacteria in soil with two fluorescent dyes. *Applied and Environmental Microbiology*, 3367–3372.
- Zamora, A., Malaver, N., y Ramos, J. (2012). Análisis funcional de microorganismos. *Acta Biológica Venezuela*, 32 (1), 57-86.
- Zapata, R. (2004). Química de la acidez del suelo. Medellín: Universidad Nacional de Colombia.
- Zhong S., Liang W., Lou Y., Li Q., y Zhu J. (2009). Four years of free-air CO<sub>2</sub> enrichment enhance soil C concentrations in a Chinese wheat field. *Journal of Environmental Sciences*, 21(9), 1221-1224

## 11. ANEXOS

### ANEXO 1. Definición de las características químicas evaluadas

Variable	Definición e importancia en el ecosistema	Interpretación	
<b>pH</b>	<p>Parámetro que mide la acidez del suelo.</p> <p>En los suelos más ácidos predominan los hongos, mientras que en los alcalinos las bacterias.</p> <p>Determina en gran medida la disponibilidad de nutrientes, la actividad y diversidad microbiana.</p>	<b>pH</b>	<b>Clasificación</b>
		<p>3.5 - 4.4</p> <p>4.5 - 5.0</p> <p>5.1 - 5.5</p> <p>5.6 - 6.0</p> <p>6.1 - 6.5</p> <p>6.6 - 7.3</p> <p>7.4 - 7.8</p> <p>7.9 - 8.4</p> <p>&gt; 8.4</p>	<p>Extremadamente ácido</p> <p>Muy fuertemente ácido</p> <p>Fuertemente ácido</p> <p>Moderadamente ácido</p> <p>Ligeramente ácido</p> <p>Neutro</p> <p>Ligeramente alcalino</p> <p>Moderadamente alcalino</p> <p>Fuertemente alcalino</p>
<b>Fuente:</b> Delgado (2012)			
<b>Capacidad de intercambio catiónico (CIC)</b>	<p>Es la capacidad que tiene un suelo para retener y liberar iones positivos, debido a su contenido de arcillas y materia orgánica.</p> <p>Los suelos con alta CIC suelen tener alto contenido de arcilla y/o materia orgánica. Estos suelos son considerados más fértiles, ya que pueden retener más nutrientes.</p>	<b>CIC</b>	<b>Nivel</b>
		<p>&lt; 10</p> <p>20</p> <p>&gt; 30</p>	<p>Bajo</p> <p>Medio</p> <p>Alto</p>
<b>Fuente:</b> Laboratorio de Análisis Agrícola			
<b>Cantidad de materia orgánica (MO)</b>	<p>Es el producto de la descomposición química de las excreciones de animales y microorganismos, de residuos de plantas o de la degradación de cualquiera de ellos tras su muerte.</p> <p>Mejora la calidad del suelo al incrementar la agregación de las partículas del mismo, la infiltración y retención de agua, el contenido de nutrientes, la capacidad buffer y la actividad de los organismos del suelo. De manera que previene la erosión, la pérdida de nutrientes por escorrentía, ofrece una estructura más consistente y una mayor cantidad de sustratos para animales y microorganismos edáficos.</p>	<b>% MO</b>	<b>Nivel</b>
		<p>&lt; 2</p> <p>2 - 4</p> <p>&gt; 4</p>	<p>Bajo</p> <p>Medio</p> <p>Alto</p>
<b>Fuente:</b> Riopaila Castilla			
<b>Concentración de aluminio (Al)</b>	<p>Cantidad de aluminio en el suelo, su unidad de medida es meq/100 g de suelo.</p> <p>Los niveles altos de aluminio en suelo se ven relacionados con la toxicidad, tanto para plantas como para microorganismos.</p>	<b>[Al<sup>3+</sup>]</b>	<b>Nivel</b>
		<p>&lt; 0.5</p> <p>0.5 - 2</p> <p>&gt; 2</p>	<p>Bajo</p> <p>Medio</p> <p>Alto</p>
<b>Fuente:</b> Riopaila Castilla			

## **ANEXO 2. Montaje realizado para la determinación de la actividad microbiana**

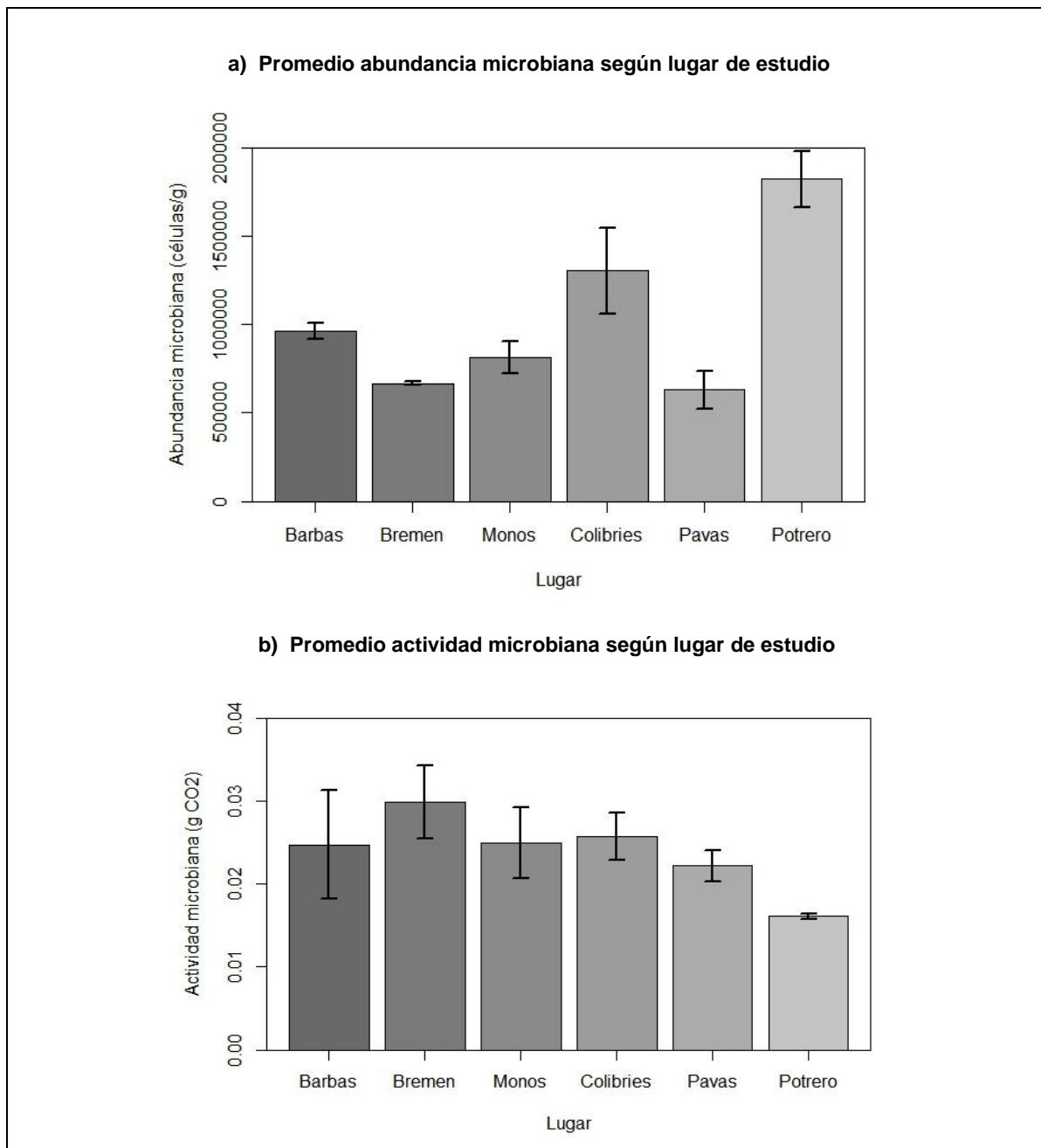


## **ANEXO 3. Análisis descriptivo de las características físicas y microbiológicas evaluadas en los suelos de los diferentes lugares**

En este análisis se presentan las características químicas y microbiológicas que fueron seleccionadas para ser las variables discutidas en este trabajo, puesto que estas fueron las que presentaron un patrón de similitud-diferencia entre los lugares evaluados.

Respecto a las características microbiológicas, en la figura A1.a) Puede observarse que la mayor abundancia de microorganismos se encontró en el potrero, seguido de Colibrías, Monos, y por último, en Pavas. También se puede notar una amplia variabilidad entre los datos de los diferentes lugares, pero poca variabilidad dentro ellos. Adicionalmente, el cruce de las barras de error permite decir que posiblemente no se presente una diferencia significativa entre la abundancia microbiana de Barbas, Bremen, Monos y Pavas; sin embargo, es probable que Colibrías y el potrero muestren una diferencia significativa respecto a los demás lugares.

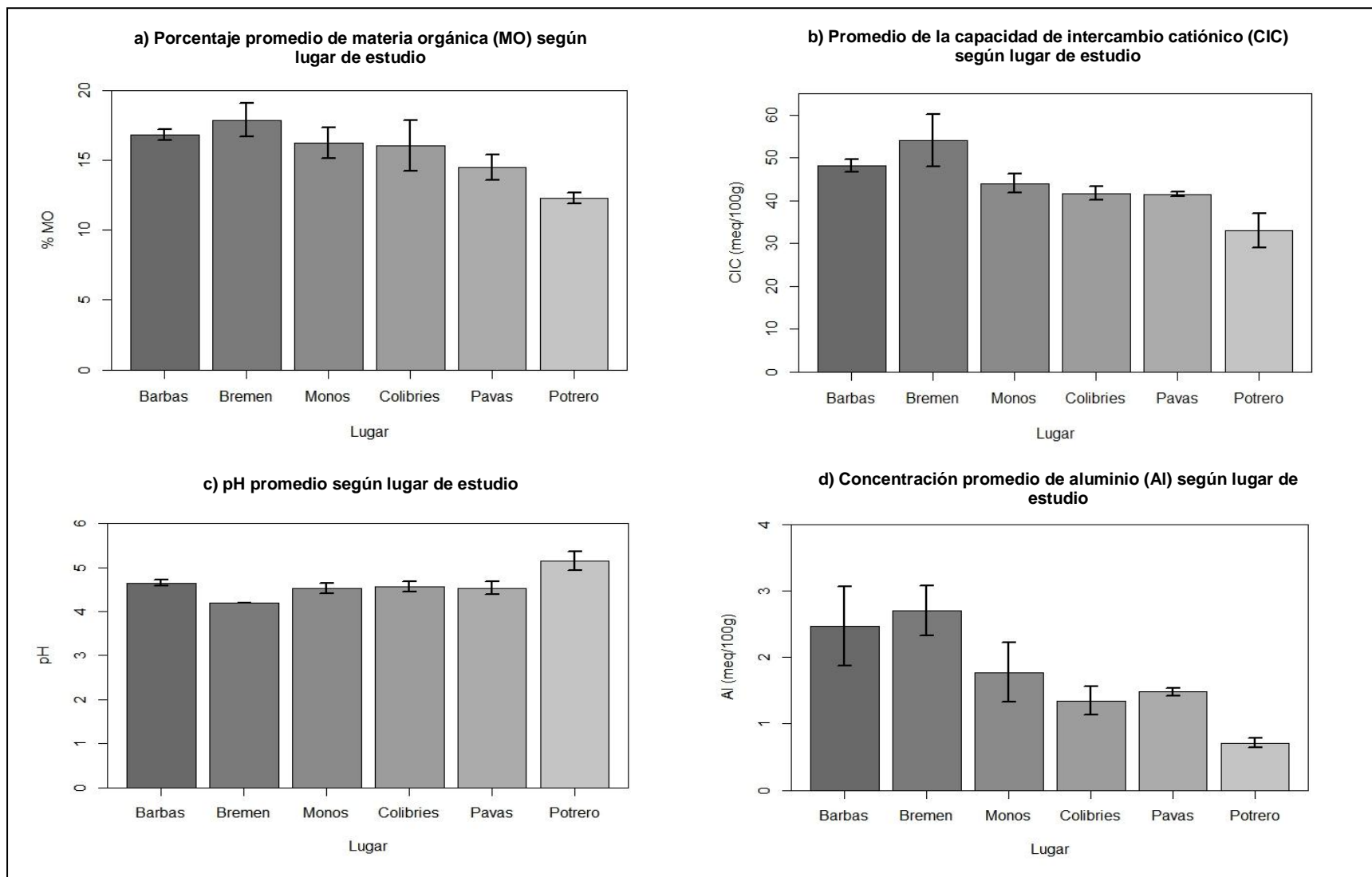
Por otro lado, en la figura A1.b) se puede observar que se registró una mayor actividad microbiana en Bremen, seguido por Colibrías, Barbas y Monos, Pavas, y finalmente, en el potrero. Además, se observa que los datos entre los lugares evaluados se presentan homogéneos, por lo que es probable que no se encuentre una diferencia significativa. Sin embargo, al tener en cuenta las barras de error, se puede decir que posiblemente el potrero presente una diferencia significativa frente a los demás lugares, ya que su barra de error es la única que no presenta cruce con otra.



**Figura A1. Diagrama de barras con errores estándar ( $x \pm sd$ ) para las características microbiológicas actividad y abundancia microbiana determinadas según el lugar de estudio**

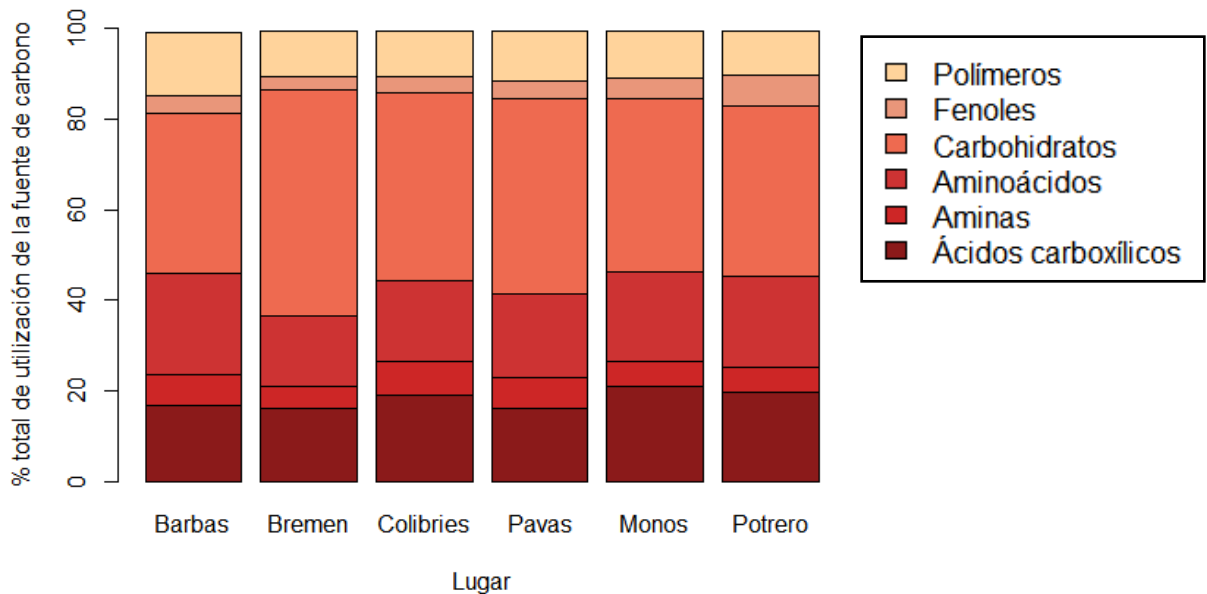
En cuanto a las características químicas, se puede ver en la Figura A2.a), A2.b) y A2.d), que en promedio, los bosques presentaron una mayor cantidad de materia orgánica, capacidad de intercambio catiónico y concentración de aluminio, seguidos por los corredores biológicos y finalmente el potrero. Además, se puede notar que la variabilidad entre y dentro de los diferentes lugares fue baja para los datos de materia orgánica y capacidad de intercambio catiónico, por lo que es posible que no se encuentre una diferencia significativa en los datos de los diferentes lugares. Sin embargo, por cruce de las barras de error también puede decirse que los datos obtenidos para los bosques y los corredores son similares, mientras que en el potrero puede presentarse una diferencia significativa respecto a estos lugares, debido a que su barra de error no se cruza con ninguna. Respecto a los datos pertenecientes a la concentración de aluminio en el suelo de cada lugar evaluado, estos presentaron una alta variabilidad entre los sitios, por lo que es probable que se encuentre una diferencia significativa, y que esta esté dada por el potrero ya que su barra de error no se cruza con la de ningún lugar.

Finalmente, en la Figura A2.c) se observa que, en promedio, el potrero presentó un mayor pH, seguido de Barbas, Colibríes, Monos, Pavas y de último, Bremen. Adicionalmente, se puede notar que la variabilidad de los datos obtenidos entre y dentro de cada lugar es baja, por lo que es probable que no se encuentre una diferencia significativa ya que el grupo se nota homogéneo. Sin embargo, al tener en cuenta las barras de error, se puede decir que también existe la probabilidad de que el potrero o Bremen muestren una diferencia significativa frente a los demás lugares.



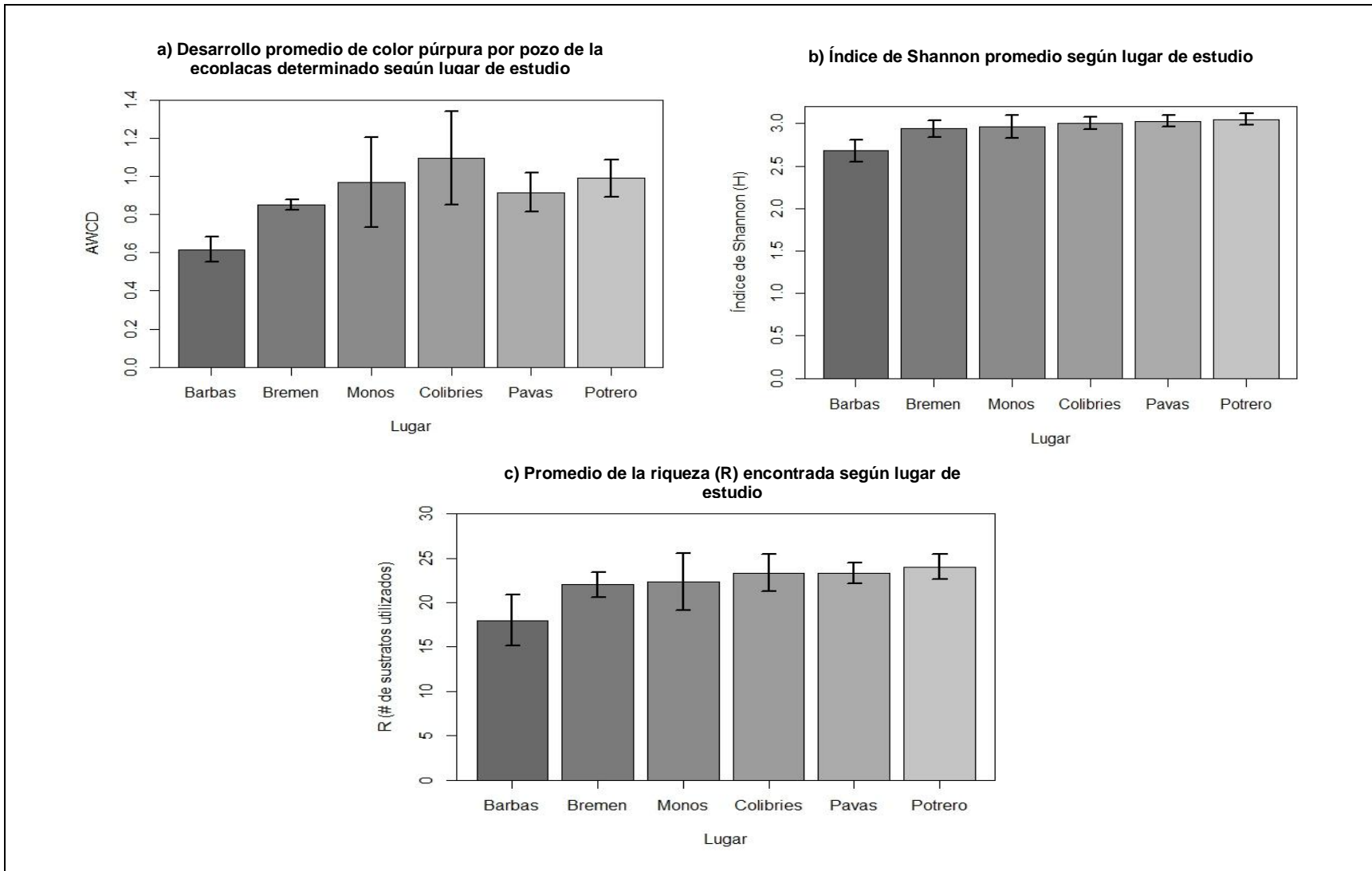
**Figura A2. Diagrama de barras con errores estándar ( $x \pm sd$ ) para las características químicas determinadas según el lugar de estudio**

Por otra parte, respecto a la diversidad funcional microbiana determinada mediante la utilización de ecoplacas, en la figura A3 se observa que el porcentaje de utilización de cada fuente de carbono fue similar para todos los lugares estudiados. Se presentó una mayor utilización de los sustratos dentro de la clasificación de carbohidratos, seguido por los aminoácidos, ácidos carboxílicos, polímeros, aminas, y por último, fenoles.



**Figura A3. Porcentaje de utilización de las fuentes de carbono presentes en las ecoplacas según lugar de estudio**

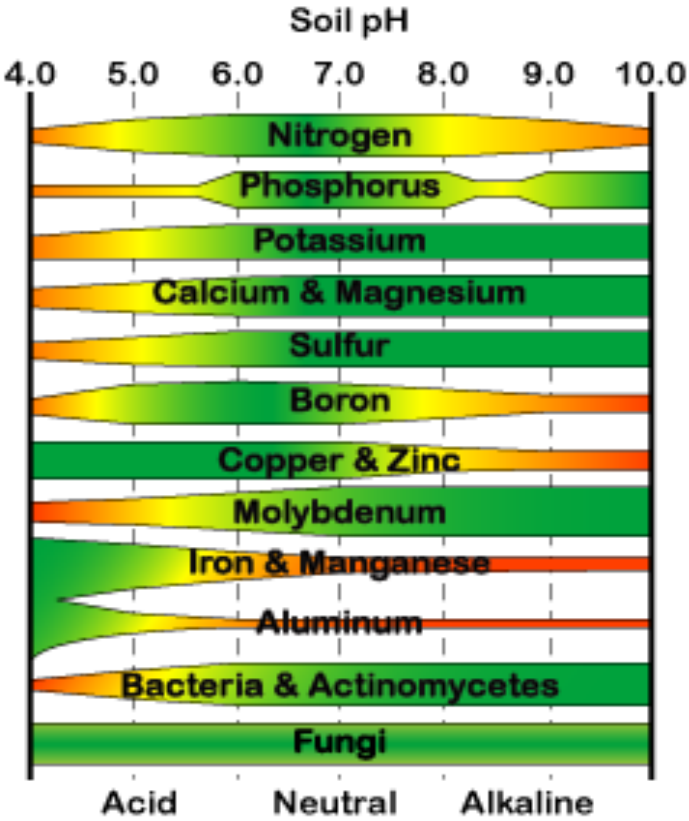
Adicionalmente, los resultados obtenidos en las ecoplacas fueron resumidos en las figura A4.a), A4.b) y A4.c). Se encontró que Colibrías fue el lugar en donde se presentó un mayor promedio de desarrollo del color púrpura por pozo (AWCD), seguido del potrero, Monos, Pavas, Bremen, y por último, Barbas. En cuanto al índice de biodiversidad de Shannon y el valor de R, se obtuvo que en promedio este fue mayor en el potrero, seguido de Pavas, Colibrías, Monos, Bremen y finalmente, Barbas. Adicionalmente, en la Figura 3 se puede observar que los datos correspondientes al Índice de Shannon y R presentaron una baja variabilidad entre y dentro de los lugares evaluados, por lo que es probable que no se encuentre una diferencia significativa entre ellos. Sin embargo, teniendo en cuenta los cruces de barras de error, también es probable encontrar una diferencia significativa entre los datos de índice de Shannon presentados en Barbas respecto a los demás lugares, debido a que su barra de error no se cruza con la de ningún otro lugar. En el caso de los datos obtenidos para AWCD, se puede notar una alta variabilidad entre los lugares y que existe la probabilidad de que se encuentre una diferencia significativa en los datos de Barbas respecto a los de los demás lugares.



**Figura A4. Diagrama de barras con errores estándar ( $x \pm sd$ ) para los indicadores que resumen lo encontrados en la ecoplacas según el lugar de estudio.**



**ANEXO 4. Efecto del pH en la disponibilidad de nutrientes y en la composición microbiana de un ecosistema**



Fuente: Kennedy (2013)

**ANEXO 5. Características físicas y químicas determinadas para los corredores biológicos, bosques maduros y potrero**

Hacienda	pH agua 1:2	MO (%)	P Bray II ppm	Ca meq/100g	Mg meq/100g	K meq/100g	CIC meq/100g	Al <sup>+3</sup> meq/100g	Cu ppm	Fe ppm	Mn ppm	Zn ppm	Text
<b>Bosque Barbas (1)</b>	4,6	17,12	7,64	1,73	0,57	0,20	49,2	2,89	ND	1,83	8,51	1,72	F-A*
<b>Bosque Barbas (2)</b>	4,7	16,55	6,90	2,83	0,85	0,22	47,2	2,05	0,01	2,46	8,43	1,82	F-A*
<b>Corredor Monos (1)</b>	4,6	15,31	6,17	1,23	0,38	0,25	46,5	2,08	0,09	4,08	8,14	2,82	F-A*
<b>Corredor Monos (2)</b>	4,4	17,50	6,46	0,40	0,28	0,22	43,5	1,98	0,12	5,07	5,39	2,04	F-A*
<b>Corredor Monos (3)</b>	4,6	15,93	5,57	1,23	0,29	0,19	42,2	1,26	0,12	3,45	6,30	3,75	F-A*
<b>Corredor Colibrías (1)</b>	4,5	17,79	10,89	0,71	0,27	0,21	43,5	1,57	0,06	8,05	4,92	6,46	F-A*
<b>Corredor Colibrías (2)</b>	4,7	14,16	7,94	1,61	0,53	0,24	41,0	1,13	0,10	9,37	5,31	5,86	F-A*
<b>Corredor Colibrías (3)</b>	4,5	16,16	15,75	0,87	0,26	0,17	40,6	1,35	0,16	8,84	4,43	6,16	F-A*
<b>Corredor Pavas (1)</b>	4,4	15,40	6,76	0,85	0,27	0,19	42,0	1,52	0,21	2,89	6,99	1,79	F-A*
<b>Corredor Pavas (2)</b>	4,7	13,59	4,84	0,84	0,31	0,20	41,5	1,42	0,12	2,94	5,09	2,71	F-A*
<b>Corredor Pavas (3)</b>	4,5	14,54	6,17	0,92	0,23	0,17	40,9	1,50	0,19	4,09	5,90	2,67	F-A*
<b>Potrero (1)</b>	5,0	12,02	5,87	2,69	0,50	0,35	30,2	0,76	0,13	3,04	7,98	4,22	F-A*
<b>Potrero (2)</b>	5,3	12,59	4,69	3,37	0,51	0,28	35,8	0,66	0,09	2,93	6,95	3,97	F-A*
<b>Bosque Bremen (1)</b>	4,2	18,74	7,49	1,64	0,45	0,24	58,4	2,97	0,06	2,17	4,50	2,71	F-A*
<b>Bosque Bremen (2)</b>	4,2	17,03	5,28	1,07	0,37	0,25	49,7	2,44	0,06	2,19	6,45	2,13	F-A*

Fuente: Riopaila Catilla

\*F-A: Franco arenoso

