

**CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD METABÓLICA DE LOS GENEROS  
*Pseudomona spp* EN LA PLANTA *Erigeron bonariensis L.* Y BACTERIAS  
DEGRADADORAS DE CELULOSA EN LA PLANTA *Portulaca oleracea L.* EN SUELOS  
DE USO AGRÍCOLA.**

**TESIS PREGRADO**

LUZ ELIANA HERNANDEZ MONTOYA

PAOLA ANDREA RENDON VALLEJO

UNIVERSIDAD CATOLICA DE MANIZALES

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA ACADEMICO: BACTERIOLOGÍA

INSTITUTO DE INVESTIGACION, MICROBIOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA  
AGROINDUSTRIAL

GRUPO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS-GIBI

MANIZALES-CALDAS 2016

**CARACTERIZACIÓN DE LA DIVERSIDAD METABÓLICA DE LOS GENEROS  
*Pseudomona spp* EN LA PLANTA *Erigeron bonariensis L.* Y BACTERIAS  
DEGRADADORAS DE CELULOSA EN LA PLANTA *Portulaca oleracea L.* EN SUELOS  
DE USO AGRÍCOLA.**

LUZ ELIANA HERNANDEZ MONTOYA

PAOLA ANDREA RENDON VALLEJO

Trabajo de grado para optar por el título de Bacterióloga

Director del Proyecto

Javier Guillermo Mantilla Afanador

UNIVERSIDAD CATOLICA DE MANIZALES

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD

PROGRAMA ACADEMICO: BACTERIOLOGÍA

INSTITUTO DE INVESTIGACION, MICROBIOLOGIA Y BIOTECNOLOGIA  
AGROINDUSTRIAL

GRUPO DE INVESTIGACIONES BIOLÓGICAS-GIBI

MANIZALES-CALDAS 2016

Nota de aceptación:

grado

Evaluador (a) del proyecto de

grado

Evaluador (a) del proyecto de

Director de Tesis

Manizales Caldas,

## **Dedicatoria**

Primero que todo a Dios por habernos permitido llegar hasta este punto y habernos dado salud para lograr nuestros objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A nuestros padres por su apoyo en todo momento, sus consejos, sus valores, por la motivación constante y por su amor.

A nuestro tutor Javier Mantilla Afanador, por su gran apoyo, paciencia y motivación para la elaboración de este trabajo y la culminación de nuestros estudios profesionales

Finalmente a los maestros aquellos que marcaron cada etapa de nuestro camino Universitario y que aportaron a la culminación de esta etapa tan importante en nuestras vidas.

## **Agradecimientos**

La vida se encuentra plegada de retos, y uno de ellos es la Universidad, tras vernos dentro de ella nos damos cuenta que más allá de ser un reto, es una base no solo para el entendimiento del campo en el que nos hemos visto inmersos, sino para lo que concierne a la vida y a nuestro futuro.

Le agradecemos a nuestra Institución y a nuestros maestros especialmente a Javier Mantilla Afanador, Sandra Marulanda Moreno y a la Dra. Gloria Inés Estrada; por su esfuerzo, apoyo, dedicación y su valioso aporte en este arduo trabajo.

Nuestros más sinceros agradecimientos a cada una de las personas que de una u otra forma contribuyeron en nuestro proceso de formación y en la finalización exitosa de este.

Finalmente, agradecemos al instituto colombiano para el desarrollo de la ciencia y la tecnología COLCIENCIAS, por haber financiado este proyecto de investigación y al grupo de investigaciones biológicas (GIBI) y al semillero de conservación de hongos y bacterias (COHOBAC) por la inspirada labor de generar conocimiento y formar profesionales con competencias y pensamientos críticos.

## TABLA DE CONTENIDO

<b>Lista de tablas.....</b>	<b>9</b>
<b>Lista de figuras y esquemas .....</b>	<b>11</b>
<b>Lista de anexos .....</b>	<b>12</b>
<b>1. Introducción .....</b>	<b>14</b>
<b>2. Planteamiento del problema .....</b>	<b>17</b>
<b>3. Justificación .....</b>	<b>19</b>
<b>4. Objetivos .....</b>	<b>21</b>
4.1 Objetivos generales .....	21
4.2 Objetivos específicos .....	21
<b>5. Estado del arte.....</b>	<b>22</b>
5.1.La Rizósfera y microbiota asociada .....	22
5.2.Comunidad microbiana y grupos funcionales .....	23
5.3.Funciones de las comunidades microbianas .....	25
5.4.Taxonomía de la especie de planta <i>Erigeron bonariensis</i> L.....	26
5.5.Bacterias pertenecientes al género <i>Pseudomona spp.</i> .....	27
5.6.Características del genero <i>Pseudomona spp</i> en suelos de uso agrícola.....	29
5.7.Taxonomía de la especie de planta <i>Portulaca oleracea</i> L. ....	30
5.8.Bacterias degradadoras de celulosa.....	32
5.9.Microorganismos con potencial de degradación de celulosa.....	32
<b>6. Metodología .....</b>	<b>33</b>
6.1. Lugar de estudio .....	34
6.2. Muestreo del suelo.....	34
6.3. Aislamiento primario .....	35
6.3.1. Aislamiento de bacterias del genero <i>Pseudomona spp.</i> .....	35
6.3.2. Aislamiento de bacterias degradadoras de celulosa.....	35
6.4. Caracterización morfológica de bacterias del genero <i>Pseudomona spp.</i> y bacterias degradadoras de celulosa.....	36

6.5. Identificación bioquímica de bacterias del genero <i>Pseudomona spp.</i> y bacterias degradadoras de celulosa. ....	36
6.6. perfil fisiológico de la comunidad microbiana asociada a la rizósfera en las especies de planta <i>Erigeron bonariensis L.</i> y <i>Portulaca oleracea L.</i> ....	37
6.7. Método Ecoplate.....	37
6.7.1. Evaluación de las comunidades microbianas y diversidad funcional de las bacterias del género <i>Pseudomona spp.</i> y bacterias degradadoras de celulosa .....	37
6.8. Caracterización de la actividad degradadora de celulosa por medio de la revelación de Rojo Congo.....	38
6.9. Conservación de las cepas mediante la técnica de crio preservación.....	39
<b>7. Resultados.....</b>	<b>40</b>
7.1. Análisis Físicoquímico del suelo .....	40
7.2. Crecimiento y selección de las colonias en el medio King B y CMC .....	42
7.2.1. Crecimiento y selección de las colonias en el medio King B de la planta <i>Erigeron bonariensis L.</i> .....	42
7.2.2. Crecimiento y selección de las colonias en el medio CMC de la planta <i>Portulaca oleracea L.</i> .....	42
7.3. Caracterización macroscópica y microscópica de las colonias seleccionadas.....	43
7.3.1. Caracterización macroscópica y microscópica de las colonias seleccionadas de la planta <i>Erigeron bonariensis L.</i> .....	43
7.3.2. Caracterización macroscópica y microscópica de las colonias seleccionadas de la planta <i>Portulaca oleracea L.</i> .....	44
7.4. Caracterización bioquímica de los aislamientos .....	46
7.4.1. Caracterización bioquímica de las colonias aisladas en el medio de cultivo PDA de la planta <i>Erigeron bonariensis L.</i> .....	46
7.4.2. Caracterización bioquímica de las colonias aisladas en el medio de cultivo PDA de la planta <i>Portulaca oleracea L.</i> .....	48
7.5. Evaluación de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog EcoPlates™ .....	49
7.5.1. Evaluación de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog EcoPlates™ de la comunidad microbiana de la planta <i>Erigeron bonariensis L.</i> .....	49
7.5.2. Evaluación de la diversidad funcional de las bacterias del género <i>Pseudomona spp.</i> en la planta <i>Erigeron bonariensis L.</i> .....	50

7.5.3. Evaluación de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog EcoPlates™ de la comunidad microbiana de la planta <i>Portulaca oleracea</i> L.....	51
7.5.4. Evaluación de la diversidad funcional de las bacterias degradadoras de celulosa en la planta <i>Portulaca oleracea</i> L .....	52
7.6. Identificación de la actividad degradadora de celulosa con Rojo Congo .....	53
7.6.1. Aislamiento de CMC con revelación de Rojo Congo .....	54
7.7. Identificación de los géneros presuntivos de acuerdo al manual de Bergey's.....	55
7.7.1. Identificación de géneros presuntivos en los aislamientos del consorcio <i>Pseudomonas</i> spp. en la planta <i>Erigeron bonariensis</i> L .....	55
7.7.2. Identificación de géneros presuntivos en los aislamientos del consorcio de bacterias degradadoras de celulosa en la planta <i>Portulaca oleracea</i> L.....	57
<b>8. Análisis de datos</b> .....	<b>60</b>
<b>9. Discusión</b> .....	<b>62</b>
<b>10. Conclusión</b> .....	<b>65</b>
<b>11. Anexos</b> .....	<b>66</b>
<b>12. Bibliografía</b> .....	<b>80</b>



## LISTA DE TABLAS

- Tabla 1. Resultados de los análisis de las variables fisicoquímicas del suelo. Pág. 40
- Tabla 2. Caracterización morfológica macroscópica de los aislamientos de colonias del medio King B de la planta *Erigeron bonariensis* L. Pág. 42.
- Tabla 3. Caracterización morfológica macroscópica de los aislamientos en medios específico CMC de la planta *Portulaca oleracea* L. Pág. 43
- Tabla 4. Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de los aislamientos en medios específico KING B de la planta *Erigeron bonariensis* L. Pág. 44
- Tabla 5. Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de los aislamientos en medios específico CMC de la planta *Portulaca oleracea* L. Pág.45
- Tabla 6. Caracterización bioquímica de las colonias aisladas del medio PDA de la planta *Erigeron bonariensis* L. Pág. 46
- Tabla 7. Caracterización bioquímica de las colonias aisladas del medio PDA de la planta *Portulaca oleracea* L. Pág. 48
- Tabla 8. Índices de hidrolisis de celulosa con revelación rojo Congo. Pág. 54
- Tabla 9. Bacterias presuntivas del genero *Pseudomona spp.* Aisladas en la planta *Erigeron bonariensis* L. Pág. 55
- Tabla 10. Características morfológicas y bioquímicas de las Bacterias del genero *Pseudomona spp.* Presuntivas aisladas en medio King B de la planta *Erigeron bonariensis* L. Pág. 55
- Tabla 11. Bacterias presuntivas degradadoras de celulosa aisladas en la planta *Portulaca oleracea* L Pág. 57

Tabla 12. Características morfológicas y bioquímicas de las Bacterias degradadoras de celulosa presuntivas aisladas en medio CMC de la planta *Portulaca oleracea L.* Pág. 58

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Planta *Erigeron bonariensis* L. Pág. 26

Figura 2. Planta *Portulaca oleracea* L. Pág. 30

Figura 3. Análisis de las variables fisicoquímicas del suelo (Cmol(+)/Kg). Pág. 41

Figura 4. Análisis de las variables fisicoquímicas del suelo (Mg/Kg). Pág. 41

Figura 5. Determinación de fuentes carbonadas de la comunidad microbiana de la especie de planta *Erigeron bonariensis* L. Pág. 50

Figura 6. Determinación de fuentes carbonadas del grupo funcional de bacterias del genero *Pseudomona spp.* de la especie de planta *Erigeron bonariensis* L. Pág. .51

Figura 7. Determinación de fuentes carbonadas de la comunidad microbiana de la especie de planta *Portulaca oleracea* L. Pág. 52

Figura 8. Determinación de fuentes carbonadas del grupo funcional de bacterias degradadoras de celulosa de la especie de planta *Portulaca oleracea* L. Pág.53

## LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Diseño de la metodología los aislamientos realizados. Pág. 33

## ANEXOS

Anexo 1. Protocolo preparación de agar PDA, caldo nutritivo y Rojo Congo.

Anexo 2. Fuentes carbonadas The Biolog EcoPlates™

Anexo 3. Caracterización macroscópica de las colonias seccionadas en el medio CMC y aisladas en medio PDA de la planta *Portulaca oleracea* L. A) Colonia 1, B) Colonia 2, C) Colonia 3, D) Colonia 4, E) Colonia 5, F) Colonia 6, G) Colonia 7, H) Colonia 8, I) Colonia 9, y J) Colonia 10.

Anexo 4. Caracterización macroscópica de las colonias seccionadas en el medio CMC y aisladas en medio PDA de la planta *Portulaca oleracea* L. A) Colonia 1, B) Colonia 2, C) Colonia 3, D) Colonia 4, E) Colonia 5, F) Colonia 6, G) Colonia 7, H) Colonia 8, I) Colonia 9, J) Colonia 10, K) Colonia 11, L) Colonia 12, M) Colonia 13, N) Colonia 14, O) Colonia 15, P) Colonia 16 y Q) Colonia 17.

Anexo 5. Caracterización de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog EcoPlates™ de la comunidad microbiana de la planta *Erigeron bonariensis* L.

Anexo 6. Caracterización de la diversidad funcional y metabólica de la bacterias del genero *Pseudomona spp* a través del método The Biolog EcoPlates™ de la planta *Erigeron bonariensis* L.

Anexo 7. Caracterización de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog EcoPlates™ de la comunidad microbiana de la planta *Portulaca oleracea* L.

Anexo 8. Caracterización de la diversidad funcional y metabólica de las bacteria degradadoras de celulosa a través del método The Biolog EcoPlates™ de la planta *Portulaca oleracea* L.

Anexo 9. Revelación en rojo Congo. A) Colonia 1, B) Colonia 2, C) Colonia 3, D) Colonia 4, E) Colonia 5, F) Colonia 6, G) Colonia 7, H) Colonia 8, I) Colonia 9, J) Colonia CMC10, K)

Colonia 11, L) Colonia 12, M) Colonia 13, N) Colonia 14, O) Colonia 15, P) Colonia 16 y Q)  
Colonia 17

## 1. INTRODUCCIÓN

Dentro de las propiedades biológicas de los suelos se encuentra la actividad microbiana la cual podría constituir una herramienta valiosa para conocer la calidad biológica de un suelo siendo esta dependiente de la dinámica de la materia orgánica, las prácticas de manejo y los cambios ambientales (Bandick y Dick, 1999).

La rizósfera es considerada como aquella zona del suelo cuya actividad biológica es influenciada por microorganismos que utilizan los exudados segregados por las raíces de las plantas como fuente de nutrientes; una de las características principales de la rizósfera es la presencia de multitud de compuestos orgánicos como carbohidratos, aminos, aminoácidos, ácidos carboxílicos y demás, que son utilizados por los microorganismos allí presentes; lo cual favorece el incremento de la población bacteriana. Por tanto la rizósfera provee, un complejo y dinámico microambiente, donde las rizobacterias en asociación con las raíces de las plantas, forman comunidades únicas.(M. Martín *et. al* 2011). Los suelos contienen diversas comunidades de microorganismos cuya actividad es fundamental para el mantenimiento de los ciclos biogeoquímicos como nitrógeno, fosforo, carbono y azufre; adicional, estos microorganismo participan en la regulación de reciclaje y disponibilidad de los nutrientes para las plantas, mezcla de materiales inorgánicos para generar agregados en el suelo, aumento del agua de infiltración para reducir las pérdidas por erosión, y en la descomposición de muchos contaminantes nocivos para el suelo (Degens B.P. 1997).

En los últimos años se ha incrementado el interés en estudios microbiológicos edáficos como un indicador sensible de la calidad del suelo, al estar involucrados en la sostenibilidad del ecosistema (Doran et al., 1994; Doran et al., 1999). Se ha establecido que los microorganismos y

específicamente las bacterias del suelo no actúan de manera aislada, sino que se dinamizan mediante múltiples interacciones que incluyen relaciones de sinergismo y antagonismo, contribuyendo al buen funcionamiento y equilibrio ecológico del sistema edáfico (Bottomley, 1998).

Las comunidades microbianas de los suelos agrícolas son un componente esencial en la fertilidad del suelo; esto podría describirse en actividades como, nutrición vegetal mediada por microorganismos y degradación de enzimas celulolíticas; lo cual está estrechamente relacionado con el aprovechamiento de diferentes elementos del suelo que favorecen su conservación y estabilidad agrícola. (Bandick y Dick, 1999).

La diversidad funcional es un componente importante de la biodiversidad, lo cual puede generalizarse como el conjunto de especies que comparten características o atributos ya sea morfológicos, fisiológicos, conductuales o de historia de vida (Chapin III et al. 2002), que influye en las propiedades del ecosistema (Hernández et al., 2006, Frac et al., 2012) (Díaz y Cabido, 2001). Lo que sugiere que un ecosistema con una alta diversidad funcional opera más eficientemente en términos de productividad, resiliencia y resistencia (Tilman, 2001), ya que el estudio de la diversidad funcional de los microorganismos en su totalidad y no de forma individual, permite enfatizar en el sinergismo de las especies (Ricotta et al., 2005)

La diversidad funcional de un suelo puede ser estudiada mediante el análisis de los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad, que reflejen la capacidad de dicha comunidad microbiana para utilizar la batería de sustratos de carbono en condiciones de cultivo controladas. (Stevens et al., 2004)

En base a las consideraciones anteriores, el principal objetivo del trabajo es determinar la diversidad metabólica de las comunidades microbianas heterótrofas y de los grupos funcionales de bacterias del género *Pseudomonas spp* y bacterias degradadoras de celulosa en la rizósfera respectivamente, de las especies de plantas arvenses *Erigeron bonariensis L.* Y *Portulaca oleracea L.* respectivamente.

Para el aislamiento de bacterias del género *Pseudomonas* se utilizó medio King B y para las bacterias degradadoras de celulosa se utilizó medio CMC (carboximetilcelulosa). La capacidad de degradación de sustratos carbonados se evaluó utilizando el método The Biolog EcoPlates™.

Los datos biológicos obtenidos en este estudio permitirán generar información de los microorganismos de acuerdo a su función en el agro ecosistema desde la perspectiva de la actividad metabólica de estos en suelos de uso agrícola.



## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La producción agrícola presenta constantemente evolución gracias a la aplicación de fertilizantes y químicos lo que empezó a generar una serie de condiciones y factores negativos como la destrucción sustancial de las comunidades microbianas y su actividad funcional o bioquímica (Acuña et al. 2006). La diversidad microbiana natural colombiana con fines de préstamo de servicios ambientales es poco explorada en el país. Colombia tiene tendencia agrícola por lo tanto; el uso frecuente del suelo debe ser supeditado a la conservación de todos sus componentes como el microbiano el cual se desconoce.

Involucrar el componente microbiano en el uso del suelo con fines agrícolas es incipiente; Al no conocerse las funciones de los microorganismos se hace un uso indebido de fertilizantes, herbicidas e insecticidas que inhiben el potencial de los microorganismos para degradar materia orgánica, liberar nutrientes entre otros. El conocimiento de la diversidad funcional de los microorganismos permite hacer un manejo integrado del suelo. Según antecedentes literarios el estado de la diversidad microbiana y metabólica en cuanto a comunidades y grupos funcionales que se encuentran presentes en la rizósfera y suelo agrícola de las especies de plantas *Erigeron bonariensis L* y *Portulaca oleracea L*. son muy pocos, ya que la información que se tiene de estas especies de plantas es básicamente con función de alimento o de uso medicinal que según la literatura aporta grandes beneficios para la salud al ser consumida.

De acuerdo a esta problemática se plantea las siguientes preguntas:

¿Cómo varía la diversidad metabólica de las comunidades microbianas asociadas a la rizósfera de las especies de plantas *Erigeron bonariensis* L y *Portulaca oleracea* L. en suelos de uso agrícola?

¿Cómo varía la diversidad metabólica de las bacterias del genero *Pseudomona* spp. En la planta *Erigeron bonariensis* L y las bacterias degradadoras de celulosa en la planta *Portulaca oleracea* L. en suelos de uso agrícola?.

### 3. JUSTIFICACIÓN

El suelo es un ecosistema que contiene una gran variedad de poblaciones microbianas. Las características químicas, físicas y biológicas de un suelo en particular, así como la presencia de crecimiento de plantas, influirán en el número y actividades de sus diversos componentes microbianos. (Álzate et al. 2014)

Las bacterias del genero *Pseudomona spp.* Habitantes de la rizósfera de las plantas son un agente clave del cambio del suelo en los agroecosistemas, con efectos positivos, ya que se convierten en reguladores de crecimiento vegetal para todos los procesos fisiológicos de la planta; en cuanto a tolerancia de altos contenidos de sales, aumento en los rendimientos de los cultivos y mejoras en la calidad del suelo, respecto a la disponibilidad de nutrientes (Brown, 2010)

Los microorganismo encargados de la degradación de celulosa, la cual es el principal componente de la pared celular de las plantas incluyen bacterias aerobias, anaerobias, mesofílicas y termofílicas, los cuales poseen la maquinaria enzimática necesaria para dicho propósito, por tal razón su aislamiento e identificación representa un importante recurso para mejorar la productividad del suelo.

Las plantas arvenses son consideradas poco importantes en todos los cultivos destinados al consumo humano, por el impacto negativo y la interferencia que éstas generan sobre los rendimientos, los costos de producción, la sostenibilidad, y la reducción de factores como la humedad, la luz, reducción nutrientes y el acceso al espacio disponible para el cultivo; pero a su vez constituye un importante mecanismo para la protección de los suelos contra la erosión.

Lo que se plantea con el siguiente trabajo es generar conocimientos acerca de la conformación de la diversidad microbiana de las especies de planta *Erigeron bonariensis L.* en

cuanto a bacterias del genero *Pseudomona spp*; y la especie de planta *Portulaca oleracea L.* en cuanto a microorganismos degradadores de celulosa y la determinación de su potencial de diversidad metabólica, influyente en los ecosistemas autóctonos de la región caldense. Y así generar información de la diversidad funcional habitable en los suelos agrícolas caldenses desde la perspectiva biológica con criterios de sostenibilidad ambiental.

Por lo tanto la caracterización de la diversidad microbiana hace factible el desarrollo de estrategias usando el potencial metabólico de esta población como un indicador de calidad de un determinado tipo de suelo destinado a la explotación agroindustrial, la conservación y el rendimiento de estos traerá consigo beneficios como la disminución del uso de agroquímicos y la baja erosión de los suelos.

## **4. OBJETIVOS**

### **4.1.OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar la diversidad metabólica de las comunidades microbianas heterótrofas y del consorcio de bacterias de los géneros *Pseudomonas spp* en la rizósfera de la planta *Erigeron bonariensis L.* y de las bacterias degradadoras de celulosa de la planta *Portulaca oleracea L.* en suelos de uso agrícola.

#### **4.2.OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar bacterias del género *Pseudomonas spp* en la rizósfera de la especie de plantas *Erigeron bonariensis L.* a través de la realización de pruebas bioquímicas convencionales.
- Identificar géneros de bacterias degradadoras de celulosa en la rizósfera de la especie de planta *Portulaca oleracea L.* a través de la realización de pruebas bioquímicas convencionales.
- Determinar la diversidad metabólica de las comunidades microbianas heterótrofas y grupos funcional de bacterias del género *Pseudomonas spp.* en la rizósfera de la especie de planta *Erigeron bonariensis L.* a través del método The Biolog EcoPlates™.
- Determinar la diversidad metabólica de las comunidades microbianas heterótrofas y grupos funcional de bacterias degradadoras de celulosa en la rizósfera de la especie de planta *Portulaca oleracea L.* a través del método The Biolog EcoPlates™.

### **5. ESTADO DEL ARTE**

#### **5.1.LA RIZÓSFERA Y MICROBIOTA ASOCIADA**

La rizósfera es considerada como aquella región del suelo cuya actividad biológica es influenciada por las raíces de las plantas, la cual a su vez se divide en tres partes: rizoplano (microorganismos adheridos a la raíz); Endorizosféra (microorganismo dentro de la raíz), Ectorizosféra es el área donde los microorganismos actúan de manera circulante a la raíz y Micorizosféra es la parte del suelo donde se ubican las micorrizas que se definen como asociaciones simbióticas entre hongos y plantas, estas interacciones planta-microorganismo favorecen la toma de agua y nutrientes, particularmente P, Cu, Zn por acción de las micorrizas (Buyer J., et al. 2002; Hernández M. y Escalona A. 2003; Arenas J. et al. 2005; Vélez J. et al. 2006; Sylvia 1999; Hernández R. 2005; Jenkinson and Ladd, 1981 en Bijayalaxmi N. D. and Yadava P. S 2006; Marschner y Dell 1994 en Osorio V. N 2007).

Las poblaciones rizosféricas están compuestas por bacterias, hongos, algas protozoos, nematodos y virus, los cuales desempeñan funciones de gran importancia en relación con procesos de edafogénesis, ciclos biogeoquímicos de elementos como el carbono, el nitrógeno, oxígeno, azufre, fosforo, hierro y otros metales; fertilidad de las plantas y protección frente a patógenos; degradación de compuestos xenobióticos y producción de fitohormonas (Nogales 2005).

La actividad biológica en los suelos se encuentra muy relacionada con las características físicas y químicas del mismo, así como a la presencia de un determinado cultivo, por lo que se debe estudiar de forma conjunta. Esta compleja relación de interdependencia se mantiene gracias a un intercambio de factores entre planta, suelo y microorganismos. Las plantas aportan minerales y compuestos orgánicos y a la vez reciben de los microorganismos simbiontes y asociados sales minerales, auxinas, citoquininas, vitaminas y aminoácidos (Bioversity, 2003).

## 5.2.COMUNIDAD MICROBIANA Y GRUPOS FUNCIONALES

Las alteraciones en los suelos, pueden ser medidas no solo a través de parámetros fisicoquímicos, si no también microbiológicos; teniendo en cuenta los cambios que puedan sufrir ciertas poblaciones microbianas en tamaño y actividad. (Tao et al. 1992, Requena et al. 1997, Lakzian et al. 2002 en Andrade G.2004; Smith 2001 en Fortubel F. 2004; Torres M. y Lizarazo L.M 2006).

La comunidad microbiana es definida por Atlas y Bartha (2002) como un ensamblaje de poblaciones de microorganismos que interaccionan entre ellas y con el ambiente. Dichas interacciones dependen de las poblaciones que la conforman y la distribución de las mismas en el espacio, confiriéndole a la comunidad atributos mediante los cuales es caracterizada en: estructura y función (Begon y col., 2006). La estructura de la comunidad puede ser medida y descrita en términos de composición de especies (diversidad), las cuales cumplen con funciones especializadas dentro del ecosistema (Atlas y Bartha, 2002). Por otro lado el análisis de las comunidades bacterianas permite inferir sobre las diversidades funcionales de los gremios o poblaciones que la conforman (Huber et al. 2004, Domínguez et al. 2006, Aly et al. 2008), permitiendo el aprovechamiento de consorcios, cepas y metabolitos bacterianos con actividades funcionales aprovechables por el hombre; lo cual involucra la caracterización de patrones y procesos que permiten predecir la estabilidad del ecosistema ante alteraciones y esclarecer las interacciones entre los organismos que lo componen y el ambiente, obteniendo una relación de tipo diversidad-función. Es decir, sus resultados constituyen una base importante para

entender parte de las relaciones entre las fuentes de carbono, nutrientes y contaminantes, con la actividad microbiana en el ecosistema. (Zamora y Ramos 2012).

Las interacciones entre las poblaciones que conforman la comunidad microbiana determinan la distribución espacial de las especies en función de la forma en cómo los recursos del hábitat son utilizados. Por tanto es frecuente encontrar grupos de especies diferentes que utilizan los mismos recursos, y a estos grupos de especies se les denomina gremio (Madigan y col., 2003). Análogamente, existe el concepto de grupo funcional, que se refiere al conjunto de organismos que muestran una respuesta similar al ambiente o tienen un efecto similar sobre la mayoría de los procesos del ecosistema (Gitay y Noble, 1997); cada grupo funcional está constituido por un número variable de especies, caracterizadas por la utilización de los recursos disponibles de manera similar y, por lo tanto, compiten entre ellas (Huston, 1994). Para delimitar un grupo funcional se hace una caracterización del perfil fisiológico de la comunidad, el cual refleja el potencial bioquímico del microorganismo para responder ante diversos sustratos o la presencia de enzimas particulares y rutas metabólicas (Buyer y Drinkwater, 1997; Bending y col., 2004). Por tal motivo, los grupos funcionales microbianos generalmente son interpretados como gremios; sin embargo, los gremios no discriminan entre macro y microorganismos, mientras que, los grupos funcionales pueden incluir varios gremios (Hooper y col., 2002).



### **5.3.FUNCIONES DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS.**

En el suelo se generan relaciones simbióticas entre los microorganismos y las plantas generando beneficios para ambos. Entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están su capacidad de fijar nitrógeno atmosférico, la descomposición de residuos orgánicos, la desintoxicación con plaguicidas, la supresión de enfermedades en las plantas, el aporte de nutrientes al suelo y la producción de compuestos bioactivos como vitaminas y hormonas que estimulan el crecimiento de las plantas (Martínez, 2002). La efectividad en el uso de microorganismos se logra cuando se dan las condiciones óptimas para metabolizar los sustratos, como disponibilidad de agua, oxígeno (dependiendo de si son aerobios obligados o anaerobios facultativos), pH y temperatura, así como la disponibilidad de fuentes energéticas. Durante muchos años numerosas investigaciones se han enfocado en el estudio de la dinámica de los microorganismos edáficos, determinando su función, estructura y procesos metabólicos para su posible uso en la agricultura, por tal razón se ha venido implementando a los microorganismos del suelo como biofertilizantes y agentes de control, para mejorar y aumentar la producción agrícola (Cervantes M. 2005; Suslov TV 1982 y Glick BR. 1995 en Osorio V.N 2007; Karthikeyan B. et al., 2008).

#### 5.4.TAXONOMÍA DE LA ESPECIE DE PLANTA *Erigeron bonariensis* L.



*Figura 1. Erigeron bonariensis* L.

Es una planta perteneciente a la clase Magnoliopsida (dicotiledóneas), de la familia *Asteraceae*, Es un planta pilosa pero no lanosa-tomentosa (o sea, no cubierta densamente con pelos entrelazados, que no dejen ver la superficie); sin pelos glandulosos; el tallo con dos tipos de pelos: cortos y pegados, y (pocos) largos y extendidas. Cabezuelas agrupadas en panículas flojas que con la edad se vuelven subcorimbosas, o sea, es una inflorescencia más bien abierta, no larga y angosta; cabezuelas con brácteas involúcras exteriores más cortas que las interiores; hojas frecuentemente sinuadas en el margen. Dentro de su descripción técnica Basada en Rzedowski y Rzedowski, 2001. Puede llegar a medir hasta un metro de altura, sus tallos son Erecto o algo ascendente, simple o con algunas ramificaciones en la base y luego en la inflorescencia, con rayas longitudinales, más o menos densas y rígidamente pubescentes con dos

tipos de pelos, sus hojas son Alternas, angostamente lineares a angostamente oblanceoladas, Inflorescencia: Cabezuelas agrupadas hacia el extremo superior de las ramas en forma de panículas flojas, su distribución geográfica es hallada en trópicos y subtrópicos como maleza; su preciso origen nativo se desconoce, pero se supone de Centroamérica o de Sudamérica. (Marzocca, A. 1976. Manual de malezas. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.).

### **5.5.BACTERIAS PERTENECIENTES AL GENERO *Pseudomona spp***

La familia *Pseudomonadaceae* está constituida por cocos y bacilos gramnegativos aerobios, es una mezcla compleja de patógenos oportunistas. Incluye los géneros *Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *frateuria* y *Zoogloea*. Las *Pseudomona spp* es uno de los cuatro géneros incluidos en esta familia, sus características generales son; bacilos rectos o ligeramente curvados de 0.5-1.0u x 1.5-5.0u gramnegativos, móviles por poseer uno o más flagelos polares, aerobios estrictos con un metabolismo de tipo respiratorio, quimiorganotrofos capaces de usar como única fuente de energía compuestos simples de carbono orgánico e inorgánico. Crecen desde 4°C y hasta 43°C. Algunas cepas tienen un aspecto mucoso debido a una abundante capsula polisacarida y también producen pigmentos difusibles, particularmente en medios deficientes de hierro (piocianina azul, fluoresceína (amarillo), piorrubina (rojo-marrón) o piomelina (café) (García y Zamudio 1998).

Cabe destacarse la función de estas bacterias como efecto benéfico directo relacionado con el crecimiento vegetal, a través de la síntesis de fitohormonas y de vitaminas, estimulación de la germinación de semillas y emergencia de plántulas, inhibición de la síntesis de etileno, solubilización de fósforo (P) inorgánico y de manera indirecta, por medio de síntesis de

antibióticos y fungicidas, competencia por nutrientes, producción de sideróforos o por la inducción de la resistencia sistémica a patógenos. Pueden también actuar como BCA (agente de control biológico), capaces de proteger a las plantas de la infección, causadas por agentes fitopatógenos (Siddiqui & Shaukat, 2003; Alves et al. 2004; Fgaier et al. 2008; Rosas et al. 2009).

En virtud de su capacidad de adaptación fisiológica y versatilidad metabólica, las bacterias del genero *Pseudomona spp* en las zonas de raíces de las plantas son un agente clave del cambio del suelo en los agro ecosistemas, con efectos positivos, en cuanto a tolerancia de altos contenidos de sales, aumento en los rendimientos de los cultivos y mejoras en la calidad del suelo, respecto a la disponibilidad de nutrientes; sin embargo, esta regulación está mediada por el quórum sensing de estos microorganismos, los cuales, se deben adaptar para alcanzar una alta proliferación y, de esta manera, se estimulan, se activan y se mantienen en la zona radicular, por medio de la liberación selectiva de los exudados y lixiviados, por parte de las plantas y otros microorganismos (Brown, 2010).

A su vez, este grupo de bacterias de la rizósfera son capaces de generar una amplia variedad de metabolitos secundarios, que pueden tener una influencia positiva (Sturz & Christie, 2003), sobre: El crecimiento y desarrollo de las plantas, mejoran la disponibilidad de minerales y nutrientes en el suelo, mejoran la capacidad de fijación de nitrógeno, mejoran la sanidad vegetal, a través del control biológico de fitopatógenos, inducen en las plantas la resistencia sistémica a las enfermedades, facilitan el establecimiento de plantas. De acuerdo a lo anterior, son muchos los beneficios que se le atribuyen a este tipo de microorganismos, cuando son estudiados de forma individual, ya que cada especie presenta capacidades específicas para ser utilizadas como PGPM (Microorganismos promotores de crecimiento vegetal). (Cano 2011).

## 5.6. CARACTERÍSTICA DEL GÉNERO *Pseudomonas* spp. EN SUELOS DE USO AGRÍCOLA.

El género *Pseudomonas* spp tiene como función metabólica la participación en procesos de biorremediación, entre ellos tenemos la degradación de n-alcános lo cual se realiza por oxidación con una hidroxilasa de *P. putida*; *P. mendocina* la cual convierte el tolueno a p-cresol. Otras rutas de biorremediación son la degradación de bifenilo, catabolizado a benzoato y 2 hidroxipenta -2, 4-dienoato por *Pseudomonas* spp. La atrazina puede ser degradada por cepas de *Pseudomonas* spp aisladas de sitios contaminados con herbicidas. En el campo de control biológico en plantas, la aplicación de *Pseudomonas* fluorescentes proporciona una de las estrategias más usadas, algunas cepas actúan como promotores de crecimiento de plantas, por supresión de patógenos, por incremento de la absorción de minerales por la planta o por secreción de fitohormonas y vitaminas; también se produce una inhibición de patógenos por la producción de metabolitos antimicrobianos o quelantes de hierro (García y Guerrero 2004).

Este grupo de bacterias además de participar en procesos de biorremediación, como microorganismos biocontroladores y promotores de crecimiento vegetal; también pueden ser patógenos oportunistas en animales (*P. aeruginosa*, *P. fluorescens*) y patógenos de plantas (*P. syringae*). Algunas bacterias de este grupo producen pigmentos fluorescentes de colores amarillo-verdosos, fácilmente solubles en agua. (Meyer et al.,2002). Estos pigmentos actúan como sideróforos: moléculas cuya función es capturar el hierro del medio necesario para el metabolismo del microorganismo. *Pseudomonas* spp Presentan una amplia versatilidad metabólica que se traduce en su capacidad para utilizar sustratos muy variados como fuente de

carbono. Dicha versatilidad se debe a la presencia de un gran número de plásmidos que contienen operones inducibles para la síntesis de enzimas específicas las cuales permiten catabolizar los compuestos presentes en el medio. Debido a ello, estas bacterias son capaces de colonizar un amplio rango de nichos (Madigan M., M. J., (Ed.) (2005).

### 5.7. TAXONOMÍA DE LA ESPECIE DE PLANTA *Portulaca oleracea* L.



*Figura 2. Portulaca oleracea* L.

Es una planta perteneciente a la clase Magnoliopsida (dicotiledonias), de la familia *portulacaceae*; es una planta suculenta postrada o en macolla. Las hojas son obovales y subsésiles, presenta una corta franja de cilios en la base. Las flores de color amarillo, son solitarias y axilares o terminales y en grupos. Tiene dos sépalos unidos en la base y 5 pétalos

libres, bilobulados. El fruto es una capsula dehiscente, que contiene muchas semillas orbiculares, finamente tuberculadas de color café o negro. Puede llegar a tener un tamaño de 5-40cm; presenta un Tallo Cilíndrico, grueso, rojizo, ramificado, con las ramas extendidas radialmente, su raíz es pivotante. Nuevas raíces se pueden desarrollar a partir de las ramas, Las hojas son opuestas, a veces alternas a lo largo del tallo, obovado-cuneadas a espatuladas, de 0.5 a 3 (5) cm de largo, por 0.2 a 1.5 cm de ancho. Una franja de cilios cortos está presente en la axila de las hojas. (Espinosa y Sarukhán, 1997).

Es una especie anual, pero puede persistir todo el año en suelos húmedos. Se multiplica por semillas. Estas son dispersas principalmente por el viento y el agua. Un individuo puede producir hasta 10000 semillas. Su proceso de germinación empieza con la temporada de lluvias que cubre los meses de abril o mayo. Las primeras flores se desarrollan muy rápido después de 3 o 4 semanas de crecimiento vegetativo. Las cápsulas se abren un mes posterior para liberar las semillas. Su producción de semillas está ligada a la humedad del suelo. Su rango de temperatura de crecimiento oscila entre 15 y 35 °C, puede florecer con foto periodos de 4-24 horas. Es una maleza particularmente importante en los cultivos irrigados. Está distribuida por todas las regiones calientes, tropicales y templadas. (Marzocca, A. 1976. Manual de malezas. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.).

### **5.8.BACTERIAS DEGRADADORES DE CELULOSA.**

La celulosa es la molécula biológica más abundante y constituye el mayor porcentaje de los biopolímeros en la tierra, siendo inclusive mayor que el de todos los demás juntos. Su estructura es lineal y está formada por 2000 a 14000 unidades de  $\beta$ -(1,4) glucosa en cadenas no ramificadas, unidas entre sí con enlaces tipo puente de hidrógeno. Es un biopolímero insoluble

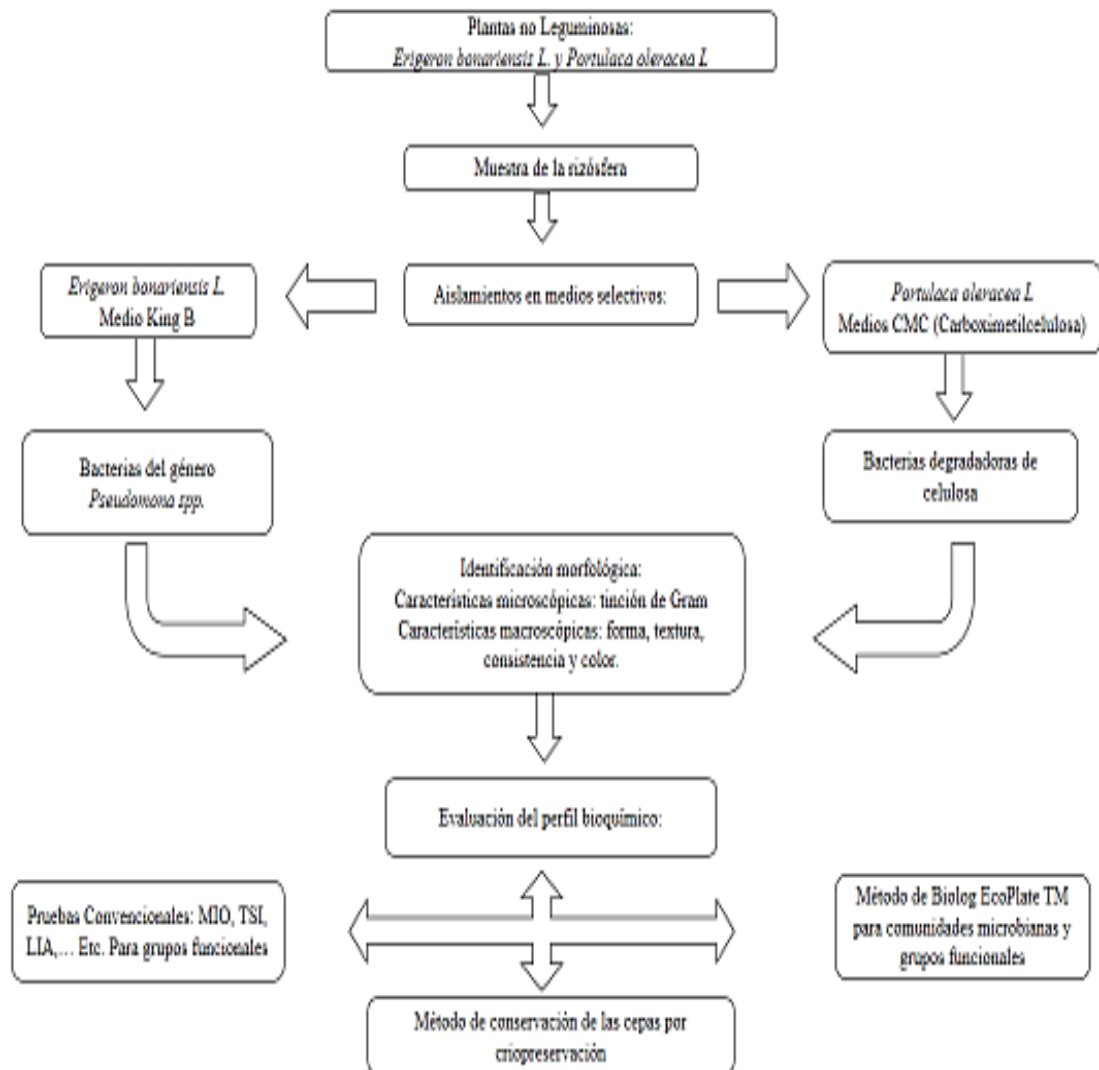
en agua que posee regiones con un alto ordenamiento (cristalinas), y otras donde el grado de ordenamiento es bajo. Presenta varias formas cristalinas, dando lugar al polimorfismo de la celulosa. (A. O'Sullivan, 1997) ( M. Akerholm, y L. Salmén, 2002) (M. Akerholm *et al.*, 2004).

## 5.9.MICROORGANISMOS CON POTENCIAL DE DEGRADACIÓN DE CELULOSA

El material celulósico es particularmente atractivo como fuente de carbono y energía debido a su bajo costo y su gran abundancia. Sin embargo, debido a su carácter recalcitrante solamente ciertos organismos (como bacterias y hongos) producen las enzimas necesarias para utilizarlo (Béguin & Aubert, 1994). Se han identificado dos importantes grupos con capacidades celulolíticas. El primero de ellos es el grupo anaeróbico, que comprende especies bacterianas y fúngicas habitantes de aguas residuales y suelos (Cazemier et al., 2003; Warnecke et al., 2007). Como ejemplos bacterianos pertenecientes a este grupo, se encuentran los géneros *Clostridium* (*Clostridium thermocellum*), *Ruminococcus* (*Ruminococcus albus*, *Ruminococcus flavefaciens*), *Acetivibrio cellulolyticus*, y *Bacteroides succinogenes*, (Forsberg&Groleau 1982; Béguin&Aubert 1993). El segundo grupo incluye especies aeróbicas habitantes de los suelos, especialmente los boscosos, tales como las bacterias *Cellulomonas* (Elberson et al., 2000), *Thermomonospora sp.*, *Cytophaga sp.*, *Corynebacterium sp.*, *Vibrio sp.*, *Bacillus sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Thermobifida* (Walter y Schrempf, 1996). *Cellvibrio sp.*, *Microbi sp.*, *orabispora*, y *Streptomyces* (Alani et al., 2008), Taxonómicamente los géneros *Streptomyces*, *Thermomonospora* y *Thermobifida* se ubican en el Orden Actinomicetales y son comúnmente denominados actinomicetos. (Murashima et al., 2002).



## 6. METODOLOGIA



Esquema 1. Diseño de la metodología para los aislamientos realizados.

### 6.1.LUGAR DE ESTUDIO

Las muestras fueron colectadas en suelos de uso agrícola en el Municipio de Villa María-Caldas, vereda Alquería a 1835 m.s.n.m, coordenadas (N 05° 01' 51,7" W 75° 31' 39").

### 6.2.MUESTREO DEL SUELO

Se llevó a cabo en el municipio de Villamaría, vereda Alquería, se seleccionaron 3 individuos de las especies de planta *Portulaca oleracea L.* y *Erigeron bonariensis* Respectivamente, en una área dedicada al cultivo comercial de hortalizas. Las especies de plantas fueron identificadas en el Herbario de la Universidad de Caldas. Se tomaron tres muestras de suelo a 70 cms de profundidad y se registraron variables fisicoquímicas tales como, Aluminio, Nitrógeno, Fosforo, Potasio, Calcio, Magnesio, Sodio, Hierro, Manganeso, Zinc, Cobre, Azufre y Boro. En cada punto de muestreo se realizó determinación de variables como humedad, temperatura, pH, textura y tipo de suelo, precipitación, contenido de oxígeno, contenido de dióxido de carbono. Las muestras del suelo fueron analizadas en el laboratorio de química y fertilidad de suelos, de la facultad de ciencias agropecuarias de la Universidad de Caldas sede Manizales. Las muestras se almacenaron en bolsa plástica limpia por separado en refrigeración a 4°C y se conservaron en neveras de icopor. El muestreo se realizó en el primer trimestre del año 2015.

### 6.3. AISLAMIENTO PRIMARIO

#### 6.3.1. AISLAMIENTO DE BACTERIAS DEL GÉNERO *Pseudomona spp.*

Se tomaron 10 gramos de suelo de un solo individuo de la planta *Erigeron bonariensis* L., y se mezclaron con 90 ml de agua destilada estéril, luego fue homogenizada la solución durante 10 minutos. A continuación se realizaron diluciones seriadas hasta  $10^7$  en volúmenes de 90ml de agua destilada y 10 ml de la solución de la muestra para la primera dilución. Se realizaron siembras en los medios específicos King B para el aislamiento de *Pseudomona spp* (Medio King B: agregar 20gr de peptona; 1.5gr de  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 1.8gr de  $K_3PO \cdot 3H_2O$ ; 10gr de agar y por ultimo 10ml de glicerina aforar a 1000ml con agua destilada y ajustar el pH a 7.2 con NaOH 1M). Estos medios fueron esterilizados y se sirvieron en cajas de Petri de 17mm. (Alef, Nannipieri 1995). Finalmente se inoculo 0,1ml de cada dilución seriada. Las inoculaciones se realizaron por duplicado. Se llevaron a incubar a 37°C durante 3 días.

Posteriormente, Se realizó un aislamiento de las colonias más relevantes en medio PDA para determinar las características macroscópicas de las colonias correspondientes. *Ver anexo I*

#### 6.3.2. AISLAMIENTO DE BACTERIAS DEGRADADORAS DE CELULOSA

Se tomaron 10gr de suelo de un solo individuo de la planta *Portulaca oleracea* L y se mezclaron con 90 ml de agua destilada estéril, luego fue homogenizada la solución durante 10 minutos. A continuación realizaron diluciones seriadas hasta  $10^8$ ; en volúmenes de 90 ml de agua destilada y 10 ml de la solución de la muestra para la primera dilución. Se realizaron siembras en los medios específicos CMC para el aislamiento de bacterias degradadoras de celulosa (CMC: agregar 12gr de agar bacteriológico; 0.3gr de  $NH_4NO_3$ ; 0.0125gr de  $MnSO_4 \cdot H_2O$ ;

0.01gr de FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O; 0.5gr de MgSO<sub>4</sub>; 1.0 gr de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> y por ultimo 10 gr de CMC aforar hasta 1000ml con agua destilada y ajustar pH a 7 con NaOH 1M). Estos medios fueron esterilizados y se sirvieron en cajas de Petri de 17mm (Alef, Nannipieri 1995). Finalmente se inoculo 0,1ml de cada dilución seriadas. Las inoculaciones se realizaron por duplicado. Se llevaron a incubar a 37°C durante 5 días.

Posteriormente se realizó un aislamiento de las colonias más relevantes en medio PDA para determinar las características macroscópicas de ellas. *Ver anexo 1.*

#### **6.4.CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA DE BACTERIAS DEL GÉNERO**

##### ***Pseudomona spp.* Y BACTERIAS DEGRADADORAS DE CELULOSA**

La identificación morfológica de las colonias aisladas se realizó mediante una visualización macroscópica en agar PDA determinando sus características de crecimiento en cuanto a forma, textura, consistencia, borde y color; este procedimiento se llevó a cabo a través de un estereoscopio y para el análisis microscópico se realizó tinción de Gram de cada una de las colonias.

#### **6.5.IDENTIFICACIÓN BIOQUÍMICA DE LAS BACTERIAS DEL GÉNERO**

##### ***Pseudomona spp* Y BACTERIAS DEGRADADORAS DE CELULOSA.**

Se realizaron pruebas bioquímicas convencionales para la identificación taxonómica en la categoría de género mediante las siguientes pruebas: MIO, TSI, LIA, CITRATO, UREA, GELATINA, MEDIO LITMUS-MILK, Agar ALMIDON, Agar MRVP, GLUCOSA1%,

MALTOSA 1%, LACTOSA 1%, SACAROSA 1%, caldo RAFINOSA 1%, caldo MANITOL 1%, caldo ARABINOSA 1%, caldo SORBITOL 1%, caldo INOSITOL 1%, test catalasa, test oxidasa y el medio de NITRATO GLUCOSA.( Holt, et al, 1994).

## **6.6.PERFIL FISIOLÓGICO DE LA COMUNIDAD MICROBIANA ASOCIADA A LA RIZÓSFERA EN LAS ESPECIES DE PLANTA *Erigeron bonariensis L.* y *Portulaca oleracea L.***

### **6.7.MÉTODO ECOPLATE**

#### **6.7.1. Evaluación de las comunidades microbianas y diversidad funcional de las bacterias del género *Pseudomona spp.* y bacterias degradadoras de celulosa.**

Para la evaluación de las comunidades microbianas de cada especie de planta se llevó a cabo sumergiendo individualmente las raíces de ambas especies de plantas en un litro de solución salina tamponada con fosfato estéril -PBS (8,5 g NaCl , 0,3 g de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> , 1,12 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O , en un 1 L de agua destilada y ajustar a un pH 6,8) . Del suelo adherido a las raíces, se tomaron 2gr y se suspendieron en 18 ml de PBS (dilución 10<sup>1</sup>); Después, se añadieron 3 ml de esta dilución a 27 ml de PBS y las diluciones posteriores se hicieron hasta quedar en 0,5 en la escala de Macfarlánd. De cada dilución, se tomaron 100 µl de la suspensión células añadiendo a la placa The Biolog EcoPlates<sup>TM</sup>; compuestas de 31 sustratos de carbono con tres repeticiones y el control (agua). Los sustratos fueron divididos en seis categorías: carbohidratos, ácidos carboxílicos, aminas, aminoácidos, carbono complejo y carbono fosfato. (ver anexo 2). Después de la introducción de las suspensiones de suelo, cada placa se incubó a temperatura

ambiente en cámara de húmeda para evitar la evaporación y mantener una humedad constante. Los cambios de color de tetrazolio (sin color) en formazán (púrpura) de cada celda se registran después de 5 días de incubación a 37°C de acuerdo a su presencia o ausencia utilizando 1 y 0. A partir de ello se calcula el porcentaje de la diversidad funcional para la comunidad microbiana en la rizósfera de cada especie de planta (*Erigeron bonariensis* y *Portulaca oleracea* L) basado en Mulcahy y Edenborn (2007).

Para la evaluación de los grupos funcionales se llevó a cabo realizando mezclas equivalente independiente de las colonias para la identificación de *Pseudomona spp* y para las bacterias degradadoras de celulosa aisladas anteriormente en medio PDA; realizando el mismo protocolo anterior.

#### **6.8. CARACTERIZACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEGRADADORA DE CELULOSA POR MEDIO DE LA REVELACIÓN DE ROJO CONGO.**

Se realizó un enriquecimiento de los microorganismo obtenidos en caldo nutritivos y en caldo DYS (5ml en cada tubo) ( ver Anexo 1) en incubación con agitación durante 48 horas a 30°C a 150 rpm; posterior se llevó a la centrifuga a 3500 rpm durante 15 minutos realizando tres lavados previos de las células con solución salina estéril al 0,85%, se ajustó el espectrofotómetro a una densidad óptica con longitud de onda de 600 nm, después se llevó a cabo una suspensión de células con una absorbancia determinada que oscilara entre 0.9 -1, una vez obtenida esta absorbancia se procedió a sembrar 20µl por triplicado en cada medio CMC y posterior se llevaron a incubación a una temperatura de 30 °C durante 4 días.

Después de obtener el crecimiento celular en el medio CMC se aplicó la solución de rojo Congo y se incubó durante 15 minutos a 23 °C; se retira el exceso de colorante realizando tres lavados con NaCl al 1M durante 10 minutos,. A partir de ello se determinan los halos de hidrolisis de celulosa calculándolos mediante índices relativos.

Fórmula para el cálculo de los índices

$A+B/B$

A= diámetro de del halo más la colonia (mm)

B= es el diámetro de la colonia (mm)

## **6.9.CONSERVACIÓN DE LAS CEPAS MEDIANTE LA TÉCNICA DE CRIO PRESERVACION.**

La conservación de las cepas se realizó con aceite mineral llevándolas a una temperatura de 20°C, se sacaron tres réplicas de cada cepa para su conservación.

## 7. RESULTADOS

### 7.1. ANALISIS FISICOQUIMICO DEL SUELO

El suelo analizado mostro un pH relativamente acido; lo que favorece la actividad microbiana la textura se clasifico como arenosa franco; se obtuvieron resultados estables de las concentraciones de Nitrógeno, potasio y calcio; se presentó una concentración mayor en compuesto como Hierro, Fosforo, Manganeso, Zinc, Cobre y Azufre, contribuyendo al alto contenido de materia orgánica y nutrientes presentes en el suelo para las dos especies de plantas *Erigeron bonariensis L.* y *Portulaca oleracea L.*; como se muestra en la Tabla 1. Figura 3 y 4

Tabla 1. Resultados de los análisis de las variables fisicoquímicas del suelo.

		UNIDADES		NIVELES DE REFERENCIA			
		<i>Erigeron bonariensis L.</i>	<i>Portulaca oleracea L.</i>	Cal	BAJO	MEDIO	ALTO
		12356	12357				
		5,6	5,9				
<b>pH</b>							
<b>Nitrógeno</b>	%	0,36	0,35				
<b>Fosforo</b>	mg/kg	24	204	A	<20,0	20,0 – 40,0	>40,0
<b>Potasio</b>	Cmol(+)/kg	0,33	0,20	M	<0,2	0,2 – 0,4	>0,4
<b>Calcio</b>	Cmol(+)/kg	3,39	4,71	M	<3,0	3,0 – 6,0	>6,0
<b>Magnesio</b>	Cmol(+)/kg	0,67	1,15	B	<1,5	1,5 – 2,5	>2,5
<b>Sodio</b>	Cmol(+)/kg	0,182	0,183	B	<0,5	0,5 – 1,0	>1,0
<b>Hierro</b>	mg/kg	183	143	A	<25,0	25,0 – 50,0	>50,0
<b>Manganeso</b>	mg/kg	9,03	14,89	A	<5,0	5,0 – 10,0	>10,0
<b>Zinc</b>	mg/kg	7,27	18,56	A	<1,5	1,5 – 3,0	>3,0
<b>Cobre</b>	mg/kg	6,09	7,16	A	<1,5	1,5 – 3,0	>3,0
<b>Azufre</b>	mg/kg	23,62	32,82	A	<10,0	10,0 – 20,0	>20,0
<b>Boro</b>	mg/kg	1,4	1,4	A	<0,2	0,2 – 0,4	>0,4
<b>Arena</b>	%	80	80				
<b>Limo</b>	%	20	20				
<b>Arcilla</b>	%	0	0				
<b>Textura</b>	%	A-F	A-F				

Calificación: B= bajo; M= medio; A= alto; ND= no determinado



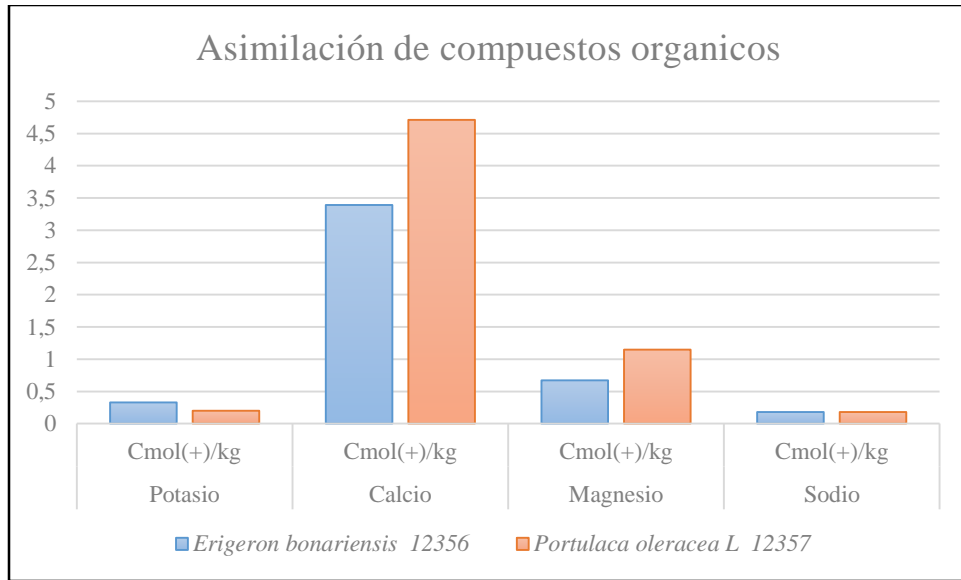


Figura 3. Análisis de las variables fisicoquímicas del suelo. (Cmol (+)/Kg)

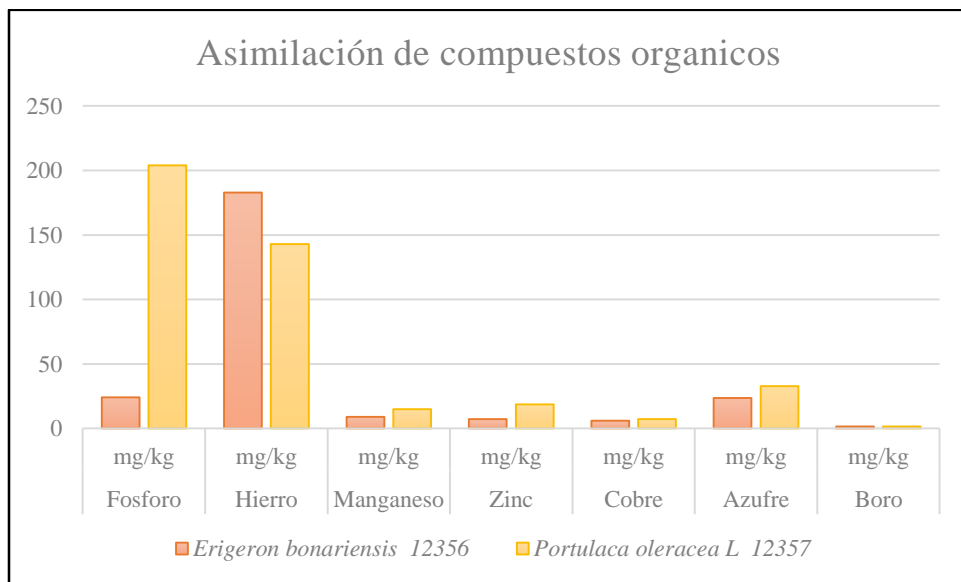


Figura 4. Análisis de las variables fisicoquímicas del suelo. (Mg/Kg)

## 7.2. CRECIMIENTO Y SELECCIÓN DE LAS COLONIAS EN EL MEDIO KING B Y

### CMC

#### 7.2.1. Crecimiento y selección de las colonias en el medio King B de la planta *Erigeron bonariensis* L.

En el medio de cultivo King B se obtuvieron crecimientos en todas las diluciones realizadas, lográndose aislar e identificar varios tipos de colonias con características determinadas como pueden observarse en la siguiente Tabla 2.

Tabla 2. Caracterización morfológica macroscópica de los aislamientos de colonias del medio King B de la planta *Erigeron bonariensis* L.

CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS	SELECCIÓN DE COLONIAS EN MEDIO KING B									
	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3	Colonia 4	Colonia 5	Colonia 6	Colonia 7	Colonia 8	Colonia 9	Colonia 10
<b>Consistencia</b>	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Seca	Seca	Cremosa	Cremosa	Cremosa
<b>Forma</b>	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular
<b>Color</b>	Rosa pálido	Blanco	Blancas	Amarillo	Blancas	Rosada	Salmon	Blancas	Amarilla	Amarilla
<b>Apariencia</b>	Brillante	Brillante	Brillante	Brillante	Brillante	Mate	Mate	Brillante	Brillante	Brillante
<b>Bordes</b>	Regular	Regular	Regular	Regular	Regular	Regular	Regular	Regular	Regular	Regular

#### 7.2.2. Crecimiento y selección de las colonias en el medio CMC de la planta *Portulaca oleracea* L.

En el medio de cultivo CMC se obtuvieron crecimientos en todas las diluciones realizadas, lográndose aislar e identificar varios tipos de colonias con características determinadas como pueden observarse en la siguiente Tabla 3.

Tabla 3. Caracterización morfológica macroscópica de los aislamientos en medios específico CMC de la planta *Portulaca oleracea* L.

## SELECCIÓN DE COLONIAS EN MEDIO CMC

CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3	Colonia 4	Colonia 5	Colonia 6	Colonia 7	Colonia 8	Colonia 9
<b>Consistencia</b>	Seca	Seca	Seca	Seca	Cremosa	Cremosa	Seca	Seca	Seca
<b>Forma</b>	Circular-Filamentosa	Circular	Puntiforme	Rizoide	Circular	Puntiforme	Circular	Circular	Circular
<b>Color</b>	Blanca	Blanco opalescente	Blanco opalescente	Blanco opalescente	Opalescente	Rosa Pálido	Café claro	Blancas	Transparente
<b>Apariencia</b>	Mate	Mate	Mate	Mate	Brillante	Traslucida	Mate	Mate	Mate
<b>Bordes</b>	Regular	Irregular	Regular	Ondulado	Regular	Regular	Irregular	Regular	Irregular

CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS	Colonia 10	Colonia 11	Colonia 12	Colonia 13	Colonia 14	Colonia 15	Colonia 16
<b>Consistencia</b>	Seca	Seca	Seca	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Cremosa
<b>Forma</b>	Circular	Filamentosa	Circular	Circular	Circular	Circular	Circular
<b>Color</b>	Traslucida Opaca	Verdosa	Traslucida	Blanco	Traslucida	Traslucida	Traslucida
<b>Apariencia</b>	Mate	Mate	Mate	Brillante	Opaca	Opaca	Opaca
<b>Bordes</b>	Regular	Filamentosa	Regular	Irregular	Irregular	Irregular	Irregular

### 7.3. CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA Y MICROSCÓPICA DE LAS COLONIAS SELECCIONADAS.

#### 7.3.1. Caracterización macroscópica y microscópica de las colonias seleccionadas de planta *Erigeron bonariensis* L.

Con los aislamientos seleccionados se realizaron siembras en medio PDA para la caracterización correspondiente de cada una de las colonias. Las características se pueden observar en la Tabla 4. *ver anexo 3.*

Tabla 4. Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de los aislamientos en medios en medio PDA de la planta *Erigeron bonariensis* L.

CARACTERIZACION MACROSCOPICA DE LAS COLONIAS AISLADAS EN MEDIO PDA										
	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3	Colonia 4	Colonia 5	Colonia 6	Colonia 7	Colonia 8	Colonia 9	Colonia 10
<b>Consistencia</b>	Cremosa	Cremosas	Cremosa	Cremosa	Cremosa - mucoide	Cremosas	Cremosa	Seca	Cremosa	Cremosa
<b>Forma</b>	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas	Puntiforme	Redondas	Redondas	Puntiforme	Puniforme
<b>Color</b>	Rosado pálido	Beige	Blanco-pigmentación amarilla	Blanco-pigmentación amarilla	Blanco-fenómeno de swimming	Marrón	Marrón	Blancas	Amarillo	blanco-pigmentación amarilla
<b>Apariencia</b>	Brillantes	Brillantes	Brillante	Brillantes	Brillantes	Brillantes	Brillante	Opacas	Brillante	Brillante
<b>Bordes</b>	Regular	Regular	Regular	Regular	Irregular	Regular	Regular	Regular	Regular	Regular
<b>Elevación</b>	Convexas	Convexas	Convexas	Convexas	Convexas	Convexas	Convexas	Convexas	Convexa	Convexa
<b>Observaciones</b>	Crecimiento a las 120 h de incubación	Crecimiento a las 120 horas de incubación	Crecimiento a las 48 horas de incubación	Crecimiento a las 24 h de incubación	Crecimiento a las 120 h de incubación	Crecimiento a las 120 horas de incubación	Crecimiento a las 120 horas de incubación	Crecimiento a las 48 h de incubación	Crecimiento a las 120 horas de incubación	Crecimiento a las 120 h de incubación
TINCION DE GRAM										
	Bacilos cortos Gram negativos.	Bacilos cortos Gram negativos	Bacilos cortos Gram negativos	Bacilos cortos Gram negativos	Bacilos cortos Gram negativos	Bacilos cortos Gram negativos.	Bacilos cortos Gram negativos	Bacilos cortos Gram negativos	Bacilos cortos Gram negativos	Bacilos cortos Gram negativos

### 7.3.2. Caracterización macroscópica y microscópicas de las colonias seleccionada de la planta *Portulaca oleracea* L.

Con los aislamientos seleccionados se realizaron siembras en medio PDA para la caracterización correspondiente de cada una de las colonias. Las características se pueden observar en la Tabla 5. *Ver anexo 4.*

Tabla 5. Caracterización morfológica macroscópica y microscópica de los aislamientos en medio PDA de la planta *Portulaca oleracea* L.

**CARACTERIZACIÓN MACROSCÓPICA DE LAS COLONIAS AISLADAS EN MEDIO PDA**

	Colonia 1	Colonia 2	Colonia 3	Colonia 4	Colonia 5	Colonia 6	Colonia 7	Colonia 8	Colonia 9
<b>Consistencia</b>	Cremosa	Seca	Cremosa	Cremosa	Cremosa	Seca - Cremosa	Seca- Algodonosa	Cremosa	Cremosa
<b>Forma</b>	Puntiformes	Redondas	Rizoide	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas
<b>Color</b>	Blancas	Blanco-halos opalescentes	Marrón	Blancas- halos radiales	Blanco	Blancas	Blancas	Pigmentación amarilla- verdosa	Blancas
<b>Apariencia</b>	Brillantes	Mate	Secas	Brillantes	Brillantes	Opaca- Brillante	Mate	Brillante	Opaca
<b>Bordes</b>	Regular	Irregulares	Ondulado	Ondulados	Regulares	Ondulados- Regulares	Regulares	Regulares	Regulares
<b>Elevación</b>	Cónvexas	Plana	Umbilicada	Pulvinada	Convexa	Cónvexas	Umbilicada	Convexas	Convexas
<b>Observaciones</b>	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 120 horas de Incubación	Crecimiento a las 120 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación

**TINCIÓN DE GRAM**

Bacilos Gram negativos	Bacilos Gram positivos largos y esporulados	Bacilos Gram positivos largos formando ramificaciones.	Bacilos Gram negativos gruesos esporulados.	Bacilos Gram negativos gruesos	Bacilos Gram negativos gruesos	Bacilos Gram negativos gruesos esporulados	Bacilos Gram positivos largos y filamentosos, conidios en cadena	Bacilos Gram negativos alargados	Bacilos Gram negativos gruesos esporulados
------------------------------	---	--	--	--------------------------------------	--------------------------------------	---	---	--	---

	Colonia 10	Colonia 11	Colonia 12	Colonia 13	Colonia 14	Colonia 15	Colonia 16	Colonia 17
<b>Consistencia</b>	Cremosa	Creosas- mucoide	Seca	Cremosa- mucoide	Cremosa	Cremosa	Seca- Cremosa	Creosas- mucoide
<b>Forma</b>	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas	Redondas	Invasivas
<b>Color</b>	Blancas	Pigmentación amarilla	Blancas con pigmentación en el centro de color café	Blancas	Blanco	Blancas	Blancas	blancas- pigmentación ligera amarilla
<b>Apariencia</b>	Brillantes	Brillantes	Mate	Brillantes	Opaca	Brillantes	Opaca- Brillantes	Brillantes
<b>Bordes</b>	Regulares	Regulares	Ondulados	Regulares	Regulares	Regulares	Regulares	Regulares
<b>Elevación</b>	Convexas	Convexas	Umbilicada	Convexas	Convexa	Convexas	Convexas	Plana
<b>Observaciones</b>	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 120 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación	Crecimiento a las 72 horas de Incubación

**TINCIÓN DE GRAM**

Cocos Gram negativos.	Cocos y Bacilos Gram negativos	Bacilos Gram positivos largos filamentosos, conidias en cadena	Bacilos Gram negativos	Cocos y Bacilos Gram gruesos negativos	Bacilos Gram negativos	Bacilos Gram negativos esporulados	Bacilos Gram negativos
-----------------------	--------------------------------	--	------------------------	--	------------------------	------------------------------------	------------------------

## 7.4. CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE LOS AISLAMIENTOS

### 7.4.1. Caracterización bioquímica de las colonias aisladas en el medio de cultivo PDA de la planta *Erigeron bonariensis* L.

Una vez realizada la caracterización de las colonias aisladas se procedió a llevar a cabo la identificación bioquímica a través de pruebas convencionales. Obteniéndose los siguientes resultados evidenciados en la Tabla 6.

Tabla 6. Caracterización bioquímica de las colonias aisladas del medio PDA de la planta *Erigeron bonariensis* L.

PRUEBAS BIOQUIMICAS					
	COLONIA 1	COLONIA 2	COLONIA 3	COLONIA 4	COLONIA 5
<b>CATALASA</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>OXIDASA</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Motilidad</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Indol</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
<b>Lisina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<b>Arginina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<b>Ornitina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Citrato de Simmons</b>	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo
<b>Gelatina</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Urea</b>	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo
<b>Almidón</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Glucosa nitrato</b>	Negativo	Fermentativo	Negativo	Fermentativo	Fermentativo
<b>Litmus milk</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>MRVP</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>FERMENTACION DE:</b>					
<b>Glucosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Negativo
<b>Lactosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez

<b>Maltosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Sacarosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Arabinosa</b>	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Rafinosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Inositol</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Negativo
<b>Sorbitol</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Negativo
<b>Manitol</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez

	<b>COLONIA 6</b>	<b>COLONIA 7</b>	<b>COLONIA 8</b>	<b>COLONIA 9</b>	<b>COLONIA 10</b>
<b>CATALASA</b>	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>OXIDASA</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Motilidad</b>	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Indol</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo
<b>Lisina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<b>Arginina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<b>Ornitina</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Citrato de Simmons</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
<b>Gelatina</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Urea</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<b>Almidón</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Glucosa nitrato</b>	Negativo	Oxidativo	Negativo	Oxidativo	Oxidativo
<b>Litmus milk</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>MRVP</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
<b>FERMENTACION DE:</b>					
<b>Glucosa</b>	Turbidez	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez
<b>Lactosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Negativo	Turbidez
<b>Maltosa</b>	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Sacarosa</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez
<b>Arabinosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Rafinosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Inositol</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez
<b>Sorbitol</b>	Turbidez	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez
<b>Manitol</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Turbidez

#### 7.4.2. Caracterización bioquímica de las colonias aisladas en el medio de cultivo PDA de la planta *Portulaca oleracea L.*

Una vez realizada la caracterización de las colonias aisladas se procedió a llevar a cabo la identificación bioquímica a través de pruebas convencionales. Obteniéndose los siguientes resultados evidenciados en la Tabla 7.

Tabla 7. Caracterización bioquímica de las colonias aisladas del medio PDA de la planta *Portulaca oleracea L.*

PRUEBAS BIOQUIMICAS								
	COLONIA 1	COLONIA 2	COLONIA 3	COLONIA 4	COLONIA 5	COLONIA 6	COLONIA 7	COLONIA 8
<b>CATALASA</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>OXIDASA</b>	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo
<b>Motilidad</b>	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo
<b>Indol</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Lisina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<b>Arginina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo
<b>Ornitina</b>	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Citrato de simmons</b>	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo
<b>Gelatina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo
<b>Urea</b>	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo
<b>Almidón</b>	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Glucosa nitrato</b>	Oxidativo	Negativo	Negativo	Fermentativo	Oxidativo	Oxidativo	Oxidativo	Fermentativo
<b>Litmus milk</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>MRVP</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>FERMENTACION DE:</b>								
<b>Glucosa</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Lactosa</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Maltosa</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Sacarosa</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Arabinosa</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Rafinosa</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Inositol</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Sorbitol</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Manitol</b>	Turbidez	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Negativo



	COLONIA 9	COLONIA 10	COLONIA 11	COLONIA 12	COLONIA 13	COLONIA 14	COLONIA 15	COLONIA 16	COLONIA 17
<b>CATALASA</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>OXIDASA</b>	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Motilidad</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Indol</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Lisina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Arginina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Ornitina</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Citrato de Simmons</b>	Negativo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>Gelatina</b>	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Positivo
<b>Urea</b>	Positivo	Negativo	Positivo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo
<b>Almidón</b>	Negativo	Negativo	Positivo	Positivo	Positivo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>Glucosa nitrato</b>	Oxidativo	Fermentativo	Oxidativo	Oxidativo	Fermentativo	Fermentativo	Oxidativo	Oxidativo	Fermentativo
<b>Litmus milk</b>	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo	Positivo
<b>MRVP</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo	Negativo
<b>FERMENTACION DE:</b>									
<b>Glucosa</b>	Turbidez	Turbidez /Gas	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Lactosa</b>	Turbidez	Turbidez /Gas	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Maltosa</b>	Turbidez	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez
<b>Sacarosa</b>	Turbidez	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Arabinosa</b>	Turbidez	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Rafinosa</b>	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Negativo	Negativo	Turbidez
<b>Inositol</b>	Turbidez	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Sorbitol</b>	Turbidez	Turbidez	Negativo	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez	Turbidez
<b>Manitol</b>	Negativo	Negativo	Negativo	Turbidez	Turbidez	Negativo	Negativo	Negativo	Turbidez

## 7.5.EVALUACIÓN DE LA DIVERSIDAD FUNCIONAL Y METABÓLICA A TRAVÉS DEL MÉTODO THE BIOLOG ECOPLATES™

### 7.5.1. Evaluación de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog EcoPlates™ de la comunidad microbiana de la planta *Erigeron bonariensis* L.

Se realizó el análisis de la diversidad metabólica y funcional de la comunidad microbiana a través del método The Biolog EcoPlates™. La caracterización metabólica de la comunidad microbiana de la planta *Erigeron bonariensis L.* determinó que de 31 fuentes carbonadas, se metabolizaron 22 de ellas; correspondientes al 71% de diversidad funcional. El análisis de las fuentes carbonadas se observa en la figura 5. *Ver Anexo 5.*

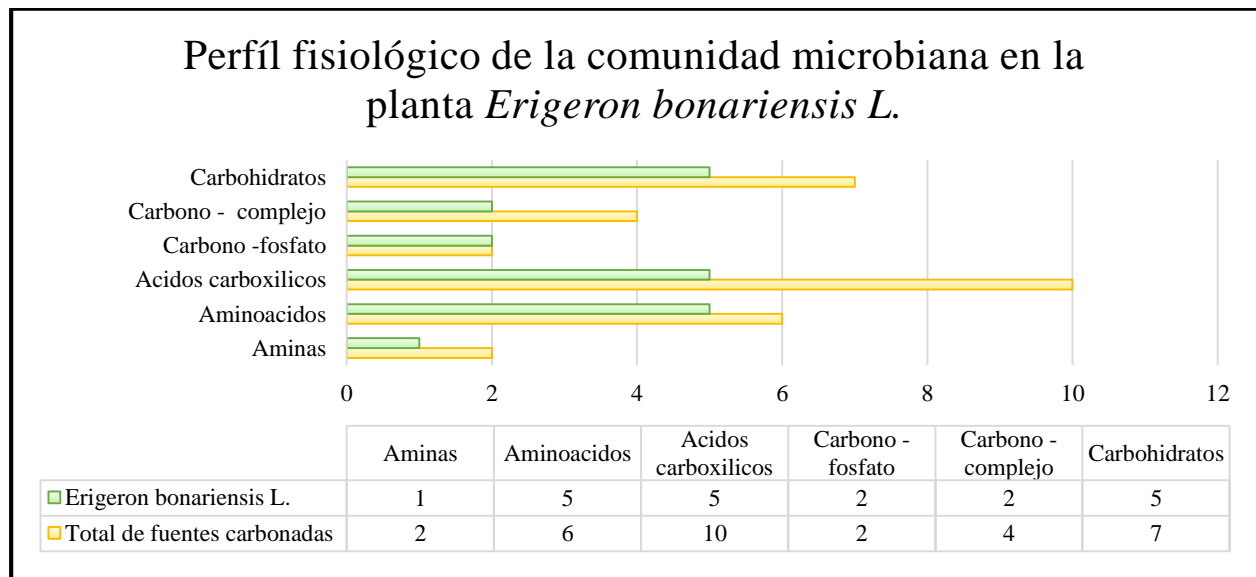


Figura 5. Determinación de fuentes carbonadas de la comunidad microbiana de la especie de planta *Erigeron bonariensis L.*

**7.5.2. Evaluación de la diversidad funcional de las bacterias del género *Pseudomona spp.* en la planta *Erigeron bonariensis L.***

Se realizó el análisis de la diversidad metabólica y funcional de las bacterias del genero *Pseudomona spp* a través del método de Biolog EcoPlates™ en la planta *Erigeron bonariensis L.* la caracterización metabólica de las bacterias del genero *Pseudomona spp* de la planta *Erigeron bonariensis L* determino que de 31 fuentes de carbono se metabolizaron 19, correspondiente al 61% de diversidad funcional. El análisis de las fuentes carbonadas para el grupo funcional se observa en la figura 6. *Ver Anexo 6.*

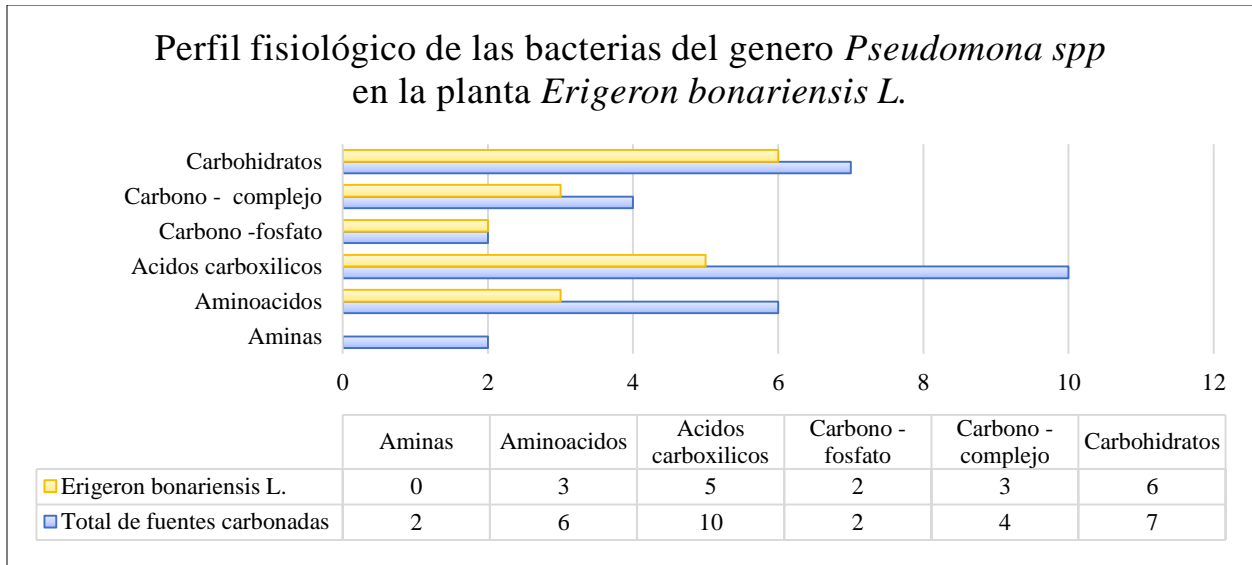


Figura 6. Determinación de fuentes carbonadas del grupo funcional de bacterias del género *Pseudomona spp.* de la especie de planta *Erigeron bonariensis L.*

Para el grupo funcional de bacterias del género *Pseudomona spp.* Se pudo determinar que las fuentes carbonadas más utilizadas por esta tipo de población son los carbohidratos, seguido del carbono –complejo y la fuente de menor asimilación fueron las aminas.

**7.5.3. Evaluación de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog EcoPlates™ de la comunidad microbiana de la planta *Portulaca oleracea L.***

Se realizó el análisis de la diversidad metabólica y funcional de la comunidad microbiana a través del método The Biolog EcoPlates™. La caracterización metabólica de la comunidad microbiana de la planta *Portulaca oleracea L.* determinó que de 31 fuentes carbonadas, se metabolizo 26; correspondiente al 83% de diversidad funcional. El análisis de las fuentes carbonadas se observa en la figura 7. Ver Anexo 7.

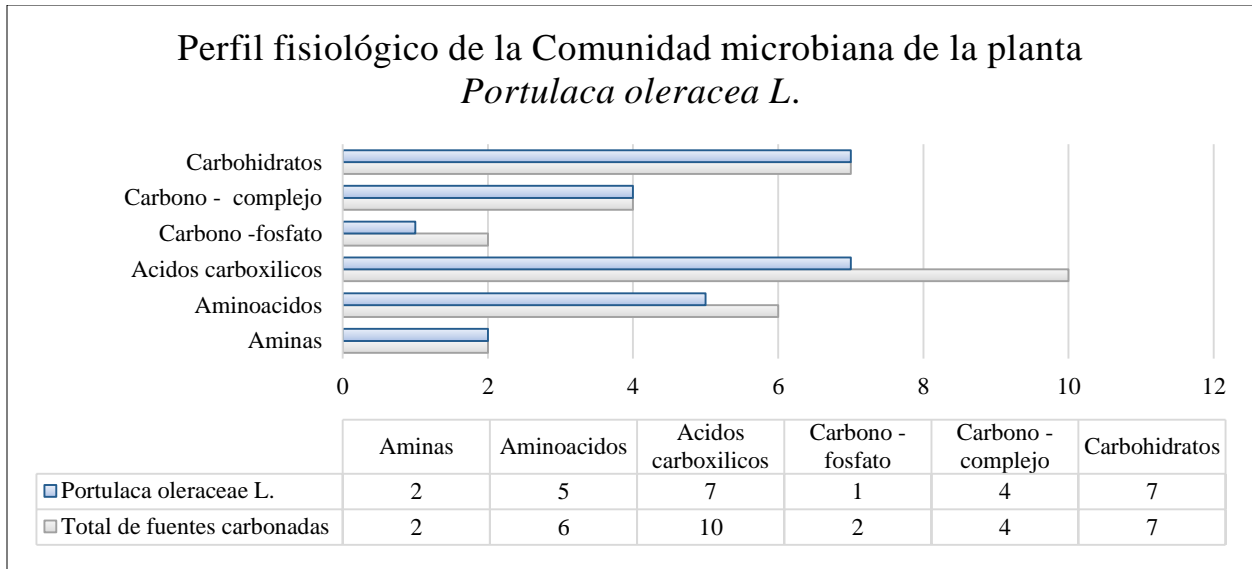


Figura 7. Determinación de fuentes carbonadas de la comunidad microbiana de la especie de planta *Portulaca oleracea L.*

#### 7.5.4. Evaluación de la diversidad funcional de las bacterias degradadoras de celulosa en la planta *Portulaca oleracea L.*

Se realizó el análisis de la diversidad metabólica y funcional de las bacterias degradadoras de celulosa a través del método de Biolog EcoPlates™ en la planta *Portulaca oleracea L.* La caracterización metabólica de las bacterias degradadoras de celulosa de la planta *Portulaca oleracea L.* determino que de 31 fuentes de carbono se metabolizo 27, correspondiente al 97% de diversidad funcional. El análisis de las fuentes carbonadas se observa en la figura 8. Anexo 8.

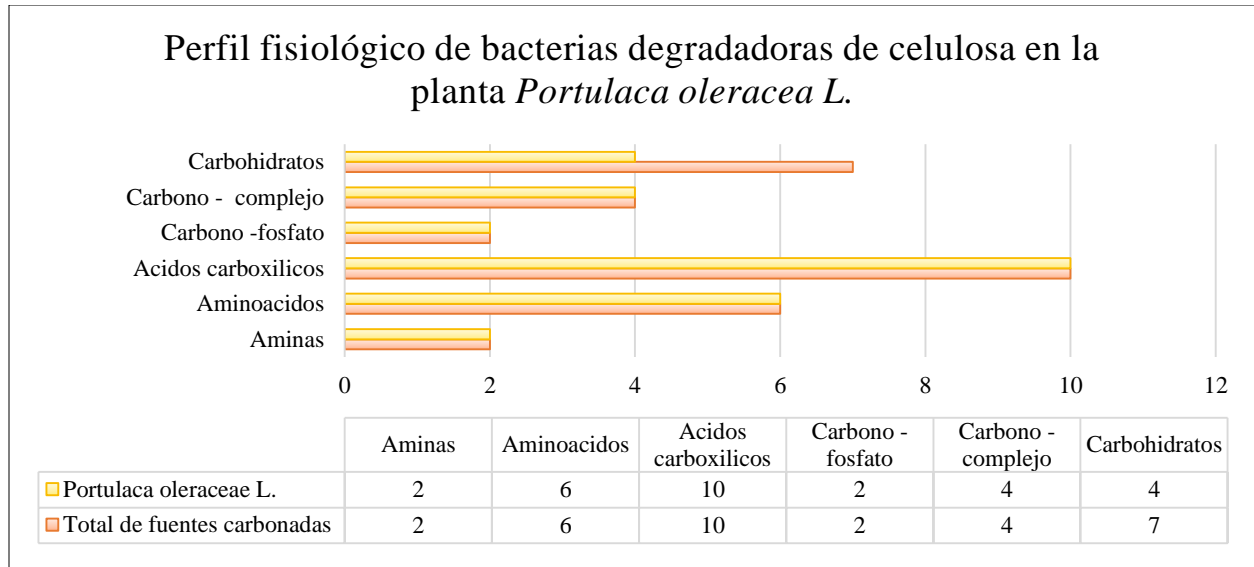


Figura 8. Determinación de fuentes carbonadas del grupo funcional de bacterias degradadoras de celulosa de la especie de planta *Portulaca oleracea L.*

Para el grupo funcional de bacterias degradadoras de celulosa se pudo determinar que todas las fuentes carbonadas tuvieron asimilación exceptuando los carbohidratos que fue en menor proporción de asimilación.

### 7.6.IDENTIFICACIÓN DE LA ACTIVIDAD DEGRADADORA DE CELULOSA CON ROJO CONGO

El enriquecimiento de las colonias se llevó a cabo inicialmente en caldo nutritivo dando un crecimiento satisfactorio de la mayoría de la colonias entre ellas tenemos: 1,4,5,7,8,9,10,14 y 16; como algunas de las colonias no crecieron en este caldo se sembraron en caldo DYS presentando un notorio crecimiento entre ellas tenemos colonias 2,3,6,11,12,13,15 y 17

### 7.6.1. Aislamientos de CMC con revelación de rojo Congo.

Para la revelación de la actividad degradadora de celulosa de cada una de las colonias se obtuvieron los siguientes resultados: Los aislamientos 2, 3, y 12 fueron las que presentaron mayor índice de hidrólisis de la celulosa, esto nos indica que este tipo de microorganismo contiene un gran potencial enzimático de células catalizando la hidrólisis de la celulosa en azúcares simples. A mayor índice de hidrólisis mayor complejo enzimático. *Ver anexo 9.*

Por otro lado se pudo observar que algunas colonias como fueron la 6, 11, 13, 15 y 17 no contienen dicho complejo enzimático de células para generar hidrólisis de la celulosa arrojando un resultado negativo sin presencia de halo de hidrólisis. Como se muestra en la siguiente tabla 8.

Tabla 8. Índices de hidrólisis de celulosa con revelación rojo Congo.

# de Colonia	Diámetro de la colonia		Diámetro de la colonia + diámetro del halo			Índices				
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	Índice final
<b>Colonia # 01</b>	6	6	7	12	15	12	2	2,5	1,7	<b>2,07</b>
<b>Colonia # 02</b>	10	10	10	25	25	25	2,5	2,5	2,5	<b>2,5</b>
<b>Colonia # 03</b>	8	8	8	20	20	20	2,5	2,5	2,5	<b>2,5</b>
<b>Colonia # 04</b>	6	6	6	9	10	9	1,5	1,6	1,5	<b>1,55</b>
<b>Colonia # 05</b>	7	7	6	10	12	12	1,4	1,7	2	<b>1,71</b>
<b>Colonia # 06</b>	7	8	7	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>Colonia # 07</b>	8	8	8	13	14	14	1,6	1,7	1,7	<b>1,7</b>
<b>Colonia # 08</b>	7	7	8	14	14	15	2	2	1,8	<b>1,95</b>
<b>Colonia # 09</b>	7	6	7	13	12	12	1,8	2	1,7	<b>1,85</b>
<b>Colonia # 10</b>	8	8	8	15	15	16	1,8	1,8	2	<b>1,91</b>
<b>Colonia # 11</b>	8	7	7	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>Colonia # 12</b>	9	8	8	24	23	23	2,8	2,6	2,8	<b>2,8</b>
<b>Colonia # 13</b>	9	8	9	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>Colonia # 14</b>	8	8	8	12	12	12	1,5	1,5	1,5	<b>1,5</b>
<b>Colonia # 15</b>	8	8	8	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>
<b>Colonia # 16</b>	6	7	7	11	10	12	1,8	1,4	1,7	<b>1,65</b>
<b>Colonia # 17</b>	10	9	10	0	0	0	0	0	0	<b>0</b>

**R:** radio de la colonia

## 7.7. IDENTIFICACIÓN DE LOS GENEROS PRESUNTIVOS DE ACUERDO AL MANUAL DE BERGEY'S.

### 7.7.1. Identificación de géneros presuntivos de los aislamientos del consorcio

#### *Pseudomona* en la planta *Erigeron bonariensis* L.

Teniendo en cuenta los resultados de las características macro y microscópicas, de las pruebas de identificación bioquímica convencional y como referente el manual de Bergey's; las bacterias del género *Pseudomona* spp. Presuntivas aisladas en la planta *Erigeron bonariensis* L. se pueden evidenciar en la Tabla 9 y Tabla 10.

Tabla 9. Bacterias presuntivas del genero *Pseudomona* spp. Aisladas en la planta *Erigeron bonariensis* L

MEDIO KING B	
COLONIA 1	
COLONIA 2	<i>Pseudomona rhizosphaerae</i> .
COLONIA 3	<i>Pseudomona oryzihabitans</i>
COLONIA 9	
COLONIA 10	
COLONIA 6	
COLONIA 7	<i>Pseudomona aeruginosa</i>
COLONIA 8	<i>Pseudomona tuomuerensis</i>
COLONIA 4	<i>Sin posible identificación</i>
COLONIA 5	<i>Sin posible identificación</i>

Tabla 10. Características morfológicas y bioquímicas de las Bacterias del genero *Pseudomona* spp. Presuntivas aisladas en medio King B de la planta *Erigeron bonariensis* L.

COLONIAS	GENERO PRESUNTIVO	GRAM	CARACTERISTICA	CORRELACION DE SUSTRATOS
1	<i>Pseudomona rhizosphaerae</i>	Bacilos Gram negativos	Colonias circulares, convexas, no fluorescentes.	Arabinosa, inositol, sorbitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y

				H2S, gelatina
	<i>Pseudomona oryzihabitans</i>	Bacilos Gram negativos	Colonias circulares, convexas, no fluorescentes.	Arabinosa, inositol, sorbitol, fermentación de azúcares, negativo: oxidasa, Indol y H2S, gelatina
2	<i>Pseudomona rhizosphaerae</i>	Bacilos Gram negativos	Colonias circulares, convexas, no fluorescentes.	Inositol, sorbitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y H2S, gelatina
	<i>Pseudomona oryzihabitans</i>	Bacilos Gram negativos	Colonias circulares, convexas, no fluorescentes.	Inositol, sorbitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y H2S, gelatina
3	<i>Pseudomona rhizosphaerae</i>	Bacilos Gram negativos	Colonias circulares, amarillas, convexas, no fluorescentes	Arabinosa, inositol, sorbitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y H2S, gelatina
	<i>Pseudomona oryzihabitans</i>	Bacilos Gram negativos	Colonias circulares amarillas, convexas, no fluorescentes	Arabinosa, inositol, sorbitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y H2S, gelatina
4	<i>Sin posible identificación</i>			
5	<i>Sin posible identificación</i>			
6	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Bacilos Gram negativos	colonias pequeñas, convexas, color naranja	Movilidad, glucosa, catalasa. Negativo: arabinosa, Inositol.
7	<i>Pseudomona aeruginosa</i>	Bacilos Gram negativos	colonias pequeñas, convexas, color naranja	Movilidad, glucosa. Negativo: Inositol
8	<i>Pseudomona tuomuerensis</i>	Bacilos Gram negativos	colonias blancas, convexas, no presenta pigmentación	Urea, arabinosa, movilidad. Negativo: H2S, gelatina, Indol, manitol, Rafinosa, sorbitol, Inositol.
9	<i>Pseudomona rhizosphaerae</i>	Bacilos Gram negativos	Colonias circulares, amarillas, convexas, no fluorescentes.	Arabinosa, inositol, sorbitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y H2S, gelatina
	<i>Pseudomona oryzihabitans</i>	Bacilos Gram negativos	Colonias circulares amarillas, convexas, no fluorescentes.	Arabinosa, inositol, sorbitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y



					H2S, gelatina
10	<i>Pseudomona rhizosphaerae</i>	Bacilos Gram negativos	Gram	Colonias circulares, amarillas, convexas, no fluorescentes.	Arabinosa, inositol, sorbitol, manitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y H2S, gelatina
	<i>Pseudomona oryzihabitans</i>	Bacilos Gram negativos	Gram	Colonias circulares amarillas, convexas, no fluorescentes	Arabinosa, inositol, sorbitol, manitol, fermentación de azúcares. negativo: oxidasa, Indol y H2S, gelatina

### 7.7.2. Identificación de géneros presuntivos de los aislamientos del consorcio de bacterias degradadoras de celulosa en la planta *Portulaca oleracea L.*

Teniendo en cuenta los resultados de las características macro y microscópicas, de las pruebas de identificación bioquímica convencional y como referente el manual de Bergey's las bacterias degradadoras de celulosa presuntivas aisladas en la planta *Portulaca oleracea L.* Se pueden evidenciar en la Tabla 11 y Tabla 12.

Tabla 11. Bacterias presuntivas degradadoras de celulosa aisladas en la planta *Portulaca oleracea L.*

MEDIO CMC	
COLONIA 1	<i>Serratia spp / Klebsiella spp./ Raoultella spp</i>
COLONIA 2	<i>Lysinibacillus spp/ Bacillus spp.</i>
COLONIA 3	<i>Streptomyces spp</i>
COLONIA 4	<i>Raoultella spp / Paenibacillus spp.</i>
COLONIA 5	<i>Serratia spp / Raoultella spp.</i>
COLONIA 6	<i>Klebsiella spp/ Paenibacillus spp.</i>
COLONIA 7	<i>Streptomyces spp</i>
COLONIA 8	<i>Pseudomona spp / Cytophaga spp.</i>
COLONIA 9	<i>sin posible identificación</i>
COLONIA 10	<i>Moraxella spp. / Cellvibrio spp</i>
COLONIA 11	<i>Pseudomona spp./ Myroides spp/ Moraxella spp</i>

<b>COLONIA 12</b>	<i>Streptomyces spp</i>
<b>COLONIA 13</b>	<i>Burkholderia spp.</i>
<b>COLONIA 14</b>	<i>Raoultella spp</i>
<b>COLONIA 15</b>	<i>Sin posible identificación.</i>
<b>COLONIA 16</b>	<i>Klebsiella spp.</i>
<b>COLONIA 17</b>	<i>Serratia spp./ Klebsiella spp. /Raoultella spp.</i>

Tabla 12. Características morfológicas y bioquímicas de las Bacterias degradadoras de celulosa presuntivas aisladas en medio CMC de la planta *Portulaca oleracea L.*

COLONIAS	GENERO PRESUNTIVO	GRAM	CARACTERISTICA	CORRELACION DE SUSTRATOS
<b>COLONIA 1</b>	<i>Serratia spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias puntiformes, blancas, cremosas, brillantes y convexas	Citrato, urea, lisina, arginina, ornitina, glucosa manitol, maltosa, lactosa, arabinosa Negativo: oxidasa e indol.
	<i>Klebsiella spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias puntiformes, blancas, mucoides, brillantes y convexas	Arabinosa, glucosa, manitol, citrato urea, maltosa Negativo: VP, indol y movilidad
	<i>Raoultella spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias puntiformes, blancas, cremosas, brillantes y convexas	Lisina, ornitina, urea, glucosa, arabinosa y manitol. Negativo: oxidasa y movilidad
<b>COLONIA 2</b>	<i>Lysinibacillus spp</i>	Bacilos Gram Positivos esporulados	colonias opacas suaves esporas central o terminal	Gelatina, citrato, urea Negativo: glucosa, lactosa, maltosa, rafinosa, sacarosa, arabinosa, sorbitol, inositol
	<i>Bacillus spp.</i>	Bacilos Gram Positivos esporulados	Colonias circulares, secas, irregulares, color blanco con halos opalescentes	Lisina, gelatina, movilidad y almidón. Negativo: glucosa, maltosa, urea
<b>COLONIA 3</b>	<i>Streptomyces spp</i>	Bacilos Gram Positivos largos en ramificaciones conidias en cadena	Geosmina. Colonias secas, de color marrón umbilicadas y rizoides	Gelatina, movilidad, oxidasa Negativos: Glucosa, arabinosa, sacarosa, rafinosa.
<b>COLONIA 4</b>	<i>Raoultella spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias blancas, brillantes, pulvinadas, de borde ondulado con halos radiales.	Lisina, arabinosa, glucosa, rafinosa. Negativo: gelatina y oxidasa
	<i>Paenibacillus spp.</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias blancas brillantes, cremosas,	Esporas centrales o terminales, arginina, urea, citrato, arabinosa, lactosa, maltosa, glucosa y rafinosa Negativo: almidón, VP, e indol.
<b>COLONIA 5</b>	<i>Serratia spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias blancas, cremosas redondas y convexas	Glucosa, lactosa, arabinosa, manitol, amltosa, urea, arginia, lisina, ornitina
	<i>Raoultella spp.</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias puntiformes, blancas, cremosas, brillantes y convexas	Lisina, arabinosa, glucosa, rafinosa, ornitina, urea, indol.
<b>COLONIA 6</b>	<i>Klebsiella spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias blancas, mucoides, brillantes y convexas	Glucosa, arabinosa, manitol, maltosa, rafinosa, Negativo: gelatina.
	<i>Paenibacillus spp.</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias blancas brillantes, cremosas,	Glucosa, lactosa, maltosa, manitol, rafinosa Negativo: Gelatina, urea, VP y oxidasa.
<b>COLONIA 7</b>	<i>Streptomyces spp</i>	Bacilos Gram Positivos filamentosos, conidias en cadena.	Colonias secas, circulares, de borde regular, polvorosas	Glucosa, arabinosa, sacarosa, rafinosa, gelatina. Negativo: almidón

<b>COLONIA 8</b>	<i>Pseudomona spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias redondas brillantes, mucoides, convexas con pigmentación amarilla-verdosa	oxidasa, glucosa, gelatina, almidón, arginina, pigmentos fluorescentes
	<i>Cytophaga spp.</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias redondas brillantes, mucoides, convexas con pigmentación amarilla-verdosa.	Oxidasa movilidad, degradador de celulosa. Negativo: almidón
<b>COLONIA 9</b>	<i>Sin posible identificación</i>			
<b>COLONIA 10</b>	<i>Moraxella spp</i>	Cocos Gram Negativos	colonias opacas, redondas, convexas	Oxidasa, citrato y glucosa
	<i>Cellvibrio spp</i>	Cocobacilos Gram Negativos	Colonias cremosas redondas, blancas cremosas brillantes.	Maltosa, arabinosa
<b>COLONIA 11</b>	<i>Pseudomona spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias redondas, cremosas, brillantes con pigmentación amarilla.	oxidasa, glucosa, gelatina, almidón, arginina, pigmentos fluorescentes
	<i>Myroides spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias redondas, cremosas con pigmentación amarilla	Movilidad, gelatina y glucosa Negativo: maltosa, sacarosa, lactosa, arabinosa, inositol, sorbitol y rafinosa.
	<i>Moraxella spp</i>	Cocos Gram Negativos		Maltosa, arabinosa
<b>COLONIA 12</b>	<i>Streptomyces spp</i>	Bacilos Gram Positivos largos en ramificaciones comidas en cadena	Geosmina Colonias secas, circulares, blancas, umbilicadas polvorosas.	Oxidasa, Glucosa, rabinosa, sacarosa, rafinosa, gelatina.
<b>COLONIA 13</b>	<i>Burkholderia spp.</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias redondas, blancas, cremosas, brillantes y convexas.	Oxidasa, glucosa, lactosa, inositol, sorbitol, maltosa, almidón, lisina y arginina
<b>COLONIA 14</b>	<i>Raoultella spp</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias blancas, opacas redondas, convexas	Glucosa, arabinosa, rafinosa, lactosa, sacarosa, inositol, urea Negativo: indol
<b>COLONIA 15</b>	<i>Sin posible identificación</i>			
<b>COLONIA 16</b>	<i>Klebsiella spp.</i>	Bacilos Gram Negativos	colonias Secas, mate, cremosas, brillantes, redondas blancas, mucoides	Glucosa, arabinosa, maltosa, rafinosa, lisina, citrato. Negativo: Oxidasa, indol, urea y Gelatina,
<b>COLONIA 17</b>	<i>Klebsiella spp.</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias puntiformes, blancas, mucoides, brillantes y convexas	Glucosa, manitol, maltosa, arabinosa, rafinosa, citrato
	<i>Raoultella spp.</i>	Bacilos Gram Negativos	Colonias puntiformes, blancas, cremosas, brillantes y convexas	Glucosa, manitol, rafinosa, arabinosa, ornitina, urea, indol.

## 8. ANALISIS DE DATOS

De acuerdo a los aislamientos realizados para la identificación de bacterias del genero *Pseudomonas spp* se logró obtener 10 aislamientos bacterianos provenientes de la rizósfera de la planta *Erigeron bonariensis L.* Donde se identificaron 8 géneros presuntivos, de ellos el 100% presento una morfología bacilar y una respuesta negativa a la tinción de Gram. En cuanto a su morfología macroscópica presentaron gran variedad en características como; textura, tamaño, color y consistencia; Y para los aislamientos de bacterias degradadoras de celulosa se obtuvieron un total de 17 aislamientos bacterianos provenientes de la planta *Portulaca oleracea L.* donde se identificaron 15 géneros presuntivos, de ellos el 82,3% mostro morfología solo bacilar y el 11,7% presento morfología variable cocos y bacilos, y el 5,9% mostro solo morfología cocoide; además se concluye que el 76,5% presento una respuesta negativa para la tinción de Gram y el 23,5% fueron positiva para la tinción de Gram, cabe resaltar que algunas de ellas presentaron esporulación y apariencia de filamentos, estos resultados muestran que la composición de las bacterias encontradas en cuanto a morfología de textura, tamaño, color y consistencia, y respuesta a la tinción de Gram es variable, lo cual extiende las posibilidades de encontrar bacterias con diferentes características fisiológicas, bioquímicas y metabólicas. En diferentes artículos se ha reportado mayor representación de bacterias Gram negativas que de Gram positivas en los aislamientos realizados a partir de la rizósfera de plantas (Halda 2003, Halda 2004, Hallberg y Johnson 2005). Lo que podría ser explicado por la gran influencia de bacterias (ya sea Gram negativas o Gram positivas) con este tipo de morfología, la cual presentan una gran variedad de géneros bacterianos, en las interacciones que se establecen entre la planta y los microorganismos en la zona rizosférica. No obstante se encontró diferencia en la distribución de la respuesta a la tinción de Gram, lo cual puede ser consecuencia de que la composición de la comunidad microbiana rizosférica está primariamente determinada por las especies de plantas junto con los factores ambientales (Muratova et al. 2003) presentes en el suelo.

Estos resultados coinciden con lo esperado, teniendo en cuenta que en la rizósfera se encuentra mayor densidad de población y variedad de microorganismos que en el resto del suelo, debido a la liberación de grandes cantidades de materia orgánica en forma de exudados, lisados y mucílagos por parte de las raíces (Dakora y Phillips 2002)

Dentro del perfil bioquímico se logró evidenciar una gran versatilidad metabólica respecto a la asimilación de sustratos; el mayor número de aislamientos fueron positivos para la fermentación de glucosa; en los demás sustratos se presentó una gran variedad en su asimilación, evidenciándose la diversidad microbiana de la rizósfera. Este notorio aprovechamiento de la glucosa puede ser debido a que este monosacárido es una fuente de carbono utilizada por un amplio número de bacterias, por presentar enzimas constitutivas para su utilización, a diferencia de lo que ocurre para otros carbohidratos, cuando sólo en presencia de estos se induce en la célula la síntesis de las enzimas involucradas en su catabolismo (Madigan *et al.* 2003).

Para la evaluación de la actividad de hidrolisis de la celulosa mediante el método de revelación con rojo Congo se logró identificar que del 100% de las colonias aisladas, el 70,6% de ellas presentaron hidrolisis de la celulosa en el medio CMC y el 29,4% (5 aislamientos) no presentaron hidrolisis de la celulosa; dentro de estas se resalta que tres aislamientos en particular con características morfológicas similares presentaron el mayor índice de hidrolisis.

## 9. DISCUSIÓN

La diversidad microbiana asociada a la rizósfera de las plantas es crucial en el mantenimiento de los ecosistemas debido a su rápido crecimiento y habilidad que presentan al utilizar un amplio rango de sustratos como fuentes de carbono; a su vez se compone de tres elementos como: diversidad taxonómica, diversidad genética y diversidad funcional (Glick, 1995). La diversidad microbiana que está presente en el suelo depende de muchos factores como: La temperatura, el tipo de suelo, la vegetación, el contenido de humedad y de nutrientes. (Killian et al., 2001). La concentración de microorganismos que se halla alrededor de la raíz se puede deber a los altos niveles de nutrientes disponibles que se encuentran en la zona lo cual permite el crecimiento de las poblaciones microbianas, la solubilización de estos nutrientes y la facilidad de ser asimilados por las plantas. (Lynch, 1990). Lo que se relaciona con el alto contenido de minerales presentes en el suelo analizado como por ejemplo el hierro, el fósforo, el manganeso entre otros.

El género *Pseudomonas spp.* representa un grupo importante de bacterias Gram negativas donde se incluyen especies de gran versatilidad metabólica; la importancia de este género se ha evidenciado en diferentes estudios en donde se menciona la capacidad con la que cuenta el microorganismo para degradar compuestos orgánicos. Este género es importante porque utiliza compuestos que pueden ser tanto sustratos como intermediarios de rutas metabólicas conocidas, además incluye compuestos aromáticos derivados de halogenados y una variedad de residuos orgánicos recalcitrantes que poco son asimilados por otros grupos microbianos.

Los resultados obtenidos en esta investigación permitieron identificar diferentes especies presuntivas de *Pseudomonas spp.* Según Bushnell y Hass (1941) las bacterias del género *Pseudomonas* son un grupo de microorganismos productores de biosurfactantes destacando la especie *Pseudomonas aeruginosa* ya que es uno de los microorganismos más usados y estudiados en bioremediación presentando una serie de actividades naturales sobre los xenobióticos y otros compuestos orgánicos. También cabe resaltar la importancia de *Pseudomonas oryzae*, ya que este tipo de cepas ha demostrado la capacidad de degradar pesticidas organoclorados favoreciendo la calidad del suelo mediante la degradación de compuesto tóxico.

Las bacterias consideradas como degradadoras de celulosa han sido utilizadas como bioindicadores ecológicos ya que determinan en gran parte la fertilidad y calidad del suelo puesto que la celulosa es el polisacárido más abundante en la naturaleza por lo que constituye una fuente alta de carbono limitado a los microorganismos capaces de hidrolizar este compuesto. También son consideradas como un factor importante para la producción agrícola, ya que a través de ellas se puede evaluar el impacto de la fertilización.

Dentro de los resultados obtenidos en la presente investigación se permitieron identificar varios géneros presuntivos de bacterias degradadoras de celulosa como *Bacillus spp*, *Streptomyces*, y *Cytophaga*. Según reportes en la literatura tanto *Bacillus spp*, como *Streptomyces spp*, han sido considerados como microorganismo con alta actividad celulolítica. Muchas especies del género *Bacillus spp* están presente en el suelo y en la materia orgánica en descomposición, por lo que se considera que juegan un papel importante en la bioconversión de componente de alto peso molecular. (Lu et al, 2005). Según Márquez (2007) indica que muchas especies de *Bacillus spp* producen enzimas hidrolíticas que se encargan de degradar los compuestos que están disponibles en el suelo como son polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos lo que le permite usar dichos productos como fuentes de carbono.

Por otro lado *Streptomyces spp*, ha sido estudiado debido a que es parte importante de la comunidad microbiana del suelo responsable de la degradación y recirculación de biopolímeros como la celulosa, la hemicelulosa y la lignina (Semedo et al, 2004)

Sin embargo, en suelos con pH 5,7 - 6,2 crecen bacterias como *Cytophaga* y si la acidez descende predominan los hongos. Se pueden encontrar bacterias degradadoras de celulosa anaerobias también en suelos ácidos con pH 4,3. (Carrillo, 2003).

La caracterización funcional se fundamenta en la determinación del perfil fisiológico de la comunidad, en la cual los microorganismos son enfrentados contra un conjunto de sustratos y fuentes de carbono con el fin de establecer un patrón característico de respuesta in vitro y perfil fisiológico a nivel de comunidad. (Zak et al., 1994, Frac et al., 2012). El análisis funcional de comunidades microbianas involucra la caracterización de patrones que permiten predecir la estabilidad del ecosistema ante perturbaciones y esclarecer las interacciones entre los organismos

que lo componen y el ambiente, que permite obtener una relación de tipo diversidad-función (Garland et al., 1991; Laine et al., 1997; Atanasova et al., 2010)

En los últimos años se ha utilizado el análisis funcional como indicador de la diversidad y estructura de las comunidades microbianas, a través del uso de diferentes fuentes de carbono para establecer un perfil metabólico de los microorganismos y su comportamiento (Garland et al., 1991, Zak et al., 1994, Bending et al., 2004).

El alto porcentaje de la funcionalidad de las comunidades microbianas presente en las especies de plantas *Erigeron bonariensis L.* y *Portulaca oleracea L* mediante el método The Biolog EcoPlates™, pudo ser evaluada de acuerdo a la habilidad de los microorganismos presentes en la comunidad para utilizar diversas fuentes de carbono (Garland & Mills, 1991). De esta forma, el grado de utilización de diversos sustratos aplicados a una muestra ofrece análisis de las poblaciones microbianas representativas de estas regiones, brindando importante información del comportamiento de los microorganismos en la rizósfera bajo diferentes condiciones, sin embargo, es importante mencionar que la dinámica de poblaciones en la rizósfera es un aspecto muy complejo e involucra numerosos factores que actuando en conjunto, benefician el desarrollo de ciertas poblaciones microbianas. Y se podrá establecer el impacto de los factores ambientales y exógenos que estas ocasionan sobre la diversidad allí presente y comprender las funciones que tiene cada grupo en sus nichos específicos. (Persello-Cartieaux et al., 2003; Zúñiga & Gutiérrez-Correa, 1982).

Comparando la utilización de los diferentes grupos de sustratos carbonados en los suelos de uso agrícola podremos conocer las preferencias en el consumo de las fuentes de carbono por parte de las poblaciones microbianas existentes.

Garland y Mills fueron los primeros que realizaron el aislamiento de microorganismos de Suelo y soluciones de suelo inoculadas directamente en Placas GN. La inoculación de soluciones de suelo directamente permite obtener perfiles fisiológicos del conjunto comunidades microbianas. Realizar la fase de aislamiento Causó un gran interés en el método Biolog como una Herramienta conveniente para estudiar y comparar la diversidad funcional de las comunidades microbianas enteras



En nuestro estudio se presentó un incremento en la diversidad funcional de los microorganismos pertenecientes al género *Pseudomonas spp* y bacterias degradadoras de celulosa, lo cual puede ser explicado por la mayor disponibilidad de sustancias o exudados producidos por las raíces los cuales sirven como fuente energética y que pueden llegar a inducir cambios en la disponibilidad de sustratos, nutrientes y factores de crecimiento microbiano en la rizósfera, moldeando de esta manera su dinámica poblacional (Reyes & Valery, 2007) pese a la aplicación continua de agroquímicos en este tipo de suelos.

Autores como (Chakraborty et al., 2011) también encontraron que la aplicación de suplementos orgánicos e inorgánicos a largo plazo ayudaron a la acumulación de materia orgánica en los suelos, lo cual, a su vez tuvo considerables efectos sobre las comunidades microbianas y grupos funcionales incrementando la biomasa microbiana y la actividad de los suelos.

Los resultados encontrados nos demuestran que no siempre una mayor población de microorganismos equivale a una mayor diversidad de microorganismos. Existen casos donde habrá la predominancia de una especie sobre otra, lo que ocurre principalmente por la competencia que existe entre géneros y especies por el predominio en un ambiente como la rizósfera.

## 10. CONCLUSIÓN

- Se logró realizar aislamientos e identificación presuntiva de bacterias del género *Pseudomonas spp.* en la rizósfera de la planta *Erigeron bonariensis L.* hallándose morfotipos correspondiente a: *Pseudomonas rhizosphaerae*, *Pseudomonas oryzihabitans*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Pseudomonas tuomuerensis*
- Se logró realizar aislamientos e identificación presuntiva de bacterias degradadoras de celulosa en la rizósfera de la planta *Portulaca oleracea L.* hallándose morfotipos correspondientes a: *Bacillus spp.*, *Burkholderia spp.*, *Cellvibrio spp.*, *Cytophaga spp.*, *Klebsiella spp.*, *Lysinibacillus spp.*, *Moraxella spp.*, *Myroides spp.*, *Paenibacillus spp.*, *Pseudomonas spp.*, *Raoultella spp.*, *Serratia spp.*, y *Streptomyces spp.*
- El porcentaje de diversidad funcional de la comunidad microbiana presente en la planta *Erigeron bonariensis L.* corresponde al 71% comparado con el 61% de la diversidad funcional del género *Pseudomonas spp.*
- El porcentaje de diversidad funcional de la comunidad microbiana presente en la planta *Portulaca oleracea L.* corresponde al 83% comparado con el 97% de la diversidad funcional de bacterias degradadoras de celulosa
- Se generó una colección de microorganismos tanto de varias especies de *Pseudomonas* como de bacteria degradadoras de celulosa, conservados bajo el método de criopreservación y aceite mineral en la colección de microorganismos que guarda la UCM con el fin de servir para futuras investigaciones relacionadas y aportar nuevos conocimientos.

## 11. ANEXOS

### ANEXOS 1

#### PROTOCOLO DE PREPARACION DE PDA

Para un litro de medio agregar 200gr de infusión de papa; 20gr de dextrosa y 15gr de agar bacteriológico aforar a 1000ml con agua destilada. (marca oxoid)

#### PROTOCOLO DE PREPARACION CALDO NUTRITIVO

Para un litro de medio agregar 2g de extracto de levadura, 5g de peptona, 5g de cloruro de sodio y 2g de polvo Lab-lemco aforar a 1000ml con agua destilad. Verter en tubos tapa rosca aproximadamente de 5 a 6 ml y esterilizar en autoclave a 121°C por 15 min. (marca oxoid)

#### PROTOCOLO PREPARACION ROJO CONGO

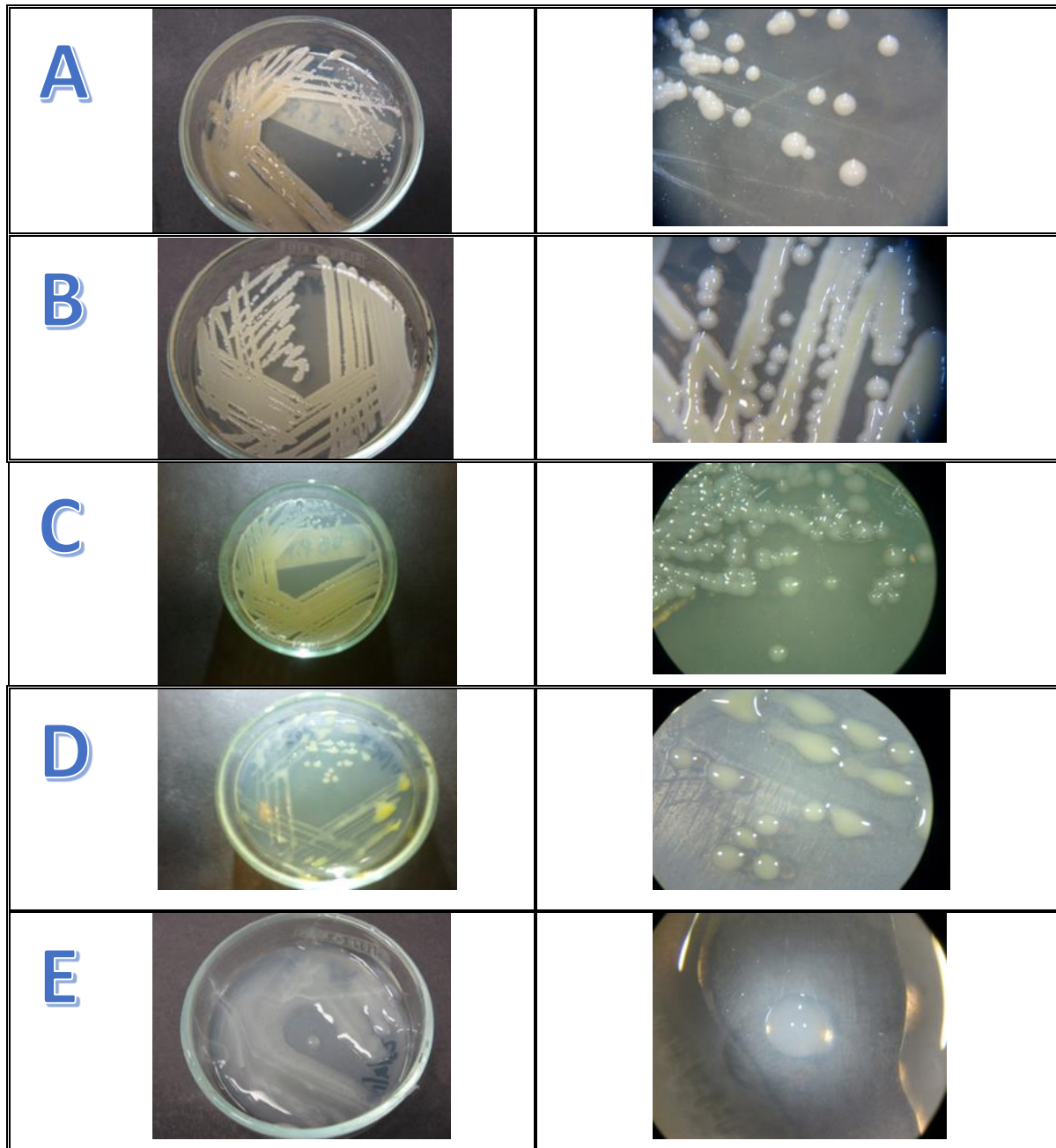
1. Agregar 5ml de rojo de Congo en 4 ml de agua destilada
2. Se agrega 1ml de Tiosulfato de sodio al 0.1%
3. Ajustar el pH alrededor de 6.7 se le agrega 100µl de una solución acuosa (Cloraminat) dejar reposar a temperatura ambiente por 30 segundos

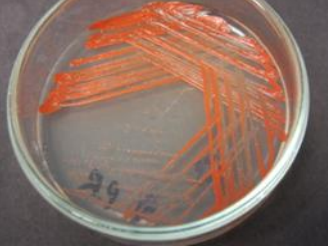
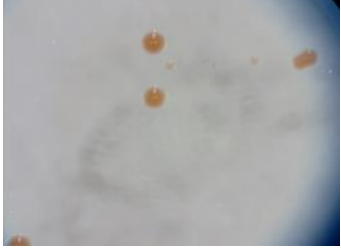


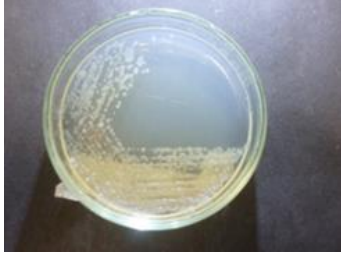

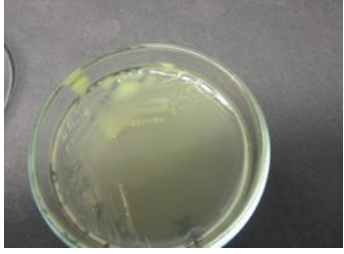
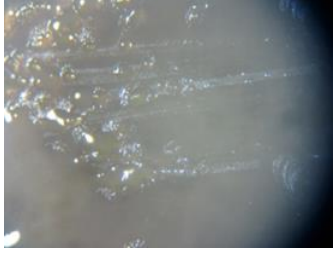
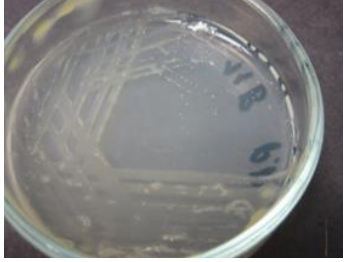

**RESULTADO** El medio de cultivo tiende a colorearse de un tono rojo ya que hay interacción del colorante con la fibra de celulosa. Cuando las cepas hidrolizan la celulosa del medio hay presencia de un halo color amarillo o naranja. El diámetro del halo equivale al potencial celulítico del microorganismo.

## ANEXO 2

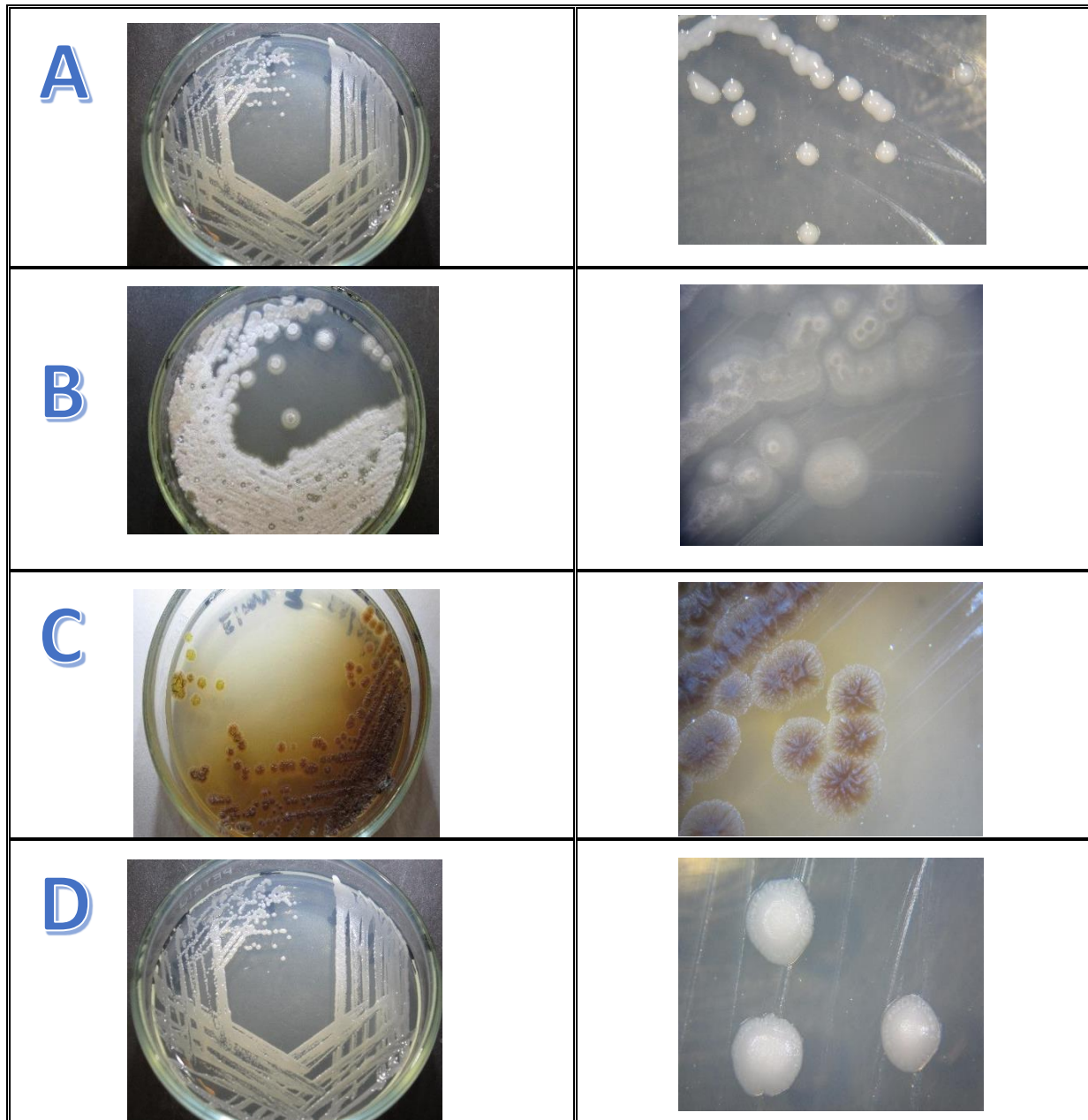
<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>A4</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>A4</b>	<b>A1</b>	<b>A2</b>	<b>A3</b>	<b>A4</b>
<b>Water</b>	<b>β-Methyl-D-Glucoside</b>	<b>D-Galactonic Acid γ-Lactone</b>	<b>L-Arginine</b>	<b>Water</b>	<b>β-Methyl-D-Glucoside</b>	<b>D-Galactonic Acid γ-Lactone</b>	<b>L-Arginine</b>	<b>Water</b>	<b>β-Methyl-D-Glucoside</b>	<b>D-Galactonic Acid γ-Lactone</b>	<b>L-Arginine</b>
<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>B4</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>B4</b>	<b>B1</b>	<b>B2</b>	<b>B3</b>	<b>B4</b>
<b>Pyruvic Acid Methyl Ester</b>	<b>D-Xylose</b>	<b>D-Galacturonic Acid</b>	<b>L-Asparagine</b>	<b>Pyruvic Acid Methyl Ester</b>	<b>D-Xylose</b>	<b>D-Galacturonic Acid</b>	<b>L-Asparagine</b>	<b>Pyruvic Acid Methyl Ester</b>	<b>D-Xylose</b>	<b>D-Galacturonic Acid</b>	<b>L-Asparagine</b>
<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>	<b>C4</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>	<b>C4</b>	<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>	<b>C4</b>
<b>Tween 40</b>	<b>i-Erythritol</b>	<b>2-Hydroxy Benzoic Acid</b>	<b>L-Phenylalanine</b>	<b>Tween 40</b>	<b>i-Erythritol</b>	<b>2-Hydroxy Benzoic Acid</b>	<b>L-Phenylalanine</b>	<b>Tween 40</b>	<b>i-Erythritol</b>	<b>2-Hydroxy Benzoic Acid</b>	<b>L-Phenylalanine</b>
<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>	<b>D1</b>	<b>D2</b>	<b>D3</b>	<b>D4</b>
<b>Tween 80</b>	<b>D-Mannitol</b>	<b>4-Hydroxy Benzoic Acid</b>	<b>L-Serine</b>	<b>Tween 80</b>	<b>D-Mannitol</b>	<b>4-Hydroxy Benzoic Acid</b>	<b>L-Serine</b>	<b>Tween 80</b>	<b>D-Mannitol</b>	<b>4-Hydroxy Benzoic Acid</b>	<b>L-Serine</b>
<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>	<b>E4</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>	<b>E4</b>	<b>E1</b>	<b>E2</b>	<b>E3</b>	<b>E4</b>
<b>α-Cyclodextrin</b>	<b>N-Acetyl-D-Glucosamine</b>	<b>γ-Hydroxybutyric Acid</b>	<b>L-Threonine</b>	<b>α-Cyclodextrin</b>	<b>N-Acetyl-D-Glucosamine</b>	<b>γ-Hydroxybutyric Acid</b>	<b>L-Threonine</b>	<b>α-Cyclodextrin</b>	<b>N-Acetyl-D-Glucosamine</b>	<b>γ-Hydroxybutyric Acid</b>	<b>L-Threonine</b>
<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>	<b>F1</b>	<b>F2</b>	<b>F3</b>	<b>F4</b>
<b>Glycogen</b>	<b>D-Glucosaminic Acid</b>	<b>Itaconic Acid</b>	<b>Glycyl-L-Glutamic Acid</b>	<b>Glycogen</b>	<b>D-Glucosaminic Acid</b>	<b>Itaconic Acid</b>	<b>Glycyl-L-Glutamic Acid</b>	<b>Glycogen</b>	<b>D-Glucosaminic Acid</b>	<b>Itaconic Acid</b>	<b>Glycyl-L-Glutamic Acid</b>
<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>	<b>G1</b>	<b>G2</b>	<b>G3</b>	<b>G4</b>
<b>D-Cellobiose</b>	<b>Glucose-1-Phosphate</b>	<b>α-Ketobutyric Acid</b>	<b>Phenylethylamine</b>	<b>D-Cellobiose</b>	<b>Glucose-1-Phosphate</b>	<b>α-Ketobutyric Acid</b>	<b>Phenylethylamine</b>	<b>D-Cellobiose</b>	<b>Glucose-1-Phosphate</b>	<b>α-Ketobutyric Acid</b>	<b>Phenylethylamine</b>
<b>H1</b>	<b>H2</b>	<b>H3</b>	<b>H4</b>	<b>H1</b>	<b>H2</b>	<b>H3</b>	<b>H4</b>	<b>H1</b>	<b>H2</b>	<b>H3</b>	<b>H4</b>
<b>α-D-Lactose</b>	<b>D,L-α-Glycerol Phosphate</b>	<b>D-Malic Acid</b>	<b>Putrescine</b>	<b>α-D-Lactose</b>	<b>D,L-α-Glycerol Phosphate</b>	<b>D-Malic Acid</b>	<b>Putrescine</b>	<b>α-D-Lactose</b>	<b>D,L-α-Glycerol Phosphate</b>	<b>D-Malic Acid</b>	<b>Putrescine</b>

**ANEXO 3.** Caracterización macroscópica de las colonias seccionadas en el medio KING B y aisladas en medio PDA de la planta *Erigeron bonariensis* L. A) Colonia 1, B) Colonia 2, C) Colonia 3, D) Colonia 4, E) Colonia 5, F) Colonia 6, G) Colonia 7, H) Colonia 8, I) Colonia 9, y J) Colonia 10.

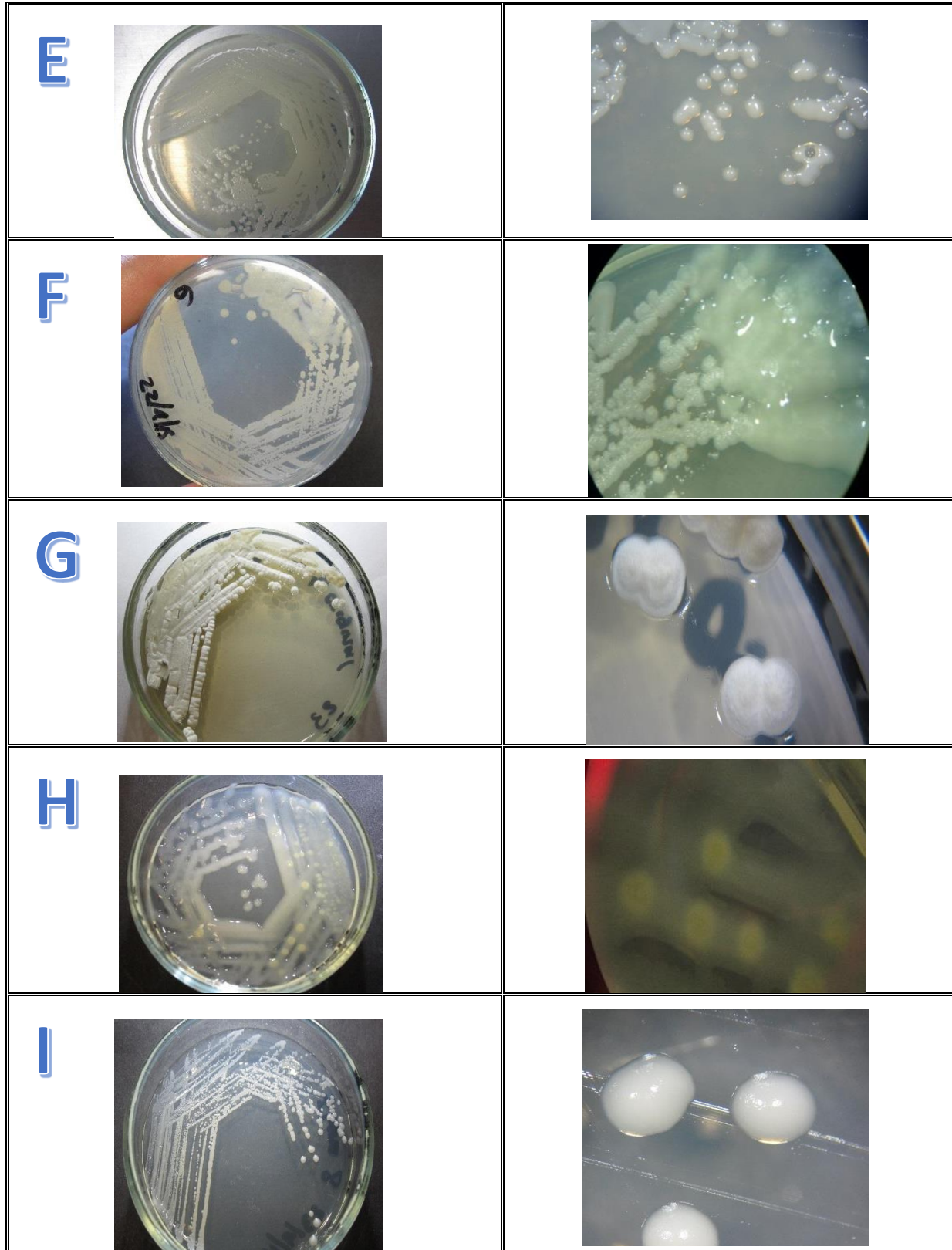


<b>F</b>	 A petri dish containing a grey agar surface with several prominent, parallel orange streaks. The number '29' is faintly visible on the bottom of the dish.	 A microscopic view showing several small, circular, orange-colored spots on a light grey background.
<b>G</b>	 A petri dish containing a grey agar surface with several prominent, parallel orange streaks. The number '29' is faintly visible on the bottom of the dish.	 A microscopic view showing several small, circular, orange-colored spots on a light grey background.
<b>H</b>	 A petri dish containing a grey agar surface with a dense, yellowish, fuzzy growth covering the bottom portion of the dish.	 A microscopic view showing numerous small, white, spherical structures, possibly spores or cells, arranged in a somewhat regular pattern.
<b>I</b>	 A petri dish containing a grey agar surface with a dense, yellowish, fuzzy growth covering the bottom portion of the dish.	 A microscopic view showing numerous small, white, spherical structures, possibly spores or cells, arranged in a somewhat regular pattern.
<b>J</b>	 A petri dish containing a grey agar surface with a dense, yellowish, fuzzy growth covering the bottom portion of the dish. The text 'VIB 6' is visible on the bottom of the dish.	 A microscopic view showing numerous small, white, spherical structures, possibly spores or cells, arranged in a somewhat regular pattern.


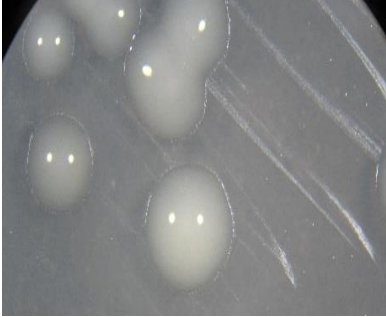

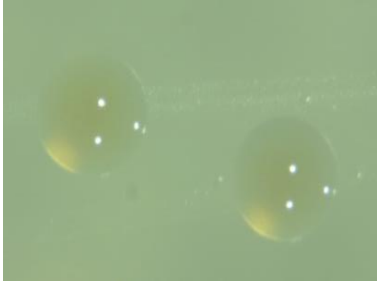



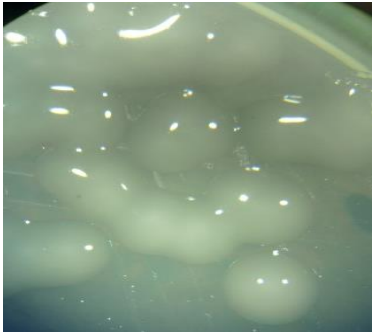


**ANEXO 4.** Caracterización macroscópica de las colonias seccionadas en el medio CMC y aisladas en medio PDA de la planta *Portulaca oleracea* L. A) Colonia 1, B) Colonia 2, C) Colonia 3, D) Colonia 4, E) Colonia 5, F) Colonia 6, G) Colonia 7, H) Colonia 8, I) Colonia 9, J) Colonia 10, K) Colonia 11, L) Colonia 12, M) Colonia 13, N) Colonia 14, O) Colonia 15, P) Colonia 16 y Q) Colonia 17.

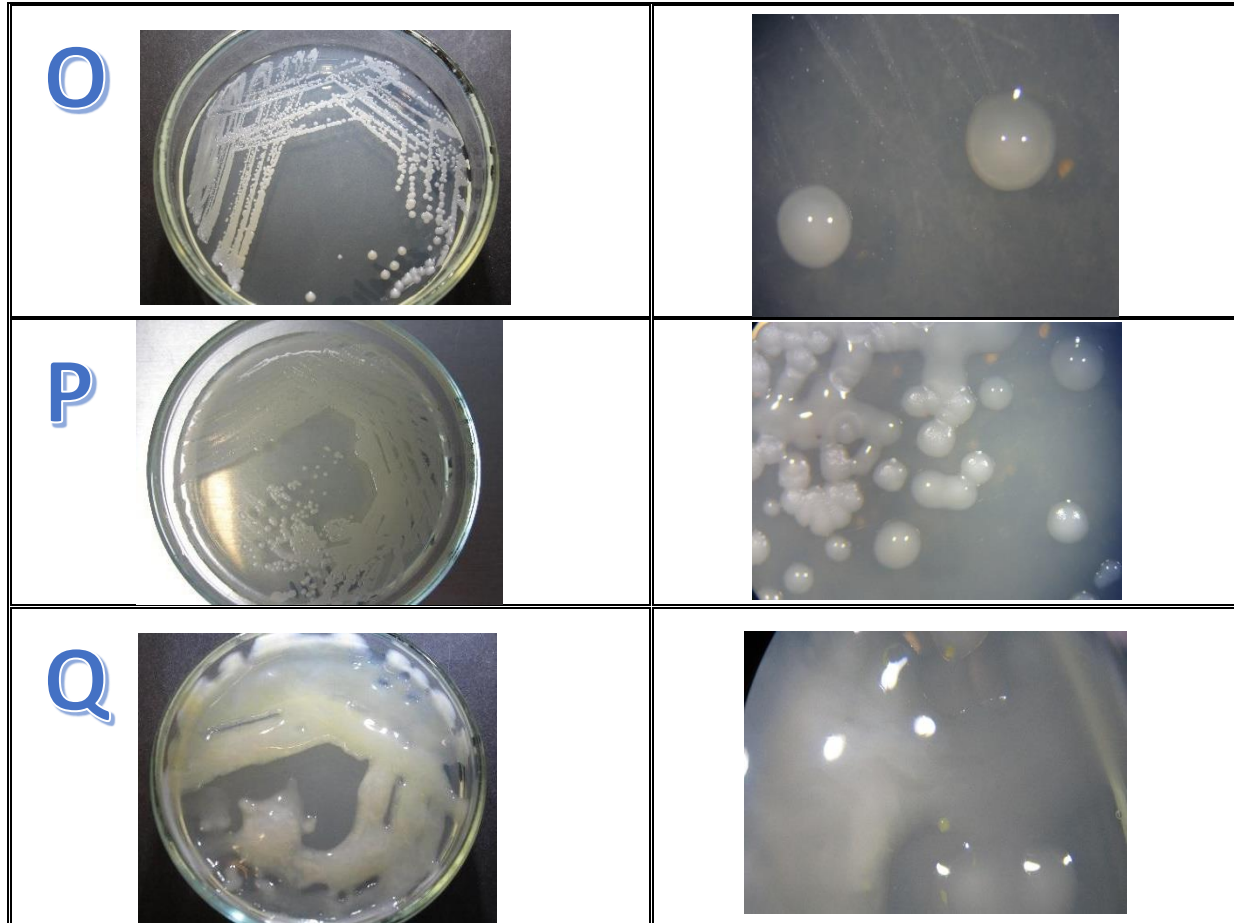








<p><b>J</b></p> 	
<p><b>K</b></p> 	
<p><b>L</b></p> 	
<p><b>M</b></p> 	
<p><b>N</b></p> 	



**ANEXO 5.** Caracterización de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog Ecoplates™ de la comunidad microbiana de la planta *Erigeron bonariensis L.*

Fuente carbonada	1	2	3
Réplicas			
<b>Water</b>			
-Methyl-D-Glucoside 2 0 0 3	1	1	1
D-Galactonic Acid .-Lactone 3 2 2 0	1	1	1
L-Arginine 4 0 0 2	1	1	1
Pyruvic Acid Methyl Ester 5 0 0 0	1	1	1
D-Xylose 6 0 0 0	1	1	1
D-Galacturonic Acid 7 0 0 3	1	1	1
L-Asparagine 8 0 0 3	1	1	1
Tween 40 9 0 3 3	1	1	1
i-Erythritol 10 0 2 0	0	0	0
2-Hydroxy Benzoic Acid 11 0 0 3	0	0	0
L-Phenylalanine 12 0 0 2	1	1	1
Tween 80 13 0 0 0	1	1	1
D-Mannitol 14 0 3 3	1	1	1
4-Hydroxy Benzoic Acid 15 0 3 0	0	0	0
L-Serine 16 3 3 0	1	1	1
..-Cyclodextrin 17 0 0 0	0	0	0
N-Acetyl-D-Glucosamine 18 0 0 0	1	1	1
..-Hydroxybutyric Acid 19 0 0 0	0	0	0
L-Threonine 20 0 0 2	0	0	0
Glycogen 21 0 0 0	0	0	1
D-Glucosaminic Acid 22 3 3 0	1	1	1
Itaconic Acid 23 3 3 3	1	0	0
Glycyl-L Glutamic Acid 24 0 0 0	1	1	1
D-Cellobiose 25 3 3 0	1	1	1
Glucose-1-Phosphate 26 0 0 0	1	1	0
..-Ketobutyric Acid 27 0 0 3	0	0	0
Phenylethylamine 28 0 0 3	0	0	0
..-D-Lactose 29 0 0 3	0	0	0
D, L,..-Glycerol Phosphate 30 0 0 3	1	1	1
D-Malic Acid 31 0 0 0	0	1	1
Putrescine 32 2 2 0	1	1	1
<b>Fuentes de carbono positivas para todas las tres réplicas</b>	18		
<b>Fuentes de carbono negativas para todas las tres réplicas</b>	9		
<b>Fuentes de carbono positivas para 2 de las 3 réplicas</b>	2		
<b>Fuentes de carbono positivas para 1 de las 3 réplicas</b>	2		
<b>% de diversidad funcional</b>	<b>71</b>		

**ANEXO 6.** Caracterización de la diversidad funcional y metabólica de la bacterias del genero *Pseudomona spp* a través del método The Biolog Ecoplates™ de la planta *Erigeron bonariensis L.*

Fuente carbonada	Réplicas		
	1	2	3
Water			
-Methyl-D-Glucoside 2 0 0 3	1	1	1
D-Galactonic Acid .-Lactone 3 2 2 0	0	0	0
L-Arginine 4 0 0 2	0	0	0
Pyruvic Acid Methyl Ester 5 0 0 0	1	1	1
D-Xylose 6 0 0 0	1	1	1
D-Galacturonic Acid 7 0 0 3	1	1	1
L-Asparagine 8 0 0 3	1	1	1
Tween 40 9 0 3 3	1	1	1
i-Erythritol 10 0 2 0	0	0	0
2-Hydroxy Benzoic Acid 11 0 0 3	0	0	0
L-Phenylalanine 12 0 0 2	0	0	0
Tween 80 13 0 0 0	1	1	1
D-Mannitol 14 0 3 3	1	1	1
4-Hydroxy Benzoic Acid 15 0 3 0	0	0	0
L-Serine 16 3 3 0	1	1	1
..-Cyclodextrin 17 0 0 0	1	1	1
N-Acetyl-D-Glucosamine 18 0 0 0	1	1	1
..-Hydroxybutyric Acid 19 0 0 0	1	1	1
L-Threonine 20 0 0 2	0	0	0
Glycogen 21 0 0 0	0	0	0
D-Glucosaminic Acid 22 3 3 0	1	1	1
Itaconic Acid 23 3 3 3	0	0	0
Glycyl-L Glutamic Acid 24 0 0 0	1	1	1
D-Cellobiose 25 3 3 0	1	1	1
Glucose-1-Phosphate 26 0 0 0	1	1	1
..-Ketobutyric Acid 27 0 0 3	0	0	0
Phenylethylamine 28 0 0 3	0	0	0
..-D-Lactose 29 0 0 3	1	1	1
D, L-.-Glycerol Phosphate 30 0 0 3	1	1	1
D-Malic Acid 31 0 0 0	1	1	1
Putrescine 32 2 2 0	0	0	0
<b>Fuentes de carbono positivas para todas las tres réplicas</b>	19		
<b>Fuentes de carbono negativas para todas las tres réplicas</b>	12		
<b>Fuentes de carbono positivas para 2 de las 3 réplicas</b>	0		
<b>Fuentes de carbono positivas para 1 de las 3 réplicas</b>	0		
<b>% de diversidad funcional</b>	61%		

**ANEXO 7.** Caracterización de la diversidad funcional y metabólica a través del método The Biolog Ecoplates™ de la comunidad microbiana de la planta *Portulaca oleracea L.*

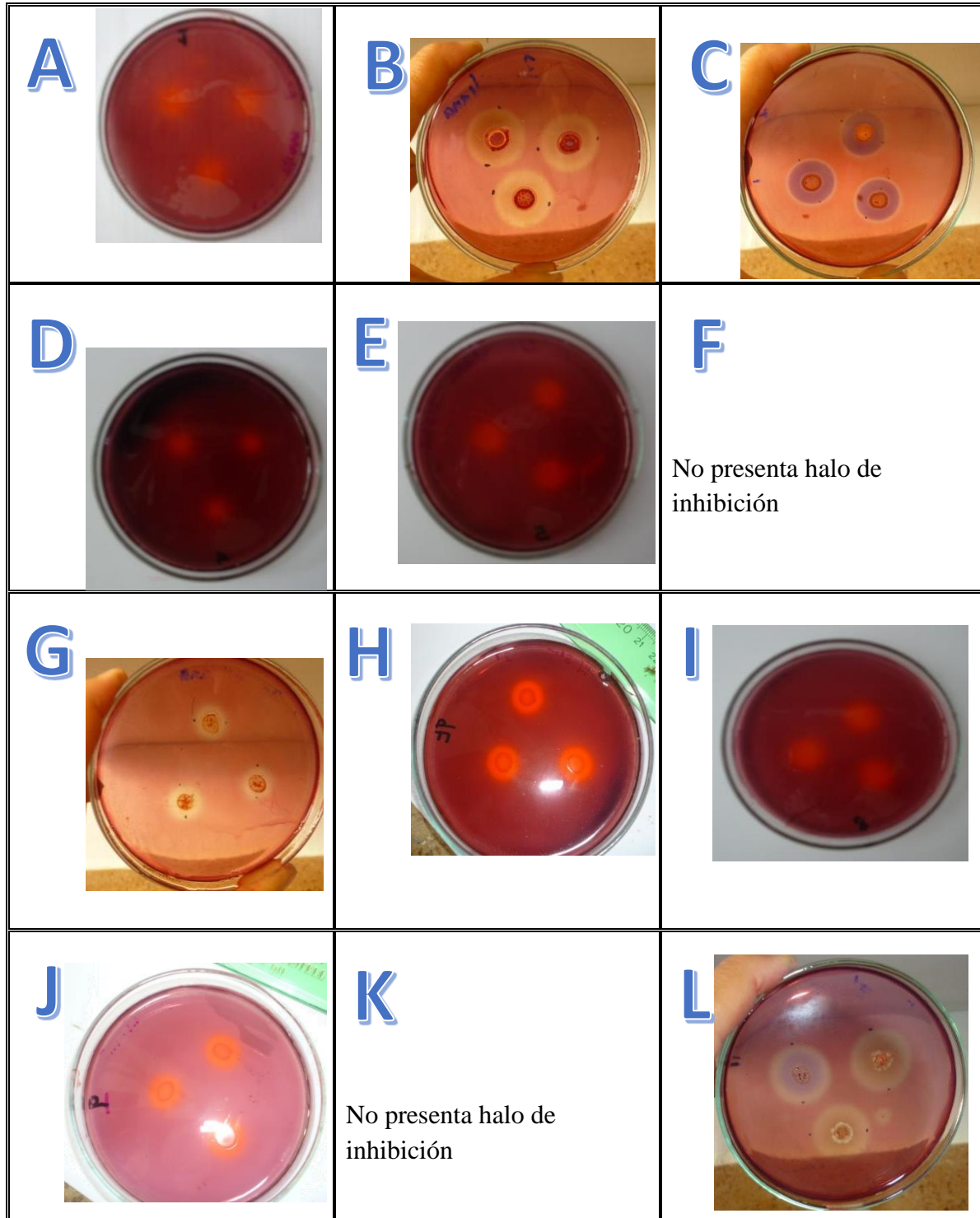
Fuente carbonada	1	2	3
Réplicas			
Water			
...-Methyl-D-Glucoside 2 0 0 3	1	1	1
D-Galactonic Acid ...-Lactone 3 2 2 0	1	1	1
L-Arginine 4 0 0 2	1	1	1
Pyruvic Acid Methyl Ester 5 0 0 0	1	1	1
D-Xylose 6 0 0 0	1	1	1
D-Galacturonic Acid 7 0 0 3	1	1	1
L-Asparagine 8 0 0 3	1	1	1
Tween 40 9 0 3 3	1	1	1
i-Erythritol 10 0 2 0	1	1	1
2-Hydroxy Benzoic Acid 11 0 0 3	0	0	0
L-Phenylalanine 12 0 0 2	1	1	1
Tween 80 13 0 0 0	1	1	1
D-Mannitol 14 0 3 3	1	1	1
4-Hydroxy Benzoic Acid 15 0 3 0	1	1	1
L-Serine 16 3 3 0	1	1	1
...-Cyclodextrin 17 0 0 0	1	1	1
N-Acetyl-D-Glucosamine 18 0 0 0	1	1	1
...-Hydroxybutyric Acid 19 0 0 0	0	0	0
L-Threonine 20 0 0 2	0	0	0
Glycogen 21 0 0 0	1	1	1
D-Glucosaminic Acid 22 3 3 0	1	1	1
Itaconic Acid 23 3 3 3	1	1	1
Glycyl-L Glutamic Acid 24 0 0 0	1	1	1
D-Cellobiose 25 3 3 0	1	1	1
Glucose-1-Phosphate 26 0 0 0	1	1	1
...-Ketobutyric Acid 27 0 0 3	0	0	0
Phenylethylamine 28 0 0 3	1	1	1
...-D-Lactose 29 0 0 3	1	0	0
D, L-...-Glycerol Phosphate 30 0 0 3	0	0	0
D-Malic Acid 31 0 0 0	1	1	1
Putrescine 32 2 2 0	1	1	1
<b>Fuentes de carbono positivas para todas las tres réplicas</b>	<b>25</b>		
<b>Fuentes de carbono negativas para todas las tres réplicas</b>	<b>5</b>		
<b>Fuentes de carbono positivas para 2 de las 3 réplicas</b>	<b>0</b>		
<b>Fuentes de carbono positivas para 1 de las 3 réplicas</b>	<b>1</b>		
<b>% de diversidad funcional</b>	<b>83%</b>		


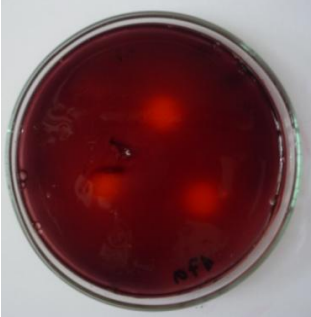
**ANEXO8.** Caracterización de la diversidad funcional y metabólica de las bacteria degradadoras de celulosa a través del método The Biolog Ecoplates™ de la planta *Portulaca oleracea L.*

Fuente carbonada	1	2	3
<b>Réplicas</b>			
<b>Water</b>			
..-Methyl-D-Glucoside 2 0 0 3	1	1	0
D-Galactonic Acid .-Lactone 3 2 2 0	1	1	1
L-Arginine 4 0 0 2	1	1	1
Pyruvic Acid Methyl Ester 5 0 0 0	1	1	1
D-Xylose 6 0 0 0	1	1	1
D-Galacturonic Acid 7 0 0 3	1	1	1
L-Asparagine 8 0 0 3	1	1	1
Tween 40 9 0 3 3	1	1	1
i-Erythritol 10 0 2 0	1	1	1
2-Hydroxy Benzoic Acid 11 0 0 3	0	1	1
L-Phenylalanine 12 0 0 2	1	1	1
Tween 80 13 0 0 0	1	1	1
D-Mannitol 14 0 3 3	1	1	1
4-Hydroxy Benzoic Acid 15 0 3 0	1	1	1
L-Serine 16 3 3 0	1	1	1
..-Cyclodextrin 17 0 0 0	1	1	1
N-Acetyl-D-Glucosamine 18 0 0 0	1	1	1
..-Hydroxybutyric Acid 19 0 0 0	0	1	1
L-Threonine 20 0 0 2	1	1	1
Glycogen 21 0 0 0	1	1	1
D-Glucosaminic Acid 22 3 3 0	1	1	1
Itaconic Acid 23 3 3 3	1	1	1
Glycyl-L Glutamic Acid 24 0 0 0	1	1	1
D-Cellobiose 25 3 3 0	1	1	1
Glucose-1-Phosphate 26 0 0 0	1	1	1
..-Ketobutyric Acid 27 0 0 3	0	0	0
Phenylethylamine 28 0 0 3	1	1	1
..-D-Lactose 29 0 0 3	1	1	1
D, L-..-Glycerol Phosphate 30 0 0 3	1	1	1
D-Malic Acid 31 0 0 0	1	1	1
Putrescine 32 2 2 0	1	1	1
<b>Fuentes de carbono positivas para todas las tres réplicas</b>	<b>27</b>		
<b>Fuentes de carbono negativas para todas las tres réplicas</b>	<b>1</b>		
<b>Fuentes de carbono positivas para 2 de las 3 réplicas</b>	<b>3</b>		
<b>Fuentes de carbono positivas para 1 de las 3 réplicas</b>	<b>0</b>		
% de diversidad funcional	<b>97%</b>		



**ANEXO 9.** Revelación en rojo Congo. A) Colonia 1, B) Colonia 2, C) Colonia 3, D) Colonia 4, E) Colonia 5, F) Colonia 6, G) Colonia 7, H) Colonia 8, I) Colonia 9, J) Colonia CMC10, K) Colonia 11, L) Colonia 12, M) Colonia 13, N) Colonia 14, O) Colonia 15, P) Colonia 16 y Q) Colonia 17



<p><b>M</b></p> <p>No presenta halo de inhibición</p>	<p><b>N</b></p> 	<p><b>O</b></p> <p>No presenta halo de inhibición</p>
<p><b>P</b></p> 	<p><b>Q</b></p> <p>No presenta halo de inhibición</p>	



## 12. BIBLIOGRAFIA

Acuña, O.; Peña, W.; Serrano, E.; Pocasangre, L.; Rosales, F.; Delgado, E.; Trejos, J.; Segura, A. (2006) Importancia de los Microorganismos en la Calidad y Salud de Suelos (Importance of Microorganisms for Soils Quality and Health). Laboratorio de Bioquímica, Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica, San José, Costa Rica

Álzate Ramírez J, D y Campiño arias D. (2014) actividad microbiana de suelos con manejo orgánico y convencional. Universidad tecnológica de Pereira, programa de tecnología química, Pereira, Risaralda.

Alcivar vega, M.D., vera Vargas, V.E., (2013) Aislamiento de bacterias celulolíticas a diferentes profundidades en plantación de teca (*Tectona grandis*) y pechiche (*vitex gigantea*); (tesis de pregrado) Escuela superior politécnica Agropecuaria de Manabi “Manuel Félix López”, calceta.

Alef, Nannipieri 1995, enrichment of physiological groups; chapter pag 130

Arteaga-Garibay, R. I.\*, Gómez-Estrada M. M., Martínez-Peña, M. D.; Cadena-Zamudio, J.D.; Avendaño-Arrazate (2016) Diversidad metabólica funcional de comunidades microbianas asociadas a suelo rizosférico de maíz (*zea mays* l.) razas amarillo-zamorano y jala. C. H Vol. 9, Núm. 8, agosto. 2016. pp: 87-91.

Avellaneda-Torres, L.M.; Melgarejo, L.M.; Narváez, C.E.; Sánchez, J. (2012). Actividades enzimáticas en consorcios bacterianos de suelos bajo cultivo de papa con manejo convencional y bajo pastizal. Revista Facultad Nacional De Agronomía Medellín, 65 (1),

Análisis de comunidades microbiana recuperado de:  
[http://www.biolog.com/pdf/milit/00A\\_012\\_EcoPlate\\_Sell\\_Sheet.pdf](http://www.biolog.com/pdf/milit/00A_012_EcoPlate_Sell_Sheet.pdf)

Stefanowicz A.(2006) The Biolog Plates Technique as a Tool in Ecological Studies of Microbial Communities; Department of Ecotoxicology, Institute of Environmental Sciences, Jagiellonian

University, ul. Gronostaowa 7, 30-387 Kraków, Poland; Polish J. of Environ. Stud. Vol. 15, No. 5 (2006), 669-676

Benavides, J., Quintero, G., Guevara, A., Jaimes, D., Gutiérrez, S., Miranda, J. (2006). Bioremediación de suelos contaminados con hidrocarburos derivados del petróleo; Programa de Ciencias Básicas. Universidad de la Salle. Facultad de Ciencias de la salud, Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca.

Bushnell, I.D.; Hass, H.E. Utilization of certain hydrocarbon by microorganisms. J. Bacteriol., 41: 653-658, 1941

Carolina, C. C., & María, A. B. (2011). Grupos funcionales de plantas en bordes de avance con potencial para la restauración de un bosque alto andino. *Acta Biológica Colombiana*, 16(1), 153-174. Retrieved from <http://search.proquest.com/docview/1677387406?accountid=36216>

Corona-Cruz, A I; Zamudio-Maya, M; Rojas-Herrera, R A; de la Cruz-Leyva, M C; González-de la Cruz, J U; (2015). IMPORTANCIA Y ESTUDIOS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS EN LOS RECURSOS Y PRODUCTOS PESQUEROS. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 2() 99-115. Recuperado de <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=358636340008> (REVISTA)(BUENA)

Cano, M. A. (2011). Interacción de microorganismos benéficos en plantas: *micorrizas*, *Trichoderma spp.* Y *Pseudomonas spp.* Una revisión. Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica, 14(2), 15-31. Recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0123-42262011000200003&lng=en&tlng=es](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0123-42262011000200003&lng=en&tlng=es)

Carreño Pineda, L. D., Caicedo Mesa, L. A., & Martínez Riascos, C. A. (2012). Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana: una revisión. *Ingeniería y Ciencia*, 8(16), 307-335 recuperado de [http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1794-91652012000200012&lng=en&tlng=](http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-91652012000200012&lng=en&tlng=)

Díez Londoño E. M. Montoya Posada L.M (2009) Estandarización de las metodologías para determinar el índice de enclado e identificación de tres grupos funcionales de microorganismos: degradadores de urea, proteolíticos y celulolíticos en suelos, en el laboratorio de análisis químico de suelos y foliares de la universidad tecnológica de Pereira- universidad tecnológica de Pereira-Pereira, Risaralda.

Díaz Borrego, L; Dupontt, J; Cantini, L y Soto, L M. Diversidad funcional de bacterias presentes en un suelo cultivado con guayaba (*Psidium guajava* L.).Ciencia [online]. 2007, vol.15, n.4, pp. 388-397. ISSN 1315-2076.

Elein, T. A., Leyva, Á., & Hernández, A. (2005). Microorganismos benéficos como biofertilizantes eficientes para el cultivo del tomate (*lycopersicon esculentum, mill*). Revista Colombiana De Biotecnología, 7(2), 47-54. Recuperado de <http://search.proquest.com/docview/1677632578?accountid=36216>

Espinosa, F. J. y J. Sarukhán, 1997. Manual de Malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México, D. F.

Franco Castro, L. A., & García Conde, M. R. (2012). Caracterización de las endomicorrizas y siete grupos de microorganismos en agro sistemas del piedemonte amazónico, Colombia. *Acta Biológica Colombiana*, 17(2), 349-362.

García Izquierdo, C; Hernández Fernández, T; (2004). Importancia de la medida de la actividad microbiana en suelos y materiales orgánicos. Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura (CEBAS-CSIC) Espinardo, Murcia (España). Recuperado de <http://www.soilace.com/pdf/pon2004/18.GarciaIzquierdo.pdf>

García, E. A; y Guerrero Legarrela, I;(2004) *Pseudomonas* en biotecnología. Universidad autónoma metropolitana- Iztapalapa; Revista biotecnología Vol 9.No 1. Pag 26 Recuperado de [http://www.smbb.com.mx/revista/Revista\\_2004\\_1/Pseudomonas.pdf](http://www.smbb.com.mx/revista/Revista_2004_1/Pseudomonas.pdf).

Gutiérrez, D., Hernández, A., Corrales, L. (2009) *Pseudomona oryzihabitans*: un microorganismo de creciente interés científico. Bacteriólogas y Laboratoristas clínicos de la Universidad Colegio Mayor Cundinamarca.

Heike Vibrans (ed.), Recuperado el 16 de agosto de 2009; Malezas de México; 06 agosto 2016; de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/conyza-bonariensis/fichas/ficha.htm>

Heike Vibrans (ed.), Recuperado el 29 de agosto de 2009; Malezas de México; 06 agosto 2016; de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/portulacaceae/portulacacoleracea/fichas/ficha.htm>.

Holt, J., Krieg, N., Sneath, P., Staley, J., Williams, S. (1994). *Bergey's Manual of Determinative bacteriology*. Estados Unidos. Ninth edition. Williams & Wilkins.

Jiménez Avella D. (2007) Caracterización molecular de cepas nativas colombianas de *Azotobacter spp.* Mediante el análisis de restricción del DNA ribosomal 16s (tesis de pregrado) universidad pontificia bolivariana, Bogotá D.C Colombia

Martín M., Martínez-Granero F. y Rivilla R. Colonización de la rizósfera por *Pseudomonas*; C/Darwin n°2. Departamento de Biología. Facultad de Ciencias. Universidad Autónoma de Madrid. 28049. Madrid.

Martínez-Anaya, C., Balcázar-López, E., Dantán-González, E. y Folch-Mallol J.L (2008) Celulasas fúngicas: Aspectos biológicos y aplicaciones en la industria energética; Rev Latinoam Microbiol; 50 (3-4): 119-131. Recuperado de [http://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-2008/mi08-3\\_4i.pdf](http://www.medigraphic.com/pdfs/lamico/mi-2008/mi08-3_4i.pdf)

Marquez, F (2007). Aislamiento y taxonomía de bacterias del genero Bacillus recolectadas de un bosque de pinus radiata y una pradera permanente en distintas épocas de muestreo. Universidad austral de Chile. Chile

Marzocca, A. 1976. Manual de malezas. Hemisferio Sur. Buenos Aires, Argentina.

Manual microbiología médica. 1998; Universidad nacional autónoma de México, Facultad de estudios superiores Zaragoza; Elaborado por: Q.F.B Araceli García del valle, Q.F.B Ma De las Mercedes Zamudio duran; Pagina 25 recuperado de: <https://books.google.com.co/books?isbn=9683671993>

Madigan M., M. J., (Ed.) (2005) Brock Biology of Microorganisms. 11 th ed. Upper Saddle River, NJ, Prentice Hall.

Meyer, J. M., Geoffroy, V. A., Baida, N., Gardan, L., Izard, D., Lemanceau, P., Achouak, W., y Palleroni, N. J. (2002) Siderophore typing, a powerful tool for the identification of fluorescent and nonfluorescent pseudomonads, Appl Environ Microbiol 68, 2745-2753.

Moya Álvarez, L.A (2011) Determinación de la capacidad celulolítica in vitro de consorcios de hongos provenientes de suelo del bosque alto andino y tusas de palma de aceite (*eleaeis guinensis jacq*) en descomposición sobre dos sustratos: tusa y celulosa microcristalina; (Tesis de Maestría); Universidad militar nueva granada, Bogotá, D. C.

Pérez Bernal L. Y. (2008) Evaluación microbiológica de la calidad del suelo el cultivos de tabaco (*nicotiana tabacum*) en los municipios de girón y piedecuesta (Santander) utilizando como indicadores los grupos funcionales de microorganismos. Universidad industrial de Santander. Santander-Colombia.

Rzedowski, G. C. de y J. Rzedowski, 2001. Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México.

Torres, M. V., & Lizarazo, L. M. (2006). Evaluación de grupos funcionales (ciclo del C, N, P) y actividad de la fosfatasa ácida en dos suelos agrícolas del departamento de Boyacá (Colombia). *Agronomía Colombiana*, 24 (2), 317-325.

Temas de bacteriología y virología médica 43 Fisiología y metabolismo bacteriano G. Varela, G. Grotiuz, pagina 43.

Zamora A., Malaver N. y Ramos J. (2012) Análisis funcional de microorganismos: un estimador de diversidad y estructura comunitaria. Laboratorio de Microbiología Ambiental, Instituto de Zoología y Ecología Tropical, Universidad Central de Venezuela. *Acta Biol. Venezuela.*, Vol. 32 (1):57-86 REVISIÓN Enero-Junio, 2012.



