

Diversidad funcional de bacterias presentes en un suelo cultivado con guayaba (*Psidium guajava* L.)

Laugeny Díaz-Borrego^{1*}, José Dupont¹, Liliana Cantini² y Luz Marina Soto²

¹Laboratorio de Microorganismos Fotosintéticos. ²Laboratorio de Microbiología Acuática. Departamento de Biología, Facultad Experimental de Ciencias, Universidad del Zulia, Apartado 526. Maracaibo 4001-A, estado Zulia, Venezuela.

Recibido: 06-03-07 Aceptado: 20-07-07

Resumen

Se estudió la estructura de las comunidades bacterianas heterotróficas de suelos cultivados con *Psidium guajava* L. (guayaba) y suelos control (no cultivados) desde el punto de vista morfológico y funcional para relacionarlos con las características fisicoquímicas de los suelos, con el objetivo de evaluar la diversidad funcional bacteriana. La determinación de las actividades funcionales de los aislados se evaluó a través de la actividad proteolítica, sacarolítica, amilolítica, celulolítica, lipolítica, desoxirribonucleasa y producción de H₂S. El grupo bacteriológico morfofuncional predominante fue el de los bacilos Gram positivos. En ambos suelos predominaron las actividades sacarolíticas y amilolíticas, encontrando diferencias significativas en la actividad celulolítica ($p < 0,01$). El análisis de Cluster reveló la presencia de 50 grupos funcionales diferentes, siendo las especies exclusivas equivalentes en ambos suelos. No se encontraron diferencias en el índice de diversidad, equidad y riqueza en los suelos ($p > 0,05$). Se estableció una correlación significativa entre los niveles de humedad y las especies funcionales más numerosas. La similitud en la diversidad funcional de las bacterias aisladas de ambos suelos, se debe a la similitud en sus características fisicoquímicas.

Palabras clave: Bacterias; diversidad funcional; suelo cultivado; *Psidium guajava* L.

Functional diversity of bacteria presents in a cultivated soil with guava (*Psidium guajava* L.)

Abstract

The structure of the heterotrophic bacterial communities in cultivated soils was determined in *Psidium guajava* L. (guava) cultivated and control soils regarding morphological and functional parameters to relate them with the soil physiochemical characteristics, with the objective to study the bacterial functional diversity. The determining of bacterial functional activities in isolates such as: proteolytic, saccharolytic, amilolytic, cellulolytic, lipolytic, desoxyribonuclease and production of H₂S were evaluated. The predominating morphofunctional bacteriologic group was Gram positive bacilli. In both soils the predominant functional activities were saccharolytic and amilolytic, with significant differences in cellulolytic activity ($p < 0.01$). Cluster's analysis revealed the existence of fifty different functional groups in both soils, being equi-

* Autor para la correspondencia. E-mail: laugeny@yahoo.com.

valent in exclusive species. No statistical differences were found in the diversity index, equity and soils richness ($p < 0.05$). A significant correlation was established between the levels of humidity and the functional most numerous species. Similar functional activities of isolated bacteria in both soils is due to similar physiochemical properties.

Key words: Bacteria; cultivated soil; functional diversity; *Psidium guajava* L.

Introducción

El término suelo se refiere a la sección exterior, poco compacta, de la superficie terrestre. Es la región en la que se sustenta la vida vegetal y de la cual las plantas obtienen soporte mecánico y muchos de sus nutrientes (1). Está formado principalmente por cinco componentes: materia mineral, agua, aire, materia orgánica y organismos vivos; sus características fisicoquímicas determinan la naturaleza del medio en el cual se encuentran los microorganismos, afectando la composición de las comunidades microscópicas, tanto cuantitativa como cualitativamente (1, 2).

Los organismos del suelo participan en el ciclo del carbono, regulación del reciclaje, 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, interacción con microorganismos patógenos o beneficiosos, y en la descomposición de muchos contaminantes nocivos para el suelo (3).

La diversidad biológica de las especies es crucial para el mantenimiento de los ecosistemas, y comprende tres elementos interrelacionados: diversidad taxonómica, diversidad genética y diversidad funcional; ésta última entendida como el número, tipo, actividades y tasa a las cuales son utilizados una serie de sustratos por las comunidades microbianas (4, 5).

El objetivo de este trabajo fue estimar la diversidad funcional de las comunidades bacterianas heterotróficas aeróbicas presentes en muestras de un suelo cultivado

con guayaba, en relación con sus características fisicoquímicas.

Materiales y Métodos

Área de estudio

Las muestras fueron tomadas de un suelo cultivado con guayaba (*Psidium guajava* L.) y suelo sin perturbar (control) de la granja agrícola "La Guayaba", ubicada en el Municipio Jesús Enrique Lossada (Estado Zulia), Kilómetro 18 Vía Palito Blanco. Perteneció a la Estación Campo de Pozos y se ubica a una Latitud Norte de 10°32'32", una longitud de 71°42'27" y una altitud de 55 msnm. Presenta un clima semi-árido, con una precipitación media anual de 437,1 mm, una evaporación media anual de 2.469 mm, y una temperatura media anual de 28,6°C. El período lluvioso se ubica entre los meses de Octubre a Diciembre y el período seco entre los meses de Enero hasta Noviembre.

Los suelos muestreados pertenecen al suborden *Aridisoils*, cuyos horizontes pedogénicos son pobres en materia orgánica y permanecen secos durante más de seis meses al año. El suelo control presenta una vegetación escasa conformada principalmente por malezas entre las cuales se encuentran *Portulaca oleracea* (Verdolaga) y *Cenchrus* spp. (Cadillo bobo). El suelo cultivado está sembrado con plantas de guayaba de cinco años de longevidad. El sistema de riego utilizado para mantener las cosechas es por microaspersión, y las plantaciones son regadas diariamente. El fertilizante utilizado está constituido por urea al 46%, aplicado esporádicamente cada 4 a 6 meses. Los pesti-

das son aplicados escasamente de acuerdo a las necesidades.

Características fisicoquímicas de los suelos

Tanto el suelo cultivado como el control están clasificados como suelos franco-arenosos, con una elevada tasa de reciclaje de nutrientes y una baja retención de agua. La temperatura en ambos favorece el crecimiento de microorganismos mesófilos, el pH de ácido a neutro favorece la actividad microbiana. La conductividad eléctrica es baja (0,08-0,10 mS/cm) influyendo en una disminución en la concentración de cationes Na^+ , K^+ , Mg^{+2} , Ca^{+2} . El contenido de materia orgánica es bajo (0,40-0,49%) contribuyendo a una rápida remoción por parte de los microorganismos. Los niveles de nitrógeno y fósforo son bajos, con una relación C:N:P para el suelo cultivado de 12:1:0,01 y de 16:1:0,001 para el control, catalogándose como suelos muy erosionados, con bajo contenido de materia orgánica y nutrientes. Las diferencias entre ambos suelos sólo se encuentran en la temperatura, pH y humedad (6) (Tabla 1).

Muestreos

Se realizaron tres muestreos intensivos durante el período de lluvias (octubre, noviembre y diciembre de 1997). En cada muestreo se tomaron 32 muestras en total, de las cuales 20 correspondieron al suelo cultivado y 12 al suelo control.

La toma de las muestras se realizó al azar tratando de cubrir la mayor área de estudio posible. Cada punto a muestrear fue limpiado con ayuda de una espátula para eliminar restos de maleza, guardando una distancia de un metro aproximadamente a partir del tronco de la planta, con la finalidad de no interferir con las raíces de la misma, la cual lleva intrínseca una gran carga bacteriana (rizósfera) (7).

Cada punto de muestreo se abordó con un barreno tomando los primeros 10 centímetros de profundidad (zona de mayor actividad biológica). Los utensilios utilizados durante esta parte del muestreo estaban desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 5% v/v y GERDEX, antes y después de cada perforación.

Las muestras de suelo se colocaron en bolsas con cierre hermético (previa rotulación) para ser refrigeradas a 4°C en una cava

Tabla 1
Valores de las características fisicoquímicas de los suelos

Variable	Suelo Cultivado	Suelo Control
Temperatura (°C)	31,35	39,18*
pH	6,76	6,33*
Humedad (%)	2,69	0,21*
Conductividad (mS/cm)	0,08	0,10
Materia orgánica (%)	0,40	0,49
Nitrógeno orgánico (%)	0,02	0,02
Fósforo aprovechable (ppm)	2,48	3,85
Sodio (Na^+) intercambiable (meq/100 g)	0,48	0,49
Calcio (Ca^{+2}) intercambiable (meq/100 g)	0,011	0,014
Magnesio (Mg^{+2}) intercambiable (meq/100 g)	0,016	0,014

*Valor de *p* significativo.
Fuente: Díaz y Soto (6).

con hielo y trasladadas al laboratorio para su análisis.

Análisis microbiológico

Cuantificación de bacterias heterotróficas aeróbicas

Se empleó el método de dilución en placas (8), suspendiendo 25 g de suelo en solución salina al 0,85% (base 10) y sembrando 0,1 mL del sobrenadante en placas de agar nutritivo, realizando un barrido con espátula Drigalsky. Las placas se incubaron en condiciones aeróbicas por 24 a 48 horas a 30°C. Las colonias crecidas se cuantificaron con un Contador de Colonias (Quebec) en aquellas placas que contenían de 30 a 300 colonias. Los resultados se expresaron como Unidades Formadoras de Colonias por gramo de suelo (UFC/g).

Aislamiento y caracterización de las cepas bacterianas

Se picó un total de 20 colonias al azar por muestra utilizando una tabla de números aleatorios. Una vez aisladas, a estas colonias se le realizó una caracterización macro y micromorfológica para luego ser sembradas en tubos de agar conservación por 24 a 48 horas a 30°C. La caracterización macromorfológica de las colonias se realizó tomando en consideración los siguientes aspectos: borde o margen de la colonia, elevación, forma, opacidad, cromogénesis, tamaño (en milímetros) y superficie de la colonia; y la caracterización microscópica mediante tinción de Gram para observar la forma, afinidad tintorial, y agrupación o arreglo de las bacterias (9).

Determinación de la actividad funcional de las bacterias aisladas (producción de exoenzimas)

Previo realización de las pruebas correspondientes a esta parte, las cepas fueron activadas en caldo nutritivo por 24 a 48 horas a 30°C, para garantizar el óptimo de crecimiento y actividad fisiológica para

la utilización de diferentes substratos orgánicos.

La actividad proteolítica se evaluó por la siembra de las cepas aisladas en gelatina nutritiva (10). La producción de H₂S por las bacterias se evaluó en agar TSI (tres azúcares y hierro) (10). La actividad sacarolítica en azúcares simples se realizó en agar base rojo de fenol con los siguientes azúcares al 1%: glucosa, lactosa o sacarosa (11). La actividad celulolítica se evaluó según Hankin y Anagnostakis (12); mientras que la actividad amilolítica se evaluó por la siembra de las bacterias en agar nutriente con almidón al 0,2% (10). La actividad lipolítica se realizó según Sierra (13) con aceite de maíz o tween 80 como fuente de lípidos; y la actividad desoxirribonucleasa se evaluó por la siembra de las cepas aisladas en agar ADN (10). Como controles para cada prueba, se emplearon cepas ATCC y cepas de la Colección "Anibal Zaindemberg" (Facultad Experimental de Ciencias de la Universidad del Zulia).

Análisis Estadístico

Se aplicó la prueba de *t-student* y de Wilcoxon para comparación de dos medias, y de correlación de Pearson con un nivel de significancia del 95%, con el programa Statistica for Windows ver 4.3. Se realizó un análisis de cluster y se estimó el índice de diversidad (Shannon-Weaver, H'), índice de equidad (E) y riqueza mediante el programa NTSYST.

Resultados y Discusión

Cuantificación y caracterización de bacterias del suelo

El promedio de los recuentos bacterianos en el suelo cultivado fue de $4,2 \times 10^4$ UFC/g y en el control de $1,84 \times 10^4$ UFC/g, sin diferencias significativas ($p > 0,05$). Se logró el aislamiento de 509 cepas bacterianas de las cuales 356 (69,94%) provinieron del suelo cultivado y 153 (30,06%) del suelo control.

El orden de aparición de los grupos morfológicos bacterianos para el suelo cultivado y

control fue de bacilos Gram positivos (89,88% y 82,35%), cocos Gram positivos (8,68% y 16,99%) y bacilos Gram negativos (1,40% y 0,65%), respectivamente. El predominio de los bacilos Gram positivos en relación al resto de los grupos morfológicos coincide con lo reportado por Antía (11), quien establece que en los suelos predominan los bacilos esporulados, adaptados para resistir a las condiciones adversas de los suelos.

Actividades funcionales de las bacterias

En la Tabla 2 se representan los valores de las actividades funcionales de las cepas aisladas a partir de ambos suelos. Para los dos suelos, la actividad fisiológica predominante fue la fermentación de azúcares simples e hidrólisis del almidón; lo que se explica porque estas moléculas son las más fáciles de degradar debido a su alta solubilidad en agua, siendo más accesibles al ataque enzimático (1, 7). Ivleva *et al.* (14) establecen que en los suelos bajo control en la fertilización e irrigación, se incrementan los niveles de mineralización de sustancias hidrolizables, incluyendo aquellas solubles en agua como los azúcares.

No se encontraron diferencias significativas en ambos suelos en la mayoría de las actividades funcionales. Sólo se encontraron diferencias altamente significativas en la actividad celulolítica, la cual fue mayor en el suelo cultivado ($Z=2,5887$; $p<0,01$). En el suelo cultivado la adición de fertilizantes con nitrógeno inorgánico condiciona a un aumento de la descomposición de la celulosa; además, en las gramíneas (predominantes en el suelo control), la celulosa sólo representa un 15% del peso seco, mientras que en las plantas leñosas como la guayaba, este contenido de celulosa representa un 50% del peso seco de la planta (1).

No se encontraron diferencias significativas en los valores correspondientes a las actividades lipolíticas sobre tween 80 y aceite de maíz, en ambos suelos. Esto se debe a que ambos lípidos a pesar de tener diferente naturaleza, están constituidos por los mismos ácidos grasos: ácido linoléico (mayor proporción), oléico, palmítico y esteárico (15).

Grupos funcionales bacterianos

Tabla 2
Valores de las actividades funcionales de las cepas bacterianas (Prueba de Wilcoxon)

Actividad funcional	Porcentaje (%) suelo cultivado	Porcentaje (%) suelo control	Valor de Z	Valor de p
Proteolítica (GEL)	57,27	46,38	1,5689	0,1166
Producción de H ₂ S (H2S)	0,09	0,05	0,9128	0,5829
Sacarolítica de glucosa (GLU)	86,50	90	0,5491	0,5829
Sacarolítica de sacarosa (SAC)	68,25	63,36	1,0198	0,3078
Sacarolítica de lactosa (LAC)	10,62	15,15	0,2548	0,7988
Celulolítica (CEL)	46,31	27,35	2,5887	0,0096*
Amilolítica (ALM)	57,36	56,81	0,2353	0,8139
Lipolítica de Tween 80 (T80)	52,48	44,04	0,4706	0,6378
Lipolítica de aceite de maíz (MAI)	40,42	40,92	0,2353	0,8139
Desoxirribonucleasa (ADN)	15,24	7,37	1,8671	0,061

*Valor de p significativo.

Tabla 3
Número de grupos funcionales bacterianos derivados del análisis de Cluster

Grupo funcional	N° de aislamientos	% Suelo cultivado	% Suelo control	Actividad funcional
1	19	4,21	2,61	Fuentes alternas de carbono
2	20	3,09	5,88	GLU, el resto de todas las actividades excepto CEL
3	1	0,28	0	GLU, el resto de actividades (excepto CEL), no posee actividad LIP
4	3	0,84	0	GLU, crece en todos los medios excepto ALM
5	1	0,28	0	GEL, GLU
6	24	5,05	3,92	GEL
7	24	4,49	5,22	GEL, GLU, SAC, LAC, T80
8	2	0,56	0	T80
9	3	0,56	0,65	Fuentes alternas de carbono, no crecen en TSI
10	8	1,40	1,96	T80, MAI
11	14	2,24	3,92	GLU, T80
12	12	2,53	1,96	GEL, SAC, MAI
13	5	1,42	0	GLU, T80, ADN
14	3	0,28	1,31	T80, MAI, ADN
15	1	0	0,65	GEL, T80, MAI
16	4	0,28	1,96	GLU, SAC
17	1	0	0,65	GEL, GLU, ALM
18*	58	13,20	7,84	CEL
19*	73	16,85	8,49	ALM, MAI
20	9	1,68	1,96	LAC, CEL, ALM, MAI
21	36	7,87	5,23	GLU, CEL
22	16	2,81	3,92	GLU, T80
23	21	4,21	3,92	GLU, CEL, ALM, T80
24*	67	10,39	19,61	GLU, LAC, ALM

Tabla 3
(Continuación)

Grupo funcional	N° de aislamientos	% Suelo cultivado	% Suelo control	Actividad funcional
25	10	1,12	3,92	GLU, GEL, ADN
26	13	2,53	2,61	GLU, LAC, SAC
27	3	0,28	1,31	GLU, SAC, LAC, ALM
28	11	2,25	1,96	GLU, T80, GEL, ALM
29	1	0,28	0	GLU, LAC, ALM, T80, GEL
30	1	0,28	0	GLU, SAC, ALM, MAI, GEL
31	1	0,28	0	GLU, CEL, MAI, ADN
32	1	0,28	0	H2S, GLU, CEL, MAI, ADN
33	3	0,56	0,65	GLU, LAC, CEL, MAI
34	3	0,84	0	GEL, CEL, ADN
35	1	0,28	0	GLU, SAC, ADN
36	1	0,28	0	ALM, T80, ADN
37	3	0,84	0	GLU, ALM, T80, MAI, ADN
38	3	0,84	0	ADN
39	1	0	0,65	GLU, SAC, LAC, T80, ADN
40	1	0,28	0	GLU, SAC, LAC, CEL, T80
41	1	0	0,65	GLU, LAC, T80, ADN
42	12	2,25	2,61	GLU, LAC
43	1	0	0,65	GLU
44	1	0,28	0	GLU, CEL
45	5	0,56	1,96	GLU, LAC, ALM, T80
46	1	0,28	0,65	GLU, ALM
47	1	0,28	0	ALM, T80, MAI
48	1	0,28	0	GEL, ALM
49	1	0,28	0	GEL, ALM (crece en azúcares y ADN sin hidrolizantes)
50	1	0	0,65	Crece en ALM, T80, ADN sin hidrolizantes

*Grupos funcionales predominantes.

A un nivel del 80% de similitud, el análisis de cluster reflejó la conformación de 50 grupos fisiológicos bacterianos (Tabla 3).

Para el suelo cultivado se encontraron diecinueve grupos funcionales exclusivos (N° 3, 4, 5, 8, 13, 29, 30, 31, 32, 34, 35, 36, 37, 38, 40, 44, 47, 48 y 49); mientras que para el suelo no cultivado se encontraron solamente siete grupos (N° 15, 17, 39, 41, 43, 46 y 50). También se encontraron varios grupos funcionales idénticos a un 100% de similitud, tanto para cada tipo de suelo, como para ambos suelos; representados en los grupos N° 1, 2, 6, 7, 10, 11, 12, 13, 18, 19, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 28, 33, 37, 42 y 44 (Tabla 3).

Es posible que la mayoría de las bacterias que se encuentran en el suelo control formen parte de la microflora autóctona del suelo, dedicada a la degradación de biomoléculas complejas (estrategas *K*), mientras que las del suelo cultivado pertenecen, en su mayoría, a la microflora residente (estrategas *R*), cuya permanencia depende de su capacidad para utilizar ciertos sustratos (1, 7).

La presencia de grupos equivalentes en ambos suelos le confiere estabilidad a la comunidad bacteriana al mantener la actividad degradativa sobre la materia orgánica. Esto garantiza que las comunidades bacterianas sean capaces de mantener el flujo de nutrientes en dichos ecosistemas.

Las especies funcionales 18, 19 y 24 fueron las más importantes, dictado por el número cuantioso de aislamientos, con predominio de cepas con actividad sacarolítica (azúcares simples), amilolítica, lipolítica y celulolítica.

En lo que respecta a la aparición de grupos multifuncionales, se encontró que de los 50 grupos evaluados, 12 grupos exhibieron al menos 2 actividades fisiológicas diferentes, 5 grupos realizaron 3 actividades, 9 grupos evidenciaron 4 funciones, y 5 gru-

pos realizaron al menos 5 actividades funcionales. Estas especies multifuncionales son de gran importancia para los suelos debido a su versatilidad en el consumo de diversos sustratos.

Diversidad, equidad y riqueza de las especies funcionales

Se obtuvo un H' que osciló entre 0,66 y 1,096 para el suelo cultivado y entre 0,594 y 1,056 para el suelo control, sin diferencias significativas ($t= 1,3546$; $p>0,05$). Estos rangos similares de diversidad se deben a que no existen diferencias significativas en los parámetros fisicoquímicos del suelo. Sin embargo, pueden existir factores que actúan a pequeña escala que condicionan la existencia de estas especies o que las mantiene el efecto "planta".

Antía (11) reportó un H' de 0,305 para comunidades bacterianas de suelos cultivados con heno y de 0,286 para suelos controles, los cuales son menores que los obtenidos en este trabajo. Mientras que Tam *et al.* (16) encontraron índices de diversidad en la rizósfera de las plantas mayor que en el suelo ($H'= 3,023$ y $2,770$). Esto puede deberse a diferencias en las zonas geográficas y tipos de cultivos utilizados por ambos autores.

Los índices de equidad (E) oscilaron entre 0,858 y 0,957 para el suelo cultivado y entre 0,804 y 0,898 para el control, sin diferencias significativas ($t -0,2010$; $p>0,05$), presumiendo que las especies se distribuyen de forma homogénea en ambos suelos.

El número de especies (riqueza) por muestra en el suelo cultivado osciló entre 6 y 14; mientras que para el suelo control osciló entre 4 y 12, sin diferencias significativas ($t= 1,5664$; $p> 0,05$).

Se estableció una correlación positiva altamente significativa entre el índice de diversidad y la riqueza de especies de ambos suelos ($r=0,940$, $p<0,01$). Esta se explica porque ambos son parámetros colineales, pues-

to que al incrementar el número de especies aumenta la diversidad funcional de éstas.

Correlación entre las especies funcionales y los parámetros fisicoquímicos

Se establecieron correlaciones entre las especies funcionales más numerosas (N° 18, 19 y 24) con los parámetros fisicoquímicos, encontrando que la humedad fue el factor que aparentemente influyó más en sus actividades funcionales ($r=0,4565$, $p<0,01$; $r=0,4169$, $p<0,05$; $r=0,4603$, $p<0,01$), respectivamente. Esto es sustentado por algunos autores quienes establecen que la humedad ejerce una influencia positiva al aumentar la descomposición de biomoléculas, especialmente aquellas estructuralmente complejas (17, 18).

El punto crítico de la diversidad funcional radica en que para que se mantenga una determinada función en el ecosistema se requiere de un mínimo de organismos para desarrollar las interrelaciones que median el flujo de energía, el reciclaje de los elementos y los patrones espaciales y temporales de la vegetación. Además, se conoce que esta composición de organismos varía con las condiciones ambientales en las que opera el sistema (19).

Conclusiones

La similitud en las características fisicoquímicas de los suelos están influenciadas por el tipo de cultivo perenne establecido y las escasas fertilizaciones. La diversidad funcional bacteriana de ambos suelos es parecida, lo que evidencia la similitud en los índices de diversidad, riqueza y equidad de las especies funcionales.

Agradecimientos

Los autores agradecen a Arístides Sarmiento por permitir realizar las actividades de muestreo en las instalaciones de su granja, y al personal del Laboratorio de Ecología Microbiana y Biotecnología, FEC-LUZ, por

la colaboración prestada para el desarrollo de esta investigación.

Referencias Bibliográficas

1. ALEXANDER M. *Introducción a la Microbiología del Suelo*. 2^{da} Edición. AGT. Editor, S.A. México (México). pp. 191, 1980.
2. HASSINK J., BOUWMAN L. A., ZWART K.B., BRUSSARD L. *Soil Biol Bioch* 25 (1): 47-55, 1993.
3. DEGENS B.P. *Aust J Soil Res* 35: 431-459, 1997.
4. WILSON E.O. *The diversity of life* Belknap, Cambridge. Massachusetts, USA. pp. 180, 1992.
5. ZACK J.C., WILLIG M.R., MOORHEAD D.L., WILDMAN H.G. *Soil Biol Biochem* 26(9): 1101-1108, 1994.
6. DÍAZ L., SOTO L. *Ciencia* 8(1): 31-40, 2000.
7. ATLAS R., BARTHA R. *Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental*. Cuarta Edición. Editorial Pearson Educación, SA. Madrid (España), pp. 677, 2002.
8. MADIGAN M.T., MARTINKO J.M., PARKER J. *Biología de los Microorganismos*. 10ma Edición. Editorial Prentice Hall, Inc. Madrid (España), pp. 1011, 2004.
9. MATA S., GÓMEZ M., MUÑOZ F., CARBALLO M., GONZÁLEZ S., MONTES T., LANDAETA M.E., HERNÁNDEZ C., UZCATEGUI C. *Guía de trabajo práctico de Microbiología* Ediciones de la Biblioteca -EBUC, Caracas (Venezuela), pp. 230, 2003.
10. MAC FADDIN J.F. 2000. *Biochemical Test for Identification of Medical Bacteria*. Third Edition. Lippincott Williams & Wilkins, United States of America, pp. 912, 2000.
11. ANTIA A. Estudio ecológico de las comunidades microbianas heterotróficas de un suelo en condiciones naturales y sometido a manejo agrícola (Tesis de Doctor en Ecología). Universidad Central de Venezuela, Caracas (Venezuela). pp. 198, 1995.
12. HANKIN L., ANAGNOSTAKIS S.L. *Mycologia* 67: 597- 607, 1975.

13. SIERRA G. *Anton van Leuw Ned Tijdschr Hyg* 23:15-22, 1957.
14. IVLEVA S.N., SHCHEBAKOVA T.A., SHIMKO N.A., SVIRNOVSKAYA V.G. *Euras Soil Sci* 26(5):113-116, 1994.
15. RAWN D.J. *Bioquímica*. Vol I, Interamericana Mc Graw-Hill, Madrid (España), pp. 210, 1989.
16. TAM L., DERRY A.M., KEVAN P.G., TREVORS J.T. *J Biod and Conserv* 10 (11): 1933-1947, 2004.
17. SAGARDOY M.A. *Rev Lat-amer Microbiol* 19 :33-40, 1977.
18. DONELLY P.K., ENTRY J.A., CRAWFORD D.L., CROMACK K. *Microb Ecol* 20: 289-295, 1990.
19. FOLKE C., HOLLOWING C.S., PERRINGS C. *Ecol Appl* 6(4): 1018-1024, 1996.