



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

**Trabajo de titulación presentado como requisito previo a la obtención del
título de Ingeniero Forestal**

**Fijación de nitrógeno en nódulos de raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a
diferentes edades en la zona de Intag, Noroccidente del Ecuador**

AUTOR

Farinango León Fausto Cristóbal

DIRECTORA

Ing. María Isabel Vizcaíno Pantoja, Esp.

IBARRA – ECUADOR

2018

UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

FACULTAD DE INGENIERÍA EN CIENCIAS

AGROPECUARIAS Y AMBIENTALES

CARRERA DE INGENIERÍA FORESTAL

Fijación de nitrógeno en nódulos de raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag, Noroccidente del Ecuador

Trabajo de titulación revisado por el Comité Asesor, por lo cual se autoriza la presentación como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO FORESTAL

APROBADO

Ing. Maria Isabel Vizcaino Pantoja, Esp.

Directora de trabajo de titulación



Abg. Segundo Feliciano de la Torre Catucumbamba, MSc.

Tribunal de trabajo de titulación



Ing. Mario José Añazco Romero, PhD.

Tribunal de trabajo de titulación



Lic. Harold Octavio Ceballos Pérez, MSc

Tribunal de trabajo de titulación



Ibarra - Ecuador

2018



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE
BIBLIOTECA UNIVERSITARIA
AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE
LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

1. IDENTIFICACIÓN DE LA OBRA

La Universidad Técnica del Norte dentro del proyecto repositorio Digital Institucional, determinó la necesidad de disponer de textos completos en formato digital con la finalidad de apoyar los procesos de investigación, docencia y extensión de la Universidad.

Por medio del presente documento dejo sentada mi voluntad de participar en este proyecto, para lo cual pongo a disposición la siguiente información:

DATOS DE CONTACTO	
Cédula de ciudadanía:	100365428-0
Apellidos y nombres:	Farinango León Fausto Cristóbal
Dirección:	Santa Lucía del Retorno - Urb. ECOVIDA
Email:	cristo_93@hotmail.es
Teléfono fijo:	2510-391
Teléfono	0980566759

DATOS DE LA OBRA	
Título:	Fijación de nitrógeno en nódulos de raíces de <i>Alnus nepalensis</i> D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag, Noroccidente del Ecuador
Autor:	Farinango León Fausto Cristóbal
Fecha:	22-02-2018
SOLO PARA TRABAJOS DE TITULACIÓN	
Programa:	Pregrado
Título por el que opta:	Ingeniero Forestal
Directora:	Ing. María Isabel Vizcaíno Pantoja, Esp.

2. AUTORIZACIÓN DE USO A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD

Yo, Farinango León Fausto Cristóbal, con cédula de ciudadanía Nro. 100365428-0, en calidad de autor y titular de los derechos patrimoniales de la obra o trabajo de grado descrito anteriormente, hago la entrega del ejemplar respectivo en formato digital y autorizo a la Universidad Técnica del Norte, la publicación de la obra en el Repositorio Digital Institucional y uso del archivo digital en la Biblioteca de la Universidad con fines académicos, para ampliar la disponibilidad del material y como apoyo a la educación, investigación y extensión; en concordancia con la Ley de Educación Superior, Artículo 144.

3. CONSTANCIA

El autor manifiesta que la obra objeto de la presente autorización es original y se la desarrolló sin violar derechos de autor de terceros; por lo tanto, la obra es original y es el titular de los derechos patrimoniales, por lo que asumen la responsabilidad sobre el contenido de la misma y saldrán en defensa de la Universidad en caso de reclamación por parte de terceros.

Ibarra, 22 de febrero del 2018

EL AUTOR:



Farinango León Fausto Cristóbal
C.C.: 100365428-0

ACEPTACIÓN:



Ing. Betty Mireya Chávez Martínez
JEFA DE BIBLIOTECA



UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

CESIÓN DE DERECHOS DEL AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE

Yo, Farinango León Fausto Cristóbal, con cédula de ciudadanía Nro. 100365428-0; manifiesto la voluntad de ceder a la Universidad Técnica del Norte los derechos patrimoniales consagrados en la Ley de Propiedad Intelectual del Ecuador, artículos 4, 5 y 6, en calidad de autor de la obra o trabajo de titulación denominado **Fijación de nitrógeno en nódulos de raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag, Noroccidente del Ecuador**, que ha sido desarrollado para optar por el título de Ingeniero Forestal en la Universidad Técnica del Norte, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente. En mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato impreso y digital a la Biblioteca de la Universidad Técnica del Norte.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Farinango León Fausto Cristóbal', is written over a horizontal dotted line.

Farinango León Fausto Cristóbal
C.C.: 100365428-0

Ibarra, a los 22 días del mes de febrero del 2018

REGISTRO BIBLIOGRÁFICO

Guía: FICAYA - UTN

Fecha: 22 de febrero del 2018

Farinango León Fausto Cristóbal: **Fijación de nitrógeno en nódulos de raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag, Noroccidente del Ecuador/ Trabajo de titulación. Ingeniero Forestal. Universidad Técnica del Norte. Carrera de Ingeniería Forestal. Ibarra, 22 de febrero del 2018, 100 páginas.**

DIRECTORA: Ing. María Isabel Vizcaino Pantoja, Esp.

El objetivo principal de la presente investigación fue: Determinar las características organolépticas y la cantidad de nitrógeno fijado en nódulos de las raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag.

Fecha: 22 de febrero del 2018



Ing. María Isabel Vizcaino Pantoja, Esp.

Directora de trabajo de titulación



Farinango León Fausto Cristóbal

Autor

DEDICATORIA

A Dios, por darme toda la fuerza, sabiduría y paciencia para actuar en épocas difíciles como en fáciles; A mis Padres y familia que ha estado apoyándome en todo el trascurso de mis estudios; A todos los docentes universitarios que han impartido sus conocimientos y me han apoyado día tras día en el proceso de formación a lo largo de toda mi vida universitaria, con la insistencia y preocupación de forjar un profesional que cumpla con los requerimientos que demanda la situación actual del medio en el que nos desenvolvemos, en especial a la Ingeniera María Vizcaíno por su apoyo y amistad en este trabajo, por su constancia en la elaboración del documento; a mis amigos, al equipo de trabajo del departamento de Gestión Ambiental del Ilustre Municipio de Ibarra, compañeros y personas que siempre estuvieron apoyándome a lo largo de toda mi vida, quienes me han brindado apoyo en momentos difíciles y el interés que han reflejado en mi superación día tras días..

AGRADECIMIENTO

A mis padres, hermanas, al Sr. Luis Mora, al Sr. Iván Ayala, al Sr. Carlos Ruiz, a la Ing. Karla Dávila, a la Ing. María Vizcaíno, al PhD. Mario Añazco, al MSc. Harold Ceballos, al Ing. Eduardo Chagna, al Ab. Segundo de la Torre, al Sr. Eduardo Echeverría, a la Directora del Departamento de Gestión Ambiental Ing. Dayana Albán de la Ilustre Municipalidad de Ibarra, su equipo técnico y a todo el cuerpo docente de la Carrera de Ingeniería Forestal de la Universidad Técnica del Norte quienes han impartido sus conocimientos en el transcurso de todos los años en las aulas universitarias.

A demás agradezco al grupo técnico de los laboratorios de AGROCALIDAD quienes facilitaron la utilización de las instalaciones y apoyaron en la obtención de los resultados requeridos, a todos mis amigos y amigas que en su debido momento apoyaron o incentivaron a la culminación del proceso universitario, mis más sinceros agradecimientos.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

	Págs.
HOJA DE APROBACIÓN DEL COMITÉ ASESOR	ii
AUTORIZACIÓN DE USO Y PUBLICACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE	iii
CESIÓN DE DERECHOS DEL AUTOR DEL TRABAJO DE TITULACIÓN A FAVOR DE LA UNIVERSIDAD TÉCNICA DEL NORTE.....	v
REGISTRO BIBIOGRÁFICO.....	vi
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO.....	viii
ÍNDICE DE CONTENIDOS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	xv
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xv
ÍNDICE DE FIGURAS	xviii
RESUMEN	xix
ABSTRACT	xx
CAPÍTULO I	1
INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Objetivos.....	3
1.1.1 General	3
1.1.2 Específicos.....	3
1.2 Hipótesis	3
1.2.1 Nula	3

	Págs.
1.2.2 Alterna	3
CAPÍTULO II.....	4
MARCO TEÓRICO.....	4
2.1 Fundamentación legales.....	4
2.2 Fundamentos teóricos	5
2.2.1 <i>Alnus nepalensis</i>	5
2.2.1.1. Descripción taxonómica.....	5
2.2.1.2. Descripción botánica	6
2.2.1.2.1. Hojas	6
2.2.1.2.2. Flores.....	6
2.2.1.2.3. Frutos	7
2.2.1.3. Ecología.....	7
2.2.1.4. Servicios	8
2.2.2. Nitrógeno.....	9
2.2.2.1. Ciclo	9
2.2.2.2. Fijación biológica.....	11
2.2.3. Agentes fijadores de nitrógeno atmosférico.....	13
2.2.3.1. <i>Frankia</i>	14
2.2.3.2. <i>Rhizobium</i>	15
2.2.3.3. Simbiosis	17
2.2.4. Nódulos	17
2.2.4.1. Infección.....	19
2.2.4.2. Formación.....	19

	Págs.
2.2.4.3. Factores que afectan la nodulación	21
2.2.5. Aislamiento de la bacteria <i>Frankia</i>	22
2.2.6. Efecto del componente arbóreo sobre el suelo	22
2.2.6.1. Bombeo de nutrientes por árboles	22
2.2.6.2. Efectos de la materia orgánica sobre las propiedades biológicas del suelo	23
2.2.6.3. Efecto en la estructura del suelo.....	24
2.2.7. Investigaciones relacionadas	25
2.2.7.1. Seasonal variation in nitrogen fixation by different ages of roots nodules of <i>Alnus nepalensis</i> plantations, in the Eastern Himalayas.....	25
2.2.7.2 Fijación biológica de nitrógeno por cuatro fabáceas en suelos ácidos de Tabasco, México.....	26
2.2.7.3 Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados	26
 CAPÍTULO III	 27
MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1 Descripción del sitio	27
3.1.1. Política.....	27
3.1.1.1. Campo	27
3.1.1.2. Laboratorio	27
3.1.2 Geográfica	27
3.1.3 Límites.....	28
3.2 Datos climáticos.....	28
3.3 Materiales, equipos e insumos	28

	Págs.
3.3.1	Materiales 28
3.3.1.1	Campo 28
3.3.1.2	Laboratorio 29
3.3.1.3	Vegetativo 29
3.3.2	Equipos..... 29
3.4	Metodología 30
3.4.1	Selección de árboles 30
3.4.2	Medición del diámetro a la altura del pecho, altura y diámetro de copa..... 30
3.4.3	Determinación del área radicular 30
3.4.4	Extracción de nódulos en raíces a varias edades de crecimiento 31
3.4.4.1	Transporte..... 31
3.4.5	Determinación de características físicas y organolépticas de nódulos de raíces.... 31
3.4.6	Determinación de la cantidad de nitrógeno fijado por árbol 32
3.4.7	Análisis estadístico 32
3.4.7.1	Análisis de características fisicoquímicas del suelo..... 33
3.4.8	Determinación del agente fijador de nitrógeno 33
CAPÍTULO IV 35
RESULTADOS Y DISCUSIONES 35
4.1	Resultados 35
4.1.1	Determinar características dasométricas a diferentes edades 35
4.1.1.1	Selección de árboles 35
4.1.1.2	Medición del diámetro a la altura del pecho. 35
4.1.1.3	Medición de la altura..... 36

	Págs.
4.1.1.4 Medición de diámetro de copa	37
4.1.1.5 Determinación del área radicular	38
4.1.2 Determinación de características físicas y organolépticas de nódulos de raíces....	39
4.1.3 Determinación de la cantidad de nitrógeno fijado por árbol	40
4.1.4 Prueba de <i>t</i> de Student	41
4.1.5 Análisis de correlación	41
4.1.6 Regresión lineal	42
4.1.7 Análisis de suelo.....	43
4.1.8 Determinación del agente fijador de nitrógeno	44
CAPÍTULO V	45
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	45
5.1 Conclusiones	45
5.2 Recomendaciones	46
CAPÍTULO VI.....	47
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
CAPÍTULO VII.....	56
ANEXOS	56
Anexo 1. Ubicación del sitio	56
Anexo 2. Correlaciones y regresiones analizadas	57
Anexo 3. Correlaciones	58
Anexo 4. Regresiones.....	60

Págs.

Anexo 5. Líneas de tendencia del coeficiente de determinación R^2 para las variables superiores al 80%	61
Anexo 6. Registro fotográfico	62

ÍNDICE DE TABLAS

	Págs.
Tabla 1. Ubicación geográfica.....	27
Tabla 2. Localización	30
Tabla 3. Peso de muestras de nódulos en fresco y seco	39
Tabla 4. Concentración de nitrógeno.....	40
Tabla 5. Prueba de t de Student para porcentaje de nitrógeno presente en los nódulos	41
Tabla 6. Análisis de correlación	41
Tabla 7. Análisis de regresión lineal.....	42
Tabla 8. Porcentajes promedios de los análisis de suelo	43
Tabla 9. Tablas de interpretación de resultados de análisis de suelo.....	43
Tabla 10. Variables consideradas para las correlaciones y regresiones.	57
Tabla 11. Correlaciones de las variables	58
Tabla 12. Regresiones de las variables	60

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

	Págs.
Ilustración 1. Muestra dendrológica de <i>Alnus nepalensis</i>	5
Ilustración 2. Ciclo del Nitrógeno.....	9
Ilustración 3. Ubicación del sitio de estudio	56
Ilustración 4. Recolección de muestras de suelo.....	62
Ilustración 5. Embalaje de muestras de suelo	62
Ilustración 6. Recolección de muestras de suelo.....	63
Ilustración 7. Recolección de muestra de suelo	63
Ilustración 8. Identificación de muestra de suelo.....	63
Ilustración 9. Pesaje de muestras de agua	63
Ilustración 10. Identificación de muestras de suelo	64

	Págs.
Ilustración 11. Cooler para transporte de muestras.....	64
Ilustración 12. Extracción de nódulos.....	64
Ilustración 13. Recolección de muestras de nódulos	64
Ilustración 14. Equipos de laboratorio	65
Ilustración 15. Materiales de laboratorio	65
Ilustración 16. Análisis de suelo	65
Ilustración 17. Espectrofotómetro.....	65
Ilustración 18. Análisis de fósforo	66
Ilustración 19. Registro de análisis de fosforo.....	66
Ilustración 20. Análisis de materia orgánica.....	66
Ilustración 21. Análisis de suelo	66
Ilustración 22. Espectrómetro de absorción atómica	67
Ilustración 23. Agitador	67
Ilustración 24. Calibración de equipo	67
Ilustración 25. Análisis de pH de suelo	67
Ilustración 26. Capsulas para análisis de suelo.....	68
Ilustración 27. Muestras de raíces y nódulos	68
Ilustración 28. Laboratorio de biotecnología	68
Ilustración 29. Estufa	68
Ilustración 30. Secado de muestras de suelo.....	69
Ilustración 31. Muestras de nódulos	69
Ilustración 32. Pesaje de muestras de raíces	69
Ilustración 33. Limpieza de muestras de nódulos	69
Ilustración 34. Comparación de muestras de nódulos.....	70
Ilustración 35. Crecimiento de nódulos	70
Ilustración 36. Pesaje de nódulos.....	70
Ilustración 37. Separación de muestras de nódulos	70
Ilustración 38. Separación de nódulos.	710
Ilustración 39. Muestras de nódulos de raíces	710

	Págs.
Ilustración 40. Preparación de medios de cultivo	710
Ilustración 41. Muestras de nódulos en embaces esteriles.	72
Ilustración 42. Medio de cultivo para bacterias	72
Ilustración 43. Autoclave	72
Ilustración 44. Preparación de medio.....	71
Ilustración 45. Muestras de nódulos triturados	73
Ilustración 46. Colocación de medio en cajas petri	73
Ilustración 47. Siembra de nódulos.....	74
Ilustración 48. Disolución de muestras en medio de cultivo	74
Ilustración 49. Cajas petri cultivadas	75
Ilustración 50. Muestra de nódulos homogénea triturada y tamizada.....	75
Ilustración 51. Preparación de láminas de cobalto.....	76
Ilustración 52. Sustrato para calibración de equipo	76
Ilustración 53. Preparación de capsulas	76
Ilustración 54. Calibración de Dumax	76
Ilustración 55. Verificación de calibración de equipo	77
Ilustración 56. Capsuladora manual.....	77
Ilustración 57. Capsulas de cobalto para análisis de nitrógeno	77
Ilustración 58. Mechero eléctrico.....	78
Ilustración 59. Preparación de placas.....	78
Ilustración 60. Muestras de bacterias para análisis	78
Ilustración 61. Análisis de tinción	78
Ilustración 62. Caja petri cultivada.	79
Ilustración 63. Medición de tolerancia a antibióticos	79
Ilustración 64. Revisión de bacteria.....	79
Ilustración 65. Bacterias filamentosas del género Frankia.	80

ÍNDICE DE FIGURAS

	Págs.
Figura 1. Diámetro a la altura de pecho promedios en centímetros para las edades sector La Magdalena y El Cristal	35
Figura 2. Altura promedio en metros para las distintas edades en el sector La Magdalena y El Cristal	36
Figura 3. Diámetro de copa promedio en metros para las distintas edades en el sector La Magdalena y El Cristal	37
Figura 4. Área radicular para las distintas edades en el sector La Magdalena y El Cristal.	38

TÍTULO: “FIJACIÓN DE NITRÓGENO EN NÓDULOS DE RAÍCES DE *Alnus nepalensis* D. DON EN LINDEROS A DIFERENTES EDADES EN LA ZONA DE INTAG, NOROCCIDENTE DEL ECUADOR”

Autor: Farinango León Fausto Cristóbal

Director de trabajo de titulación: Ing. María Isabel Vizcaíno Pantoja, Esp.

Año: 2018

RESUMEN

Alnus nepalensis, especie forestal introducida al Ecuador en la década de los noventa, registra una extensión de 127.843 hectáreas aproximadamente en el año 2017, en la zona de Intag, en plantaciones, prácticas agroforestales y silvopastoriles; apetecida por su rápido desarrollo a simple vista, registra diámetros (DAP) de 40 cm y alturas de 18 metros a edades de siete años; especie actinorrícica, que posee la cualidad de formar nódulos en simbiosis con bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico. Leve conocimiento empírico que poseen agricultores respecto a la especie, crea el interés en analizar la fijación de nitrógeno a diferentes edades y determinar posibles variaciones respecto a condiciones edafológicas en las que se desarrolla, información que contribuye a comprender el aporte de nitrógeno que brinda la especie al suelo y por ende a cultivos que se encuentran en asocio y reducir la incorporación de fertilizantes nitrogenados; se determinó que la especie en los sitios de estudio, realiza la fijación de nitrógeno en dos fases, siendo la primera fase de nodulación en la cual el nitrógeno fijado, es útil únicamente para la especie y en la segunda fase, mediante incorporación de biomasa (hojas, ramas y raíces) al suelo, liberan nutrientes, en el proceso de descomposición, poniéndolo disponible para cultivos en asocio; además se registra concentraciones de nitrógeno en el suelo de 0,31% cerca de la especie y de 0,07 % en áreas sin la especie. Mediante pruebas bioquímicas de laboratorio se determinó que la especie posee una simbiosis con la bacteria filamentosa del género *Frankia*, causante de la fijación biológica de nitrógeno.

Palabras clave: *Alnus nepalensis*, DAP, actinorrícica, simbiosis, fijación de nitrógeno, *Frankia*.

TITLE: “NITROGEN FIXATION IN NODULES OF ROOTS OF *Alnus nepalensis* D. DON IN EDGES AT DIFFERENT AGES IN THE INTAG ÁREA, NORTHWESTERN ECUADOR”

Author: Farinango León Fausto Cristóbal

Director of titulation work: Ing. María Isabel Vizcaíno Pantoja, Esp.

Year: 2018

ABSTRACT

Alnus nepalensis, a forest species introduced to Ecuador in the 1990s, registered an area of 127,843 hectares approximately in the year 2017, in the Intag area, in plantations, agroforestry and silvopastoral practices; desired for its rapid development at a glance, records diameters (DAP) of 40 cm and heights of 18 meters at the age of seven; actinorrícica species, which has the quality of forming nodules in symbiosis with bacteria fixing atmospheric nitrogen. Slight empirical knowledge that farmers have regarding the species, creates interest in analyzing nitrogen fixation at different ages and determine possible variations with respect to soil conditions in which it develops, information that helps to understand the contribution of nitrogen provided by the species to the soil and therefore to crops that are in partnership and reduce the incorporation of nitrogen fertilizers; it was determined that the species in the study sites performs nitrogen fixation in two phases, being the first phase of nodulation in which the fixed nitrogen is useful only for the species and in the second phase, by incorporation of biomass (leaves, branches and roots) to the soil, release nutrients, in the process of decomposition, making it available for crops in association; In addition, soil nitrogen concentrations of 0.31% are registered near the species and 0.07% in areas without the species. Through laboratory biochemical tests, it was determined that the species possesses a symbiosis with the filamentous bacterium of the genus *Frankia*, which causes the biological nitrogen fixation.

Key words: *Alnus nepalensis*, DAP, actinorrícica, symbiosis, nitrogen fixation, *Frankia*.

CAPÍTULO I

INTRODUCCIÓN

La fijación biológica nitrógeno (FBN) se comprende como la incorporación de nitrógeno al suelo por agentes biológicos, que aprovechan del 78 % de nitrógeno molecular (N₂) del que está compuesta la atmósfera (Universidad de Jaén, 2015). A nivel global se estima que la FBN pueden aportar 140 millones de toneladas al año, por acción simbiótica, (Sevillano y Rodríguez-Barrueco, 1987), es de gran relevancia en el ámbito económico y ecológico para los agricultores, al reducir la inversión en fertilizantes nitrogenados; contribuyendo al propósito del buen vivir, a fin que los propietarios de las tierras donde se encuentra *Alnus nepalensis*, puedan tomar decisiones sobre el manejo silvícola a futuro.

Las especies forestales cumplen un rol fundamental en el aporte de este macro nutriente, ya que existen dos tipos principales de simbiosis fijadoras de nitrógeno, las leguminosas que establecen asociación con bacterias del género *Rhizobium*, en las cuales se encuentran especies de la familia Fabaceae, como es el caso de *Erithryna edulis* (porotón) y las plantas actinorrizas que lo hacen con bacterias filamentosas del género *Frankia*, en las cuales se encuentra las especies de la familia Betulaceae, género *Alnus*, especies muy reconocidas en el campo técnico y científico.

En la zona de Intag, se ha observado el incremento de individuos de *Alnus nepalensis*, en predios de agricultores desde hace aproximadamente dos décadas, (Añazco, com. pers., 20 de enero de 2016). Esta especie forestal introducida de la familia Betulaceae, es nativa del Himalaya y posee la cualidad de fijar nitrógeno en simbiosis con bacterias filamentosas. La escasa información sobre la cantidad de nitrógeno que fija la especie en los nódulos de las raíces a diferentes edades, el agente involucrado en dicha fijación y la variación de las características organolépticas, referente a las condiciones edafológicas existentes en el ecosistema que se desarrolla, motivo a realizar esta investigación.

Cevallos (2017), afirma que actualmente la especie ocupa 127,843 ha en la zona de Intag, a la cual se le atribuye ingresos importantes por parte de los agricultores, con la venta de

semillas, plántulas de vivero, madera para la industria, uso de la madera para leña, etc. Por otra parte Mediavilla (2016), menciona que, en función a las propiedades físicas, trabajabilidad y el ensayo de tallado, se determina que la madera se puede utilizar en: contrachapado, desenrollo, tallados, artesanías en general, cajonería, muebles lineales, muebles clásicos, postes para cercas, corrales para animales menores.

1.1. Objetivos

1.1.1 General

Determinar la cantidad de nitrógeno fijado en nódulos de las raíces de *Alnus nepalensis* D. Don en linderos a diferentes edades en la zona de Intag.

1.1.2 Específicos

- Determinar las características dasométricas a diferentes edades.
- Determinar la cantidad de nitrógeno total fijado por árbol a diferentes edades.
- Determinar características físicas y organolépticas de nódulos de raíces.
- Determinar el agente que provoca la nodulación para la fijación biológica.

1.2 Hipótesis

1.2.1 Nula

La fijación de nitrógeno, las características organolépticas y el agente presente de los nódulos de *Alnus nepalensis* no varían según la edad del árbol.

1.2.2 Alterna

La fijación de nitrógeno, las características organolépticas y el agente presente de los nódulos de *Alnus nepalensis* varían según la edad del árbol.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Fundamentación legales

En el marco político, la investigación aporta a instrumentar en el postulado de la Constitución de la República del Ecuador, art. 3 que hace referencia a los deberes primordiales del Estado, en planificar el desarrollo nacional, promover el desarrollo sustentable, redistribuyendo equitativamente los recursos, riquezas que brinden el acceso al buen vivir; además, de promover el desarrollo equitativo, solidario en el territorio mediante el proceso de fortalecimiento de autonomías y descentralización (Asamblea Nacional Constituyente, 2008).

El Plan Nacional para el Buen Vivir, establece en su objetivo tres; garantizar los derechos de la naturaleza, para las actuales y futuras generaciones; además de políticas que promuevan las buenas prácticas ambientales que aporten a la reducción de la contaminación, a la conservación, a la mitigación y a la adaptación a los efectos del cambio climático, impulsando las mismas en el ámbito global; además incentiva la producción, mediante el consumo ambiental responsable, con base en los principios de la economía circular y bio-economía, que fomenten el reciclaje y combatan la obsolescencia programada (Secretaría Nacional de Planificación y Desarrollo [SENPLADES], 2017, pág. 57).

La presente investigación, además se enmarca en el plan de desarrollo y ordenamiento territorial para el cantón Cotacachi, objetivo estratégico; consolidar el manejo equilibrado de la naturaleza, fomentando la prevención, control y mitigación de la contaminación ambiental, que permita el mejoramiento de la calidad de vida de la población, la adaptación a los efectos de cambio climático y generen medidas para reducir la vulnerabilidad y el riesgo (PD y OT, 2015).

2.2 Fundamentos teóricos

2.2.1 *Alnus nepalensis*

2.2.1.1. Descripción taxonómica



Ilustración 1. Muestra dendrológica de *Alnus nepalensis*

Fuente: Carr (s.f).

Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Hamamelidae
Orden:	Fagales
Familia:	BETULACEAE
Género:	<i>Alnus</i>
Subgénero:	<i>Alnus</i>
Especie:	<i>Alnus nepalensis</i> D.Don

Nombre común: Birmano (maibau); Chino (Meng-zi-qi-mu, han-dong-gua); Inglés (Aliso de Nepal, Nepal aliso, aliso india, aliso); Hindi (Piak); nepalí (uttis, ITU); Nombre comercial (aliso).

2.2.1.2. Descripción botánica

Duke (1981), afirma que *Alnus nepalensis*, es una de las 35 especies del género *Alnus* en todo el mundo, especie que realiza fijación biológica de nitrógeno al suelo, especie actinorrícicas que se encuentra en la familia Betulaceae; árbol caducifolio o semideciduo con un tronco recto, de hasta 30 m de altura y 60 cm (raramente a 2 m) de diámetro; ramitas acanaladas, glabras; corteza gris oscuro, a menudo con manchas amarillentas y lenticelas ligeramente levantadas (Orwa, Mutua y Jamnadass 2009).

2.2.1.2.1. Hojas

Hojas alternas, elípticas, ovadas a oblongas, de entre 6 a 21 cm de largo, 4 a 10 cm de ancho, enteras, denticuladas o sinuosas, superficialmente crenada a sub-enteros, redondeada o cuneadas en la base, con 12 a 16 pares de nervios laterales, superficie superior verde oscuro opaco o brillante, bajo la superficie pálido con puntos, escalas de color amarillo a marrón; pecíolo fuerte, de 1,5 a 2 cm de largo (Orwa *et al.* 2009).

2.2.1.2.2. Flores

Duke (1981) y Orwa *et al.* (2009), afirman que las flores están distribuidas en amentos, en las cuales encontramos flores masculinas y femeninas por separado en las mismas o diferentes ramas; amentos masculinos agrupados en una panícula terminal de hasta 16 cm de largo; amentos amarillos, de 10 a 16 (25 máximo) cm de largo, colgando en racimos al final de las ramas; inflorescencia femenina agrupados en cortos racimo o amentos son mucho más cortos, erectos y leñosas, axilares de 3 a 8 amentos; amento de 1 a 1,7 x 0,6 a 0,7 cm, leñoso, que se producen en ramitas laterales; pedúnculo de 3 a 6 mm de largo.

2.2.1.2.3. Frutos

Según Orwa *et al.* (2009) y Duke (1981), los frutos que se asemejan a los conos de la familia de los pinos, son de color marrón oscuro, en posición vertical sobre tallos cortos, elípticos, compuesto de muchas semillas, bajo las escamas de madera; semillas de color marrón claro, circular y plana con dos alas membranosas amplias, con más de 2 mm de diámetro.

2.2.1.3. Ecología

Según Duke (1981), el aliso se desarrolla en todo el Himalaya, de Pakistán a través de Nepal, el norte de la India, Bután y Birmania superior a sudoeste de China e Indochina.

Según Orwa *et al.* (2009), afirma que *Alnus nepalensis* es una especie pionera que crece bien a plena luz, pero también tolera la sombra. En altitudes más bajas se produce en lugares húmedos, como cerca de los ríos, pero va a colonizar sitios rocosos expuestos por deslizamientos de tierra o terrenos abandonados después del cultivo.

Se distribuye naturalmente en rodales tanto puros y mixtos, es común cerca de los arroyos, en barrancas y en bosques secos. Se encuentra naturalmente en bosques húmedos, climas monzónicos subtropicales frescos con una estación seca de 4 a 8 meses; también crece en zonas montañosas húmedas, frías o subtropicales en las zonas tropicales con alta precipitación (Orwa *et al.* 2009).

Se encuentra a una altitud de entre 500 a 3000 msnm, con una temperatura media anual de 13 a 26 grados °C, con una precipitación anual media de entre 500 a 2500 mm; prefiere suelos húmedos y drenados, incluyendo franco arcilloso y arena grava, arena y arcilla. No requiere alta fertilidad de los suelos, pero prefiere los suelos permeables. Crece bien en suelos con un alto contenido de agua, pero no en suelos anegados (Orwa *et al.* 2009).

2.2.1.4. Servicios

La especie es conocida por brindar los servicios ecológicos mencionados a continuación:

- **Control de la erosión:** Es una especie de renombre que le da una cierta estabilidad a suelos que tienden a resbalar y erosionarse. Sus semillas tienen a transmitirse para estabilizar el área de deslizamientos (Orwa *et al.* 2009).
- **Sombra o refugio:** *Alnus nepalensis* se intercala con cultivos anuales y se utiliza como un árbol de sombra combinados con *Cinchona officinalis* y *Eletaria subulatum* (Orwa *et al.* 2009).
- **Reclamación:** Efectivamente utilizada para reforestar bajo el sistema taungya; áreas abandonadas porque crece como un pionero en hábitats degradados, con suelos de baja fertilidad. También se planta para mejorar la estabilidad de las laderas susceptibles a la erosión y los deslizamientos de tierra, y por la misma recuperación (Orwa *et al.* 2009).
- **Fijación de nitrógeno:** *Alnus nepalensis* forma una simbiosis con actinomicetos fijadoras de nitrógeno del género *Frankia* y por lo tanto es capaz de mejorar las tierras degradadas (Orwa *et al.* 2009).
- **Mejorador del suelo:** Cantidades considerables de nutrientes se reciclan a través de la camada de *Alnus nepalensis*. (Hojas y ramas) camada de *Alnus.nepalensis* puede producir 6.3 t / ha de biomasa anualmente, que contiene N 3,4 – 3,7 g, P 0,08 – 0,1 g, K 0,6 – 7 g y Ca 0,2 g por 100 g de materia seca (Orwa *et al.* 2009).
- **El cultivo intercalado:** En las laderas en terrazas, la especie es podada comúnmente para intercalar con cultivos como el maíz, cebada, chile y calabaza. El cultivo de gran cardamomo (*Amomum subulatum*) o *Cinchona* spp. Árboles en combinación con *Alnus nepalensis* es una práctica común en los Himalayas centrales (Orwa *et al.* 2009).

2.2.2. Nitrógeno

Todas las formas de vida dependen del nitrógeno, es el componente esencial de las proteínas, ácidos nucleicos y otras macromoléculas fundamentales del metabolismo; el principal reservorio es la atmósfera ya que el 78% está compuesto por N_2 gaseoso, que posee un triple enlace covalente puro y es difícil de romper.

La mayoría de los ecosistemas, contienen cantidades escasas de nitrógeno, ya que es soluble en agua y circula a través del aire el agua y los tejidos vivos (en estado reducido). Son pocos los organismos capaces de asimilarlo, entre ellos los procariontes como las cianobacterias y las actinobacterias, no se conoce ningún eucariota que fije nitrógeno y los organismos foto autótrofos (plantas o algas), que requieren por lo general de nitrato (NO_3^-) como forma de ingresar su nitrógeno; los heterótrofos (ejemplo los animales) necesitan el nitrógeno ya reducido, en forma de radicales amino; como principalmente se presenta en la materia viva (Iñon, 2010).

2.2.2.1. Ciclo

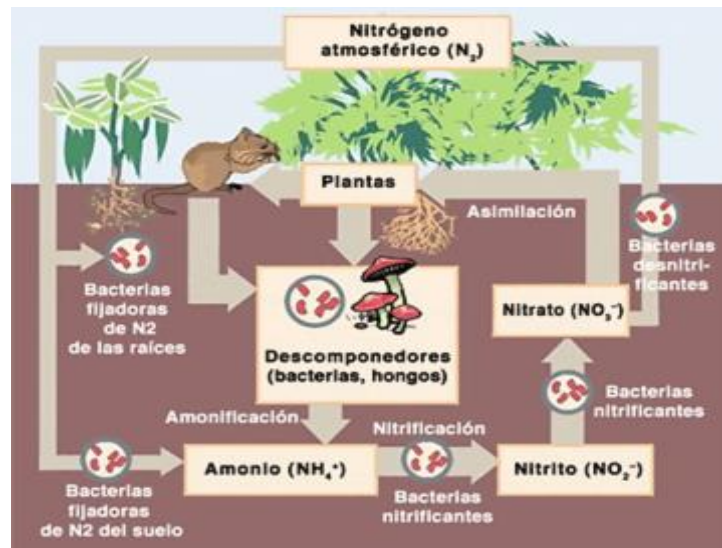


Ilustración 2. Ciclo del Nitrógeno
Fuente: Barrera (2012).

El nitrógeno es un elemento increíblemente versátil que existe en forma inorgánica y orgánica, a la vez en muchos y diferentes estados de oxidación. Los seres vivos que reciben el nitrógeno oxidado como nitrato (NO_3^-) es transformado a grupos aminoácidos (asimilación). Para volver a contar con nitrato asimilable hace falta que los descomponedores lo extraigan de la biomasa, dejándolo en la forma reducida de ion amonio (NH_4^+), proceso que se llama amonificación y que luego el amonio sea oxidado a nitrato, proceso llamado nitrificación (Universidad de Navarra, 1995).

El amonio y el nitrato son sustancias extremadamente solubles, que son arrastradas fácilmente por la escorrentía y la infiltración, lo que tiende a llevarlas al mar, al final el N_2 , tras su conversión, terminara disuelto en el mar. Por lo que los océanos serían ricos en nitrógeno, si no existieran otros dos procesos, mutuamente simétricos, en los que está implicado el N_2 . Se trata de la fijación de nitrógeno, que origina compuestos solubles a partir del N_2 , y la desnitrificación, una forma de respiración anaerobia que devuelve N_2 a la atmósfera. De esta manera se mantiene un importante depósito de nitrógeno en el aire (donde representa un 78 % en volumen) (Universidad de Navarra, 1995).

Según Baca, Soto y Pardo (2000), El N_2 es el principal constituyente de la atmósfera; la concentración de nitrógeno, es resultado del balance entre la fijación del N_2 por acción bacteriana, eléctrica, química y su liberación se realiza a través de la descomposición de materias orgánicas por bacterias o por combustión es un constituyente esencial de moléculas fundamentales de todos los seres vivos: aminoácidos, proteínas, ácidos nucleicos y vitaminas.

Salisbury y Ross (1992), mencionan que el nitrógeno es de vital importancia para el desarrollo de las plantas y animales, este elemento es parte de moléculas esenciales para la vida como los ácidos nucleicos (ADN y ARN), vitaminas y en las moléculas de almacenaje de energía; es parte de aminoácidos, enzimas y coenzimas, base de glifosatos y lipoproteínas que son constituyentes de todas las células vivas así como de la clorofila e interviniendo en la fotosíntesis, respiración, multiplicación y diferenciación celular.

2.2.2.2. *Fijación biológica*

La fijación biológica de nitrógeno (FBN) es un proceso que ocurre en la naturaleza y representa la fuente de nitrógeno más barata para suministrar a los suelos. El nitrógeno es uno de los nutrimentos más importantes para las plantas, ya que es parte fundamental de proteínas, aminoácidos y de la clorofila. En la agricultura se utilizan cultivos con alto potencial productivo que demandan grandes cantidades de nitrógeno, más que el aportado por el suelo de manera natural. Las plantas absorben nitrógeno preferentemente como nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) proveniente de la solución del suelo.

Los altos costos de los fertilizantes nitrogenados, son inaccesibles para los productores de bajos ingresos e incrementan los costos de producción de cultivos. Por ello, la fijación biológica de nitrógeno (FBN) es un recurso importante de incorporación de nitrógeno para las plantas; está restringida a los procariontes y la familia de las Rhizobiaceae es la más importante de los organismos que poseen la capacidad de transformar el N_2 en amonio (NH_4), el cual es asimilado y fijado al suelo por las leguminosas y plantas actinorrícicas como aliso que forma simbiosis con bacterias filamentosas del género *Frankia*.

Foth (1992), explica que el N_2 , no está disponible para que las plantas puedan aprovecharlo directamente. Sin embargo, una forma por medio del cual estas pueden utilizar es mediante la acción de microorganismos que se asocian con ellas, la mayoría de las leguminosas forman una relación simbiótica con bacterias que pertenecen al género *Rhizobium*, las cuales tienen la habilidad de fijar o transformar nitrógeno atmosférico a formas que las plantas pueden aprovechar para su desarrollo. La cantidad de nitrógeno que se puede llegar a agregar en los suelos por la fijación simbiótica dependen de varios factores, entre los cuales se encuentran: la especie, clase de suelo, pH, contenido de nutrientes (especialmente N, P, Ca, Bo y Mo); materia orgánica; la efectividad de las bacterias, humedad en el suelo; y cantidad de carbohidratos que las plantas les aportan a las bacterias, los cuales pueden verse afectados, por condiciones ambientales adversas. Además, influye el manejo que se da en el sitio (control de plagas, prácticas fitosanitarias y fertilización).

El nitrógeno fijado biológicamente por las bacterias, está disponible en primer lugar para las plantas que hospedan a las bacterias (simbiosis), mientras ellas crecen; el aporte al suelo se lo realiza, mediante la incorporación de biomasa (raíces, nódulos, tallos y las hojas), la misma que se descompone y hace disponible los nutrientes para las pasturas y cultivos aledaños. En este sentido hay que tener mucho cuidado con el manejo que se le da a los árboles leguminosos y plantas actinorrícicas ya que las podas frecuentes pueden afectar la fijación simbiótica de nitrógeno (Hernández y Russell, 2001)

La fijación biológica de nitrógeno (FBN), es el nombre que se da en agricultura a la acción de reducir, hacer disponible o fijar el N_2 , que naturalmente no puede ser asimilado por las plantas. Para que sea asimilable el nitrógeno, la enzima nitrogenasa debe estar presente en todas las bacterias fijadoras de nitrógeno, reduciendo el N_2 (Nitrógeno libre) a NH_4^+ (Amonio) (Baca, Soto y Pardo, 2000).

Según Olivares (2005), el nitrógeno es el factor limitante más importante en la producción vegetal, cuando las necesidades de los cultivos por el agua están cubiertas. Un grupo de bacterias del suelo, es capaz de proporcionar directa o indirectamente a las plantas, este nutriente asimilable extraído del aire. Las bacterias conocidas como *Frankia*, brindan el nitrógeno a las plantas a través de sus raíces donde forman unas tumoraciones (nódulos), cuyas células están ocupadas por microorganismos, que funcionan como auténticas fábricas biológicas de amoníaco y realizan la misma labor que la industria, utilizando los productos de la fotosíntesis que llegan a la raíz desde las hojas, en lugar de combustibles fósiles. Es una forma limpia y barata de suministrar a las plantas el nitrógeno que requieren.

Zhang y Smith (2002), indican que el proceso de fijación biológica de nitrógeno es altamente demandante en energía (16 – 18 moléculas de adenosín trifosfato [ATP] por molécula de nitrógeno fijado) y carbohidratos. Los fertilizantes químicos en el suelo, pueden inhibir tanto la formación de nuevos nódulos como la actividad de los nódulos ya formados.

Willems (2006), demuestra que el proceso de fijación biológica de nitrógeno es utilizado en la naturaleza por diferentes géneros bacterianos. Las plantas se benefician de este proceso

cuando las bacterias mueren y liberan el nitrógeno al suelo o cuando las bacterias viven en estrecha asociación con las plantas. Esta asociación simbiótica se presenta en plantas actinorrícicas con microorganismos denominados *Frankia*, que viven en los nódulos de las plantas fijando el nitrógeno en forma de amonio, el cual es absorbido por las plantas.

Peoples (1995), menciona que existe una amplia gama de organismos y asociaciones vegetales que son capaces de fijar nitrógeno de la atmósfera, la relación simbiótica entre *Frankia* con plantas actinorrícicas y *Rhizobium* con leguminosas, son responsables de contribuir con la mayor cantidad de nitrógeno fijado en especies agrícolas.

2.2.3. Agentes fijadores de nitrógeno atmosférico

Existen dos tipos principales de simbiosis fijadoras de nitrógeno, las plantas actinorrizas que establecen asociación con bacterias filamentosas (actinomicetes) del género *Frankia* y las leguminosas que establecen asociación con bacterias de los géneros *Rhizobium*, *BradyRhizobium*, *SynoRhizobium*, *AzoRhizobium* y *MesoRhizobium* (en adelante referidos genéricamente como rizobios) (Ferrari y Wall, 2004).

Tairuan, Aguilar y Fabra (2002), manifiesta que las bacterias fijadoras de nitrógeno pueden dividirse en dos grupos: a) las de vida libre, como por ejemplo las pertenecientes a los géneros *Azospirillum*, *Beijerinchia*, *Azotobacter*, *Bacillus*, *Mycobacterium*, *Pseudomonas*, etc. y b) las que fijan nitrógeno a partir del establecimiento de una simbiosis con las plantas actinorrícicas las que pertenecen al género *Frankia* y leguminosas las cuales se asocian con géneros *Rhizobium*, *BradyRhizobium*, *AzoRhizobium*, *AlloRhizobium*, *MesoRhizobium* y *SinoRhizobium*, que comúnmente se denominan “*Rhizobium*”.

Martinez (2002), indica que entre los beneficios del uso de microorganismos en la agricultura están: su capacidad de fijar N_2 , 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.

2.2.3.1. *Frankia*

Bautista y Valdés (2008), mencionan haber dado el nombre de *Frankia* a la bacteria, en honor a su maestro Frank. El género *Frankia* está compuesto por actinomicetos de crecimiento lento, heterotróficos, Gram positivos, con un alto porcentaje de G + C (66 – 77%) y que a diferencia de *Rhizobium*, fija nitrógeno tanto in vitro como en simbiosis. *Frankia* es una bacteria filamentosa o actinomiceto, fijador de nitrógeno, que cuando vive en asociación con ciertas plantas, induce en sus raíces la formación de nódulos fijadores de nitrógeno (Valdés, Pérez y Vásquez, s.f).

Ancco, Naquiche, Martínez (2011), manifiestan que la simbiosis formada por la bacteria *Frankia* y el nódulo radical de la planta se conoce con el término de actinorriza. Se han descrito actualmente alrededor de 200 especies de angiospermas, llamadas plantas actinorrícicas, distribuídas en ocho familias, que son portadoras de nódulos radicales fijadores de nitrógeno formados por *Frankia*. El hecho de que esta bacteria filamentosa haga simbiosis con miembros de varias familias, muestra una de las grandes diferencias que existen entre ella y la otra bacteria simbiótica fijadora de nitrógeno, *Rhizobium*, cuyos géneros hospederos pertenecen en su mayoría a la familia de las leguminosas.

Ramírez (1995), manifiesta que dentro de las características fenotípicas, los aspectos más importantes en la fisiología de la célula bacteriana, dependiendo de su nivel de tolerancia o resistencia, el microorganismo es capaz de sobrevivir cuando existe una interacción antagonista con otras especies bajo condiciones naturales.

Frankia establece simbiosis en las raíces de 25 géneros de plantas distribuidos en ocho familias; aspecto que resalta la importancia ecológica de las plantas actinorrícicas, ya que la tasa de fijación de nitrógeno es igual o más alta que en las leguminosas (Torrey, 1978; Dommergues, 1997; Busse, 2000).

Según Valdés, Pérez y Vásquez (s.f), mencionan que *Frankia* es un procarionte Gram-positivo con hifas o filamentos septados, con una composición de su ADN de 70% de guanina mas citosina, está también presente en otros actinomicetos como *Geodermatophilus*. Otra gran diferencia con *Rhizobium* es que *Frankia* fija nitrógeno in vitro bajo las condiciones normales de presión y temperatura; si bien *Azorhizobium* también fija N₂ in vitro, es un género genéticamente muy diferente a los otros miembros de la familia Rhizobiaceae. Son bacterias microaerófilas cuando utilizan nitrógeno atmosférico (N₂) para crecer y son absolutamente aerobias cuando se les proporciona nitrógeno combinado (NH₃) en el medio de cultivo.

Según Valdés, Pérez y Vásquez (s.f), mencionan que la mayoría de las cepas de *Frankia* no son cultivables y su crecimiento es extremadamente lento; para el aislamiento y cultivo de *Frankia*, se recomienda el uso de propionato de sodio como fuente de carbono, sin embargo, este ácido orgánico de cadena corta puede ser utilizada por otras bacterias y no garantiza el éxito en el aislamiento de *Frankia* y sí el crecimiento de un contaminante. Otro problema que se presenta para el aislamiento de este microorganismo es que generalmente se recomiendan medios de cultivo líquidos (recordemos que no forma micelio aéreo), los cuales no excluyen la posibilidad de obtener un co-cultivo.

2.2.3.2. *Rhizobium*

Wang *et al.* (2001), declaran que las bacterias denominadas comúnmente *Rhizobium* presentan varias formas de vida; pueden comportarse como saprófitos en el suelo, establecer una asociación simbiótica y formar nódulos con las raíces y tallos de las leguminosas, donde tiene lugar la reducción del N₂ en amonio, el cual es transportado a la planta y convertido en biomoléculas esenciales, o bien estar presentes como endófito en raíces de diferentes especies vegetales, donde ejercen efectos promotores del crecimiento.

Willems (2003) y Lindström y Martínez (2007), coinciden al afirmar que la taxonomía de los *Rhizobium* ha cambiado considerablemente en los últimos 20 años; el género *Rhizobium*, un miembro de Alphaproteobacteria, ahora se divide en varios géneros. Mediante

el estudio de plantas promiscuas hospederas dispersas, geográficamente se ha constatado que son fuente de muchas especies nuevas. Recientemente, una serie de aislamientos se han registrado en los nódulos de las leguminosas, con capacidad de fijación de nitrógeno, pero filogenéticamente ubicados fuera de los grupos tradicionales de rizobios en Alphaproteobacteria.

Hughes (1981), sugiere que los *Rhizobium* son miembros del mundo microscópicos conocidos con el nombre de bacterias. Bajo el microscopio aparecen generalmente como delgadas varillas de una longitud aproximada de 1-500 μ m. Poco después de ser extraídos del nódulo, se presentan en formas peculiares en racimos o en X, Y o T. Cuando viven en estado libre en el suelo no son capaces de fijar el N_2 y no todos los *Rhizobium* son iguales, ya que unos producen numerosos nódulos pequeños y blancos, diseminados sobre las raíces laterales. Estos *Rhizobium* no son convenientes porque fijan poco o ningún nitrógeno libre. Incluso la pérdida de las cosechas pueden deberse a una nodulación de las raíces realizada por tipos poco convenientes de *Rhizobium*.

Graham (2004), manifiesta que los "rizobios" son responsables del 80% de la fijación biológica del nitrógeno, y tienen la capacidad de convivir simbióticamente con las leguminosas en los nódulos radiculares, que son 16 órganos especiales de las raíces, en los que tiene lugar el proceso biológico de la fijación del N_2 .

Muslera y Ratera (1991), señalan que el grado de efectividad en las simbiosis es variable, y puede oscilar desde asociaciones altamente efectivas hasta una ineffectividad total (parasitismo), con toda una gama de situaciones intermedias. Aunque existen muchos factores externos que afectan la efectividad o eficiencia de la simbiosis, el más importante de todos reside en el hecho de que no todos los *Rhizobium* son capaces de formar nódulos con las diversas especies de leguminosas.

2.2.3.3. Simbiosis

Coyne (2000), indica que las bacterias inducen en las plantas la formación de nódulos en su raíz, los dos organismos establecen una cooperación metabólica, las bacterias reducen N_2 a amonio el cual exportan a el tejido vegetal para su asimilación en proteínas y otros compuestos nitrogenados complejos, las hojas reducen el dióxido de carbono (CO_2) en azúcares y lo transportan a la raíz donde los bacteriodes lo usan como fuente de energía para proveer ATP al proceso de inmovilizar N_2 .

Hubell y Kidder (2009), argumentan que la más importante contribución de la fijación biológica del nitrógeno, viene desde la asociación simbiótica de microorganismos con las raíces de plantas mayores. Pequeños nódulos son formados en las raíces y estos están llenos con una forma alterada de la bacteria (bacteriodes), quien fija apreciables montos de nitrógeno. Esta sola simbiosis es el 20% del nitrógeno biológico global fijado anualmente. La fijación biológica de nitrógeno representa el mayor recurso directo para la planta y por ende la producción de alimento para el hombre y en todo caso en la seguridad alimentaria en proteínas.

Moyano *et al.* (2004), manifiestan que la simbiosis, es una relación biológica que se establece entre dos o más individuos que se encuentran en contacto directo, obteniendo un beneficio mutuo entre los partícipes de la asociación. Para el caso de la simbiosis Rizobios-leguminosa, son dos los organismos que intervienen en la relación y esta interacción puede verse influenciada por factores químicos, físicos, bióticos y abióticos en cada individuo por separado, así como en el complejo establecido entre ellos, determinando el éxito o fracaso de la simbiosis con el aprovechamiento.

2.2.4. Nódulos

González (2002), indica que las células de los nódulos infectadas de bacterias pasan a las células no infectadas, donde se transforma principalmente en ureidos, que son a su vez, exportados hacia los tejidos vegetales formando los nódulos.

Giles, Oldroyd y Downie (2008), mencionan que las bacterias fijadoras de nitrógeno, entran a la planta a través de los pelos radiculares, formando una estructura llamada hilo de infección e infecta intracelularmente a las células corticales de la raíz. Una vez dentro de la célula, las bacterias se diferencian en bacteroides y comienza el proceso de la fijación de nitrógeno. Durante los eventos iniciales de la interacción, se expresan los genes de las nodulinas tempranas de la planta, que participan principalmente en el desarrollo o formación del nódulo, cuando se da la unión de las bacterias a los pelos radicales, se induce un cambio en la dirección de crecimiento apical, generándose una deformación y curvatura de los pelos radicales o “curling” donde quedan atrapadas las bacterias. Se forma un canal de infección por donde entran los rizobios al citoplasma de las células vegetales por un mecanismo similar a la endocitosis.

Hirsch, Lum y Downie (2001), manifiesta que la nodulación es un proceso muy complejo en el que intervienen varias moléculas. En las primeras fases de la nodulación (cobertura del pelo radical y entrada de las bacterias fijadoras de nitrógeno) estas señales son los flavonoides y los factores Nod. Las proteínas Nod.D son las interlocutoras del tráfico molecular en la rizósfera.

Brewbaker, Willer y Macklin (1990), ha confirmado la nodulación radicular en 648 especies de árboles y arbustos, los cuales se supone que fijan nitrógeno; 520 especies corresponden a leguminosas pertenecientes a las subfamilias Mimosoideae (321 especies), Papilionoideae (173 especies) y Caesalpinioideae (26 especies); 117 especies son actinorrizas leñosas pertenecientes a las familias Betulaceae (38 especies), Casuarinaceae (20 especies), Coriariaceae (16 especies), Elaeagnaceae (10 especies), Myricaceae (14 especies), Rhamnaceae (14 especies) y Rosaceae (cinco especies) y el resto a no-leguminosas de la familia Ulmaceae que establecen simbiosis con rizobios.

2.2.4.1. Infección

Young (2005), afirma que la infección por bacterias fijadoras de nitrógeno, empieza en la formación de los pelos radicales, es el preludio para la infección. La infección comienza con un acumulo de metabolitos en la bacteria, paso primordial en esta etapa. En este punto intervienen enzimas proteolíticas de pared, que se encargan de abrir en la planta un hueco, lo que significa la entrada de la "invasión". Normalmente la infección crece centrípetamente hacia la estela, atravesando las células, corticales.

2.2.4.2. Formación

Fernández (2003), indica que el reconocimiento mutuo planta-bacteria es específico mediante señales bioquímicas: La planta secreta sustancias químicas (ej. flavonoides) a través de las células de la raíz. En respuesta a ellos, las bacterias fijadoras de nitrógeno activan una serie de genes implicados en la nodulación. Estas sustancias estimulan la multiplicación de la población bacteriana alrededor de las raíces (rizósfera) y la adhesión a los pelos radicales (o pelos absorbentes de la raíz). El proceso de formación de nódulos en las leguminosas implica lo siguiente:

- Adherencia de las bacterias a los pelos absorbentes: Las bacterias secretan polisacáridos que se unen a ciertas proteínas de la planta (lectinas), encontradas en los extremos de los pelos radicales sobre los que se adhieren (Fernández, 2003).
- Enroscamiento de los pelos absorbentes: Una vez adheridos a los pelos radicales, las bacterias secretan sustancias que desencadenan la formación del nódulo (factores Nod). Se detiene el crecimiento celular de los pelos, y se enroscan formando una estructura que, por su forma, es conocida como cayado de pastor (Fernández, 2003).
- Invasión del pelo radical y formación de un cordón infeccioso: A medida que el cayado se forma, las bacterias inducen a la formación por parte de la planta, de un conducto

en el interior del pelo absorbente. Este es un tubo vacío recubierto de celulosa y mucopolisacáridos, en el que se multiplican las bacterias (Fernández, 2003).

- Desplazamiento de las bacterias hacia la raíz principal a través del canal de infección: Las bacterias penetran a las células adyacentes a los pelos radicales y los factores Nod estimulan la división de las células vegetales, produciendo finalmente el nódulo (Fernández, 2003).

- Ingreso de las bacterias a las células de la raíz y diferenciación de los bacteroides: Simultáneamente con la división de las células vegetales que formarán el nódulo, las bacterias son liberadas en el interior de las células corticales y rodeadas por una membrana producida por la planta. Dentro de esta membrana, las bacterias se multiplican activamente. Finalizada la multiplicación, las bacterias se vuelven deformes, hinchadas y ramificadas. Son hasta 40 veces más grandes que las bacterias que los originaron y se las conoce como bacteroides. Se pueden encontrar hasta 10.000 bacteroides por célula vegetal. Las bacterias de crecimiento rápido (ejemplo *Rhizobium leguminosarum*) cesan rápidamente de dividirse, mientras que los de crecimiento lento (ejemplo *Bradyrhizobium japonicum*) continúan dividiéndose dentro del saco de secuestro (Fernández, 2003).

- Establecimiento del nódulo funcional maduro: El nódulo comienza a fijar nitrógeno sólo cuando terminó el desarrollo de los bacteroides. El sistema vascular de la planta se extiende dentro del nódulo y transporta nutrientes hacia y desde el nódulo. Se sintetizan sustancias básicas para la fijación de nitrógeno, como la hemoglobina que regula el nivel de oxígeno dentro del nódulo, y la enzima nitrogenasa, responsable de la ruptura de la molécula de N₂ (Fernández, 2003).

Según Ballones (2000), el proceso de nodulación, las plantas exudan a través del sistema radical, o a través de las semillas, compuestos químicos llamados flavonoides, estos compuestos son potentes iniciadores de todo el proceso de nodulación y fijación. El flavonoide, exudado por la raíz de la planta, entra en contacto con la bacteria presente en el suelo; es asimilado por ésta y desencadena una serie de procesos que determinan la

producción de 40 proteínas diferentes, que van a salir de la célula bacteriana cuando ésta se pone en contacto con la raíz.

Según Ballones (2000), las proteínas son las encargadas de enrutar el pelo (si es que el ingreso se produce a través del pelo radical), o de dar la orden a la bacteria para que penetre por heridas o lenticelas radicales, producir la formación del cordón de infección, y comenzar con la formación del nódulo. Cada planta tiene un flavonoide distinto y esta característica es la que determina la especificidad o no especificidad entre la bacteria y la planta, a nivel de género o a nivel de especies. En el caso de soya, los flavonoides que ésta genera responden a tres tipos distintos.

2.2.4.3. Factores que afectan la nodulación

Altamirano (2003), testifica que la raíz es una zona de intensa actividad, donde ocurre gran parte del ciclaje de los nutrientes. La densidad de población es mayor en la superficie de la raíz que se magnifica cuando está involucrada una asociación simbiótica. La rizósfera presenta un nicho ecológico donde las rizobacterias que promueven el crecimiento de las plantas desarrollando diversos mecanismos de promoción, a través de agentes biológico, posibilitando indirectamente un mejor crecimiento de las plantas.

Caba, Poveda y Ligeró (2003), señalan que los nódulos radicales de las leguminosas son estructuras complejas, como ponen de manifiesto los estudios histológicos y fisiológicos, cuyo desarrollo y funcionamiento están regulados principalmente por la planta, la cual controla el número de nódulos mediante un mecanismo endógeno de retro inhibición o inhibición y que se ha llamado de autorregulación.

la humedad del suelo es un factor que limita la simbiosis entre planta – bacterias, ya que el excesos de agua, temporal o continuos, afecta el rendimiento de las plantas y su interacción con las bacterias; y el déficit hídrico inhibe la formación de nódulos, su tamaño y el proceso de fijación. Otro factor que afecta el complejo proceso es la acidez en los suelos pues limita la simbiosis, disminuye la sobrevivencia de las bacterias y reduce la nodulación. Si bien la

simbiosis que se establece entre la planta – bacteria es el resultado de múltiples eventos y señales moleculares entre ambos simbioses, diversos factores bióticos y abióticos influyen en su establecimiento y éxito final (Matías 2012 citado por Catuto, 2013).

2.2.5. Aislamiento de la bacteria *Frankia*

Valdés, Pérez y Vásquez (s.f), mencionan que el primer aislamiento exitoso de *Frankia* fue en 1978 por el Dr. Torrey, en la Universidad de Harvard, quien obtuvo un cultivo puro del actinomiceto *Frankia*.

El aislamiento de *Frankia* de los nódulos tiene como rigurosidad el procedimiento de, desinfectar cuidadosamente los lóbulos, para posteriormente colocarlos en un medio líquido o en un medio sólido para su incubación. Observándose las primeras colonias a los 15 días o al mes de incubación, en ocasiones se logra obtener una colonia de unos milímetros; o el período de incubación puede ser de seis meses (Valdés, Pérez y Vásquez, s.f).

Las cepas de *Frankia* son muy difíciles de cultivar; por lo tanto, las cultivables son con características saprofíticas o con requerimientos nutricionales menos estrictos, como lo son las cepas de las Betuláceas (*Alnus*). En otros casos, como en *Casuarina*, la mayoría de las cepas se encuentran dentro de los nódulos radicales y son muy pocas las cultivables. De muchas otras plantas como *Adolphia*, *Datisca*, *Ceanothus*, *Dryas*, hasta la fecha no han podido ser aislados su microsimbionte fijador de nitrógeno (Valdés, Pérez y Vásquez, s.f).

2.2.6. Efecto del componente arbóreo sobre el suelo

2.2.6.1. Bombeo de nutrientes por árboles

El reciclaje de nutrientes podría incrementar con la presencia de especies arbóreas, debido a que en algunos casos estos tienen el sistema radical más profundo que las gramíneas, lo que les permite movilizar los nutrientes desde las capas más profundas del suelo e incorporarlos a la superficie a través de la hojarasca (Hernández y Sánchez, 1998).

Así mismo Velasco (1998), realizó un estudio con monocultivo (Nd) de *Brachiaria humidicola* y el sistema silvopastoril de *Acacia mangium* a baja densidad (Bd), (120 árboles ha⁻¹) y a alta densidad (Ad), (240 árboles ha⁻¹), encontrando que el fósforo (P) total en el suelo a una profundidad de 15 cm fue significativamente mayor en Ad (292 mg ha⁻¹) que en Bd (253 mg ha⁻¹) y Nd (232 mg ha⁻¹). El autor concluyó que este incremento en la concentración de P total en el suelo se debe al aumento de la población de micorrizas. Además, encontró que el contenido de Mn en el suelo bajo la copa de *Acacia mangium* era mayor que fuera de la copa y que en monocultivo (828, 283 y 88 mg ha⁻¹, respectivamente).

Sin embargo, el bombeo no ocurre bajo todas las condiciones, ya que depende de las características del sitio, de la morfología radicular de las especies, el material usado para el establecimiento de las leñosas perennes y la frecuencia de podas, ya que está comprobado que el establecimiento por estacas y las podas más frecuentes presentan sistemas radiculares más superficiales, con lo que se puede producir más bien una competencia por nutrientes y agua con las pasturas u cultivos (Pezo y Ibrahim, 1999).

2.2.6.2. Efectos de la materia orgánica sobre las propiedades biológicas del suelo

Hernández y Sánchez (1998), mencionan que la mayor actividad de la fauna del suelo es bajo la copa de los árboles, está relacionado con un aumento de la humedad y mejoras en las condiciones micro climáticas del suelo.

La caída constante de hojas, frutos, ramas y la mortalidad de las raíces (especialmente las finas) constituyen un aporte constante de materia orgánica y nutriente al suelo, los cuales después de ser descompuestos y mineralizados pueden ser aprovechados por las pasturas. Asimismo, es importante resaltar que también los pastos producen hojarasca, la cual participa en los procesos de reciclaje de nutrimentos dentro del sistema. Sin embargo, cabe recalcar que la extracción de nutrientes, descomposición y acumulación es lenta y que la cantidad de materia orgánica acumulada en los sistemas silvopastoriles, depende del equilibrio entre estos procesos (Russo y Botero, 1999). La cantidad de nutrientes que pueda liberarse a través de

la hojarasca está determinado por las características de las especies de plantas que están en el sistema, su composición química, parte de la que proviene (hoja, rama, fruto, tallo), de la posición en la que se encuentra, por la edad del material, las condiciones edafoclimáticas, el manejo (podas, fertilizaciones, la intensidad del pastoreo) y la actividad de la flora y fauna edáfica que interviene en los procesos de descomposición (Fassbender, 1993; Palm, 1995; Crespo y Pérez, 2000 citado por Sandoval, 2006).

Otro de los factores que favorece el aumento de la actividad de la macro fauna y los microorganismos del suelo es que la materia orgánica les sirve como sustrato alimenticio, con lo cual pueden estar más activos y liberan o movilizan más nutrientes, haciéndolos disponibles para las plantas. El favorecimiento de la actividad microbiana es de gran importancia porque aumenta la velocidad de descomposición y formación de humus (Kass, 1998).

2.2.6.3. Efecto en la estructura del suelo

Kass (1998), Los árboles pueden mejorar las condiciones físicas de los suelos, en lo que se refiere a la porosidad y densidad aparente, mediante la acción de las raíces de los árboles y al aporte de materia orgánica; debido a que esta promueve la formación de agregados y mega poros, lo cual mejora la estructura del suelo y facilita la aireación del suelo. Esta también fomenta el desarrollo de macro organismos (lombrices), los cuales hacen galerías en el suelo, con lo cual favorecen la descompactación de los suelos, especialmente en áreas degradadas por la mecanización o el sobrepastoreo (Russo y Botero, 1999). Además, promueve un uso más eficiente del agua, debido a que incrementa la agregación de las partículas de limo, arena y arcilla, con lo cual se favorece la infiltración y la retención de agua.

2.2.7. Investigaciones relacionadas

2.2.7.1. *Seasonal variation in nitrogen fixation by different ages of roots nodules of *Alnus nepalensis* plantations, in the Eastern Himalayas*

Akkermans (1971) y Johnsrud (1978), mencionan que los problemas considerados en la investigación acerca de la fijación de nitrógeno, presenta una amplia variación en la reducción de acetileno, al replicar las muestras de los nódulos. En la investigación la medida de reducción de acetileno aplicado a los nódulos muestra para cada tiempo ha sido derivado por la activación de las muestras y la muerte temporánea que presentan los nódulos que han sido extraídos (Wheeler, McLaughlin y Steele, 1981 citado por Sharman y Ambasht, 1984).

La variación estacional altera la actividad de la nitrogenasa en el Himalaya al presentar mayor actividad en el mes de julio y la menor actividad en el mes de diciembre, según los análisis obtenidos en la fijación de nitrógeno por estación para las diferentes edades de los nódulos (7, 17, 30, 46 y 56) años respectivamente, entre la interacción año, clase de nódulos y edad de plantación; la mayor cantidad de nódulos obtenidos fue en las plantaciones jóvenes (245 kg de nódulos para la edad de 7 años, 128 para la edad de 17, 98.6 para la edad de 30, 84 para la edad de 46 y 72.8kg para la edad de 56 años). Así, la mayor fijación de nitrógeno obtenida fue en edades jóvenes que en edades adultas. La mayor tasa de fijación obtenida fue de 100 kg ha⁻¹ obtenida en el mes de julio, mientras la menor tasa de fijación fue de 3.96 kg ha⁻¹ obtenida en el mes de diciembre mediante la reducción de acetileno para las edades de 7 y 56 años respectivamente (Sharma y Ambasht, 1984).

Los árboles leguminosos tienen la capacidad de fijar una alta cantidad de nitrógeno, hasta 150 kg ha⁻¹ año⁻¹ (Kass, 1998). Esto podría contribuir al incremento de este nutriente en el suelo y por lo tanto las pasturas que crecen bajo estas condiciones aumentan sus concentraciones (Daccarett y Blyndestein 1968; Solórzano *et al.* 1998; Durr y Rangel 2000; Staples y Elevitch, 2006 citado por Sandoval, 2006).

2.2.7.2 Fijación biológica de nitrógeno por cuatro fabáceas en suelos ácidos de Tabasco, México

Según Córdova, Cárdenas, Peña, Salgado, Castelán, Lobbit, y Vera (2013), Las fabáceas cuando se asocian al maíz presentan valores mayores de nitrógeno fijado (Nf). En términos de cultivo de referencia, la mayor fijación de N se estima con el maíz criollo “dosmesano” (106 kg N ha⁻¹). Asimismo, las fabáceas presentaran valores similares de Nf con una media de 70 kg ha⁻¹ de N en suelos ácidos.

2.2.7.3 Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados

Ferrari y Wall (2004), mencionan que los árboles fijadores de nitrógeno (leguminosas y actinorrizas) establecen una asociación simbiótica con microorganismos fijadores de nitrógeno del suelo de los géneros *Rhizobium* y *Frankia* respectivamente. Estas asociaciones permiten la fijación de nitrógeno atmosférico y mejoran la absorción de agua y la asimilación de nutrientes del suelo. En muchos sitios disturbados, los árboles fijadores de nitrógeno pueden crecer mejor que los no fijadores e incluso mejor que plantas herbáceas fijadoras de nitrógeno. Estos árboles son capaces de reciclar importantes cantidades de materia orgánica y nutrientes a través de la descomposición de la hojarasca, y aunque otras formas de manejo de tierras degradadas pueden ser también importantes, aquellos constituyen una buena alternativa para rehabilitación de suelos.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Descripción del sitio

El estudio se realizó en dos fases: campo y laboratorio.

3.1.1. Política

3.1.1.1. *Campo*

Se realizó en las fincas de los señores Pedro Rodríguez y Carlos Ruíz, sector El Cristal, Parroquia Peñaherrera e Iván Ayala, sector La Magdalena, Parroquia Seis de Julio de Cuellaje, pertenecientes al Cantón Santa Ana de Cotacachi, a una distancia de 117 y 126 km del Cantón San Miguel de Ibarra, Provincia de Imbabura respectivamente.

3.1.1.2. *Laboratorio*

Se realizó en el laboratorio de Microbiología y de Suelos, Foliare y Aguas de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del AGRO (AGROCALIDAD), perteneciente al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), ubicado en la Parroquia Tumbaco, Cantón Quito.

3.1.2 Geográfica

Tabla 1. Ubicación geográfica

PROPIETARIO	LATITUD	LONGITUD	ALTURA
Sr. Pedro Rodríguez	0° 22' 23.35" N	78° 32' 21.18" W	2015 msnm
Sr. Carlos Ruiz	0° 22' 40.57" N	78° 31' 58.49" W	1895 msnm
Sr. Iván Ayala	0° 25' 17.09" N	78° 31' 58.79" W	1917 msnm

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

3.1.3 Límites

La parroquia de Peñaherrera limita por el Norte cordillera de Toizan Provincia de Esmeraldas y la Parroquia de Cuellaje; al Sur limita con las Parroquias de Vacas Galindo y García Moreno; al este limita con las Parroquias de Apuela y Vacas Galindo, al Oeste está limitada por la Parroquia de García Moreno (PDOT Cotacachi, 2015).

La parroquia Seis de Julio de Cuellaje limita al Norte por la Parroquia Alto Tambo e Imantag, al sur: por la quebrada, La Despedida, La Paz y la Parroquia de Peñaherrera, al este por la Parroquia de Apuela e Imantag y al oeste por la parroquia cordillera de Toizan, Provincia de Esmeraldas (PDOT Cotacachi, 2015).

3.2 Datos climáticos

La temperatura media anual es de 14,7 °C y la precipitación media anual de 1.414 a 1.730 mm, para la parroquia de Peñaherrera (PDOT Peñaherrera, 2015); mientras que para la parroquia de Seis de Julio de Cuellaje la temperatura media anual es de 18 °C y la precipitación media anual de 2.000 a 3.000 mm, (PDOT Cuellaje, 2011).

3.3 Materiales, equipos e insumos

3.3.1 Materiales

3.3.1.1 *Campo*

- Cámara fotográfica
- Hojas de campo
- Pico
- Pala
- Machete
- Embalaje

- GPS
- Fundas Ziploc
- Cinta métrica
- Flexómetro
- Hielera Cooler Termo Térmica Espuma Flex 20 Litros
- Gel refrigerante

3.3.1.2 *Laboratorio*

- Balanza
- Horno
- Cajas petri
- Pinzas
- Tubos de ensayo
- Pipetas
- Calibrador pie de rey

3.3.1.3 *Vegetativo*

Nódulos de las raíces *Alnus nepalensis*

3.3.2 Equipos

- Computadora
- Dumax (Equipo de análisis de Nitrógeno)
- Cámara de flujo laminar
- Estufa
- Incubadora de crecimiento
- Autoclave

3.4 Metodología

3.4.1 Selección de árboles

En el sector El Cristal perteneciente a la parroquia de Peñaherrera y el sector La Magdalena; pertenecientes a la parroquia Seis de Julio de Cuellaje se seleccionó una muestra representativa de dos árboles al azar, en linderos con las edades (Ver Tabla 2). Considerados por la disponibilidad de la especie que poseen los propietarios en el sector de Intag; debido al rápido crecimiento de la especie y el aprovechamiento que se realiza en edades entre cinco y 15 años; para la selección de árboles se valoró fenotípicamente sus vigorosidad, libre de plagas, enfermedades y fuste recto.

Tabla 2. Localización

Localidad/Sitio	selección de árboles/edad
Seis de Julio de Cuellaje sector La Magdalena (S1)	1 – 5 – 7 – 12 – 20
Peñaherrera sector El Cristal (S2)	1 – 5 – 7 – 12

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

3.4.2 Medición del diámetro a la altura del pecho, altura y diámetro de copa

- La medición del DAP, se la realizó a un metro treinta centímetros de la superficie del suelo (altura del pecho), utilizando una cinta diamétrica.
- La medición de diámetro de copa se realizó por proyección desde los puntos más salientes y tomado una cinta métrica en forma de cruz.
- Para las alturas de los árboles, se realizó con un clinómetro suunto.

3.4.3 Determinación del área radicular

Las mediciones correspondientes al área radicular de los árboles, se determinó realizando una limpieza superficial de las raíces; la toma de datos se efectuó en forma de cruz y se determinó el radio de influencia.

3.4.4 Extracción de nódulos en raíces a varias edades de crecimiento

Se extrajo una muestra de 150 gr de raíces manualmente con pico y pala, de la cual se consideró dos muestras a ser transportadas; una muestra de raíces con nódulos de 100 gr y otra muestra solamente de nódulos que fueron extraídos con la ayuda de machete y tijera podadora de las edades respectivas.

3.4.4.1 Transporte

Muestra de 100gr entre raíces y nódulos ubicadas en fundas ziploc para cada edad antes mencionada fueron transportados a los laboratorios de suelos, foliares y aguas; además se extrajo 20gr de muestras exclusiva de nódulos y colocados en envases estériles para cada edad antes mencionada fueron transportados al laboratorio de microbiología. Las muestras colectadas fueron etiquetadas y colocadas herméticamente en un cooler con bolsas de gel refrigerante para evitar la alteración de las muestras, a fin de evitar la pérdida de humedad y fueron transportados a los laboratorios de la Agencia Ecuatoriana de Aseguramiento de la calidad del AGRO (AGROCALIDAD), perteneciente al Ministerio de Agricultura y Ganadería (MAG), ubicado en la Parroquia Tumbaco, Cantón Quito.

3.4.5 Determinación de características físicas y organolépticas de nódulos de raíces

Las características físicas y organolépticas de todos los nódulos fueron evaluadas para todas las edades por separado en el laboratorio de Agrocalidad en la ciudad de Quito, en donde se analizaron:

- **Color:** Se determinó de forma visual mediante las tablas de Munsell (Munsell, 1906).
- **Olor:** Mediante el sentido del olfato, se procedió a olfatear y se describió.
- **Forma:** Se determinó la forma que poseen mediante el tacto y vista.
- **Textura:** Se determinó mediante el tacto.
- **Peso:** Se determinó su peso en estado fresco y seco.
- **Tamaño:** Se determinó mediante un calibrador de pie de rey el tamaño de los nódulos.

3.4.6 Determinación de la cantidad de nitrógeno fijado por árbol

Siguiendo la metodología señalada por Dumas (1826, citado por Gerhardt, 2015):

- a) Se procedió a secar las muestras de raíces y nódulos a una temperatura de 37 °C por 48 horas.
- b) Se tomó una muestra de 10gr de nódulos para las edades mencionadas las cuales se realizó la molienda y tamización a fin de dejar a muestra homogénea
- c) Se encendió el equipo dos horas antes del análisis, y se verificó que cumpla con los parámetros, que nos garantiza su correcto funcionamiento.
- d) Se procedió a realizar el pesaje y elaboración de capsulas de 100mg con láminas de cobalto
- e) Se analizó las muestras con una repetición, cada cinco muestras a fin de verificar el correcto análisis.

3.4.7 Análisis estadístico

Se aplicó la prueba de “t” de Student al 0,05 de probabilidad estadística, con la finalidad de determinar las diferencias entre cada una de las edades en los dos sitios de investigación; cabe indicar que, se tomaron dos individuos por edad y por sitio como unidad de muestreo.

Análisis de Regresión: para la especie forestal con una correlación significativa, se aplicó modelos de regresión lineal para analizar tendencias y comportamientos, usando el modelo estadístico siguiente:

$$\text{Lineal: } \hat{Y}_i = b_0 + b_1 X_i$$

Fuente: Aguirre y Vizcaíno (2010)

\hat{Y}_i = Variable dependiente

X_i = Variable independiente

b_0 = Intercepto

b_1 = Pendiente lineal, tasa de crecimiento

3.4.7.1 *Análisis de características fisicoquímicas del suelo*

Se realizó un análisis de suelo, previo a realizar la investigación; en área sin presencia del aliso se extrajo con pico y pala tres sub-muestras, las mismas que fueron mezcladas y se obtuvo una muestra de 500 g para las edades respectivas en las cuales se analizó pH, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, contenido de humedad, textura y porosidad.

En el área con *Alnus nepalensis* para las edades antes mencionadas; las muestras fueron tomadas en base al área de copa extraídas con pico y pala; tres sub-muestras ubicadas en los extremos del área de copa y junto al fuste del árbol, las mismas que se mezclaron y se extrajo una muestra de 500 g para las edades mencionadas, las muestras de suelo fueron transportadas al laboratorio de Agrocalidad del INIAP – Estación Experimental Santa Catalina, ubicado en Tumbaco – Quito, para realizar los respectivos análisis de pH, materia orgánica, nitrógeno, fósforo, contenido de humedad, textura y porosidad.

Los datos de las muestras de suelos fueron considerados para realizar las correlaciones y regresiones (Ver Anexo 2).

3.4.8 *Determinación del agente fijador de nitrógeno*

Al poseer la colección de nódulos recolectados, se procedió a realizar una limpieza de impurezas superficiales con agua destilada; posteriormente se realizó un segundo lavado con hipoclorito de sodio a una concentración de 5%; una vez ya desinfectado el material se procedió a machacar en un mortero de porcelana, hasta obtener el material completamente triturado en pequeñas piezas, para ser colocado en tubos de ensayo con un caldo de enriquecimiento; consecutivamente se incubó el material en una estufa a una temperatura de 28 °C durante 48 horas.

Se diluyó la concentración de 10 ml a un exponente de 10×10^{-10} ml para ser colocados en un medio sólido en cajas petri, la cantidad de 100 μ l considerando tres repeticiones por cada muestra ingresada al laboratorio; una vez cultivadas las cajas petri se procedió a incubar por un lapso de 15 días en las cuales se realizaba una revisión cada cinco días.

Las bacterias cultivadas fueron sometidas a análisis bioquímicos en los cuales se consideró el análisis de tolerancia a tetraciclina y cloranfenicol, a la tinción de Gram y posteriormente a la observación en el microscopio.

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Resultados

4.1.1 Determinar características dasométricas a diferentes edades

4.1.1.1 Selección de árboles

Los árboles seleccionados del sector (S1) presentaron todas las edades mientras que en el sector (S2) no cuenta con la edad de 20 años, la especie es aprovechamiento, a edades de entre cinco y 12 años; Orwa *et al.* (2009), afirma que en sitios buenos, los árboles pueden ser cosechados para leña después de cinco años y con diámetros pequeño, la madera se puede cosechar en menos de 10 años. Por otra parte *Alnus acuminata* árbol nativo del callejón interandino, en condiciones ecológicamente óptimas, es aprovechado a edades de entre 13 y 18 años (Corporación de Manejo Forestal Sustentable [COMAFORS], 2007).

4.1.1.2 Medición del diámetro a la altura del pecho.

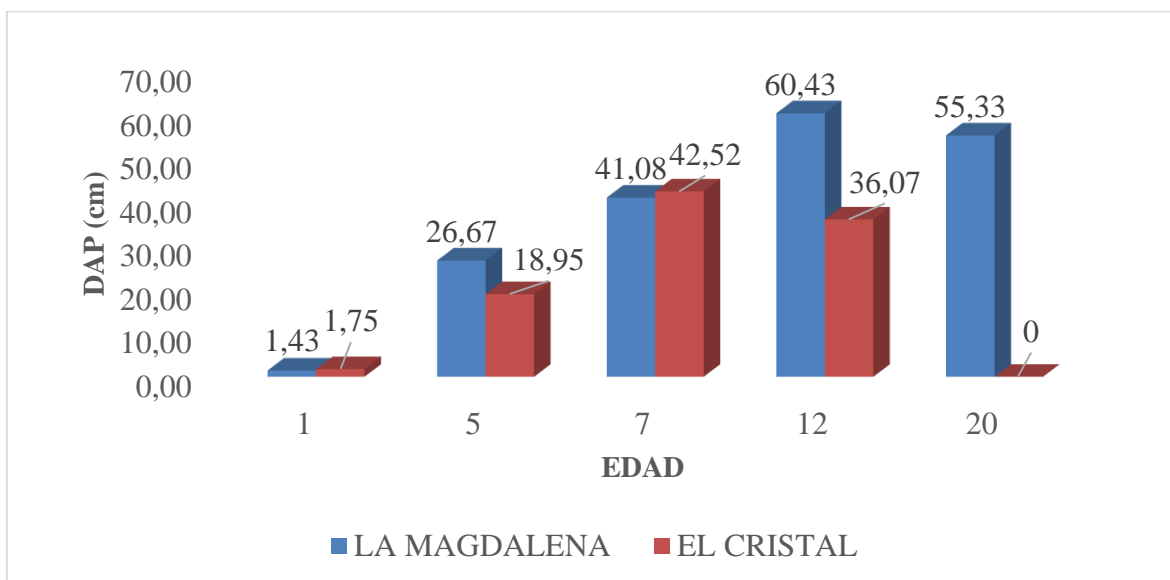


Figura 1. Diámetro a la altura de pecho promedios en centímetros para las edades sector La Magdalena y El Cristal

El DAP registra un crecimiento lineal, en comparación a la edad, corroborando lo esperado entre estas variables; pero se aprecia una desaceleración del crecimiento a la edad de 12 años en el sector El Cristal, debido a que la especie se encontraba en un sitio con condiciones edafológicas, franco compactado por lo cual se aprecia su afectación en el desarrollo de la especie. Orwa *et al.* (2009), menciona que la especie prefiere suelos húmedos y bien drenados, incluyendo franco arcilloso y arena grava, arena y arcilla, no requiere alta fertilidad de los suelos, pero prefiere los suelos permeables (Ver Figura 1).

La especie presenta un IMA en DAP de 0,341 cm en La Magdalena y de 0,305 cm en El Cristal. Imbaquingo y Naranjo (2010), afirman que obtuvieron un IMA de DAP de 0,314 cm, Paspuel (1993), al investigar el crecimiento inicial de *Alnus acuminata* en Conocoto asociado con pastos obtuvo un IMA de DAP de 0,050 cm; por lo cual se aprecia que la especie presenta un buen desarrollo en comparación a Paspuel, mientras que en el sector El Cristal se verifica valores inferiores que Imbaquingo y Naranjo pero valores superiores en el sector La Magdalena, demostrando que *Alnus nepalensis* posee un mayor crecimiento, pese a que la especie al encontrarse en linderos y en zonas de pendiente, soporta adversidades climáticas y edafológicas.

4.1.1.3 Medición de la altura.

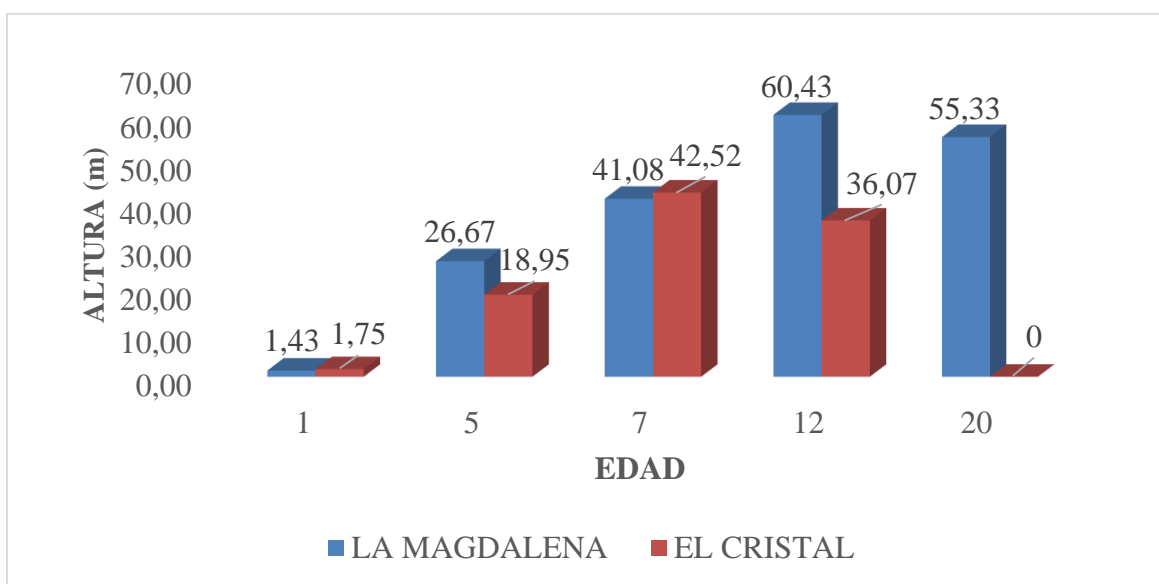


Figura 2. Altura promedio en metros para las distintas edades en el sector La Magdalena y El Cristal

La Altura registra un crecimiento lineal, en comparación a la variable edad, reafirmando lo esperado entre estas variables; de igual manera se aprecia una desaceleración de crecimiento a la edad de 12 años, estimado por las características edafológicas en las cuales se desarrolla la especie (Ver Figura 2).

La especie presenta un IMA en altura de 0,167 m en el sector La Magdalena y de 0,179 m en el sector El Cristal. Según Barakoti (2001), en Dhankuta – Nepal, *Alnus nepalensis* registró un IMA de 0,019 m; Imbaquingo y Naranjo (2010), a nivel de sitios presentan un IMA de 0,151 m; Paspuel (1993), al investigar el crecimiento inicial de *Alnus acuminata* en Conocoto asociado con pastos obtuvo un IMA de 0,022; por lo tanto, la especie presenta incrementos en altura superiores a los demás investigadores por lo que se considerada de rápido crecimiento.

4.1.1.4 Medición de diámetro de copa

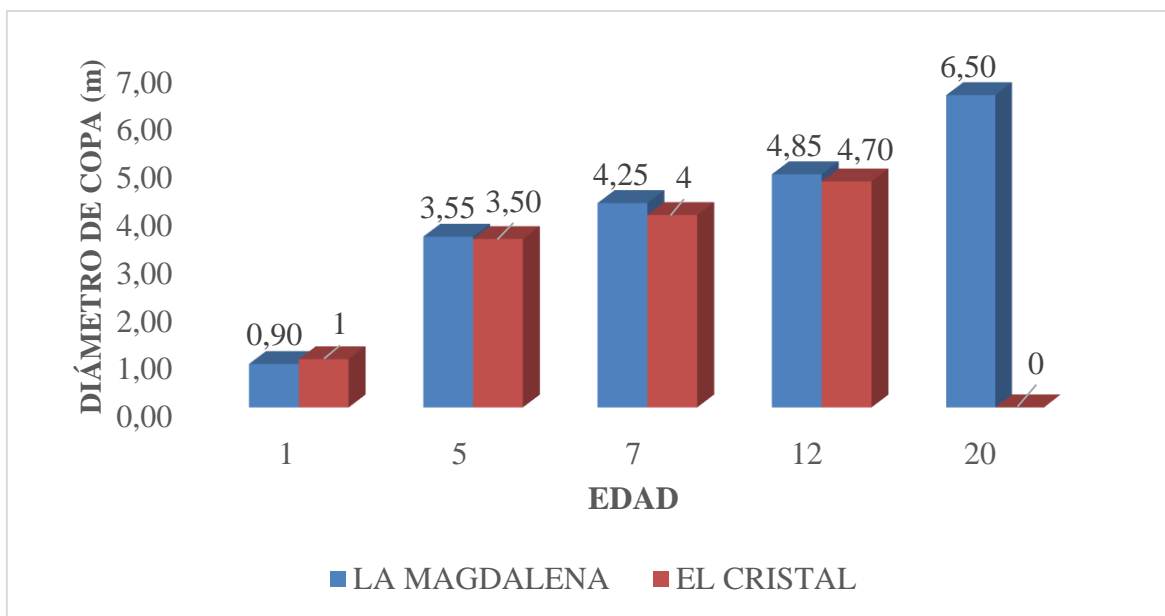


Figura 3. Diámetro de copa promedio en metros para las distintas edades en el sector La Magdalena y El Cristal

El Diámetro de Copa registra un crecimiento lineal, en comparación a la edad, por lo que la tendencia es ascendente para las variables consideradas, en cuanto al diámetro de copa no

se evidencia afectación por las características edafológicas a la edad de 12 años (Ver Figura 3).

La especie presenta un IMA de 0,049 m en el sector La Magdalena y de 0,056 m en el sector El Cristal; Paspuel (1993), menciona que al investigar *Alnus acuminata* en Conocoto asociado con pastos obtuvo IMA de 0,009 m; Imbaquingo y Naranjo (2010), al año de edad a nivel de los sitios registraron un diámetro de copa promedio de 0,062 m respectivamente. Por lo que se determina que la especie presenta valores inferiores en relación a Imbaquingo y Naranjo pero superiores a los registrados por Paspuel.

4.1.1.5 Determinación del área radicular

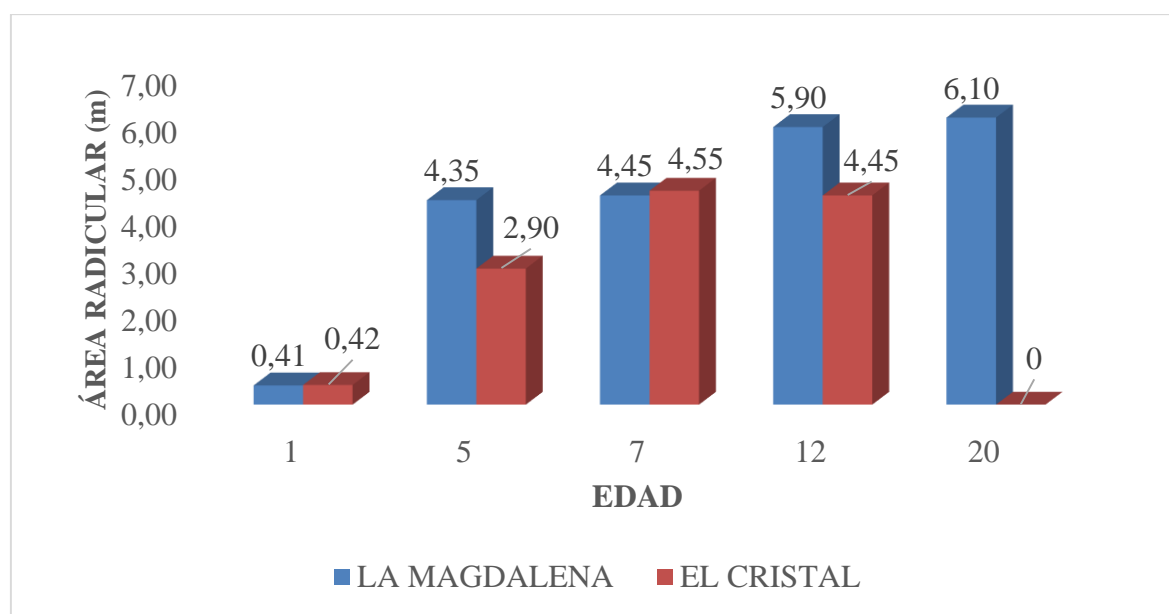


Figura 4. Área radicular para las distintas edades en el sector La Magdalena y El Cristal

El área radicular presenta un crecimiento lineal, en comparación a la edad, corroborando lo esperado para estas variables, pero se aprecia la desaceleración de crecimiento a la edad de 12 años en el sector El Cristal, por lo que se estima que las características edafológicas en las cuales se desarrolla no son óptimas para la especie edad de un año; 2,9 m de radio para la edad de cinco años; 4,5 m de radio para la edad de 7 años y 4,45 m de radio para la edad de

12 años (Ver Figura 4). La especie presenta un sistema radical superficial y extendido, con una profundidad de entre 10 a 60 cm de profundidad.

4.1.2 Determinación de características físicas y organolépticas de nódulos de raíces

- **Color:** Presenta una coloración de café color 2,5YR5/6 mediante las tablas de Munsell (1980).
- **Olor:** No se determinó aroma característico.
- **Forma:** Se determinó una forma de estructuras coraloides, debido a que se observa muchos lóbulos ramificados y agrupados.
- **Textura:** Los lóbulos poseen una textura lisa y siendo de textura rugosa la agrupación.
- **Peso:** El peso se obtuvo en fresco y seco detallados a continuación.

Tabla 3. Peso de muestras de nódulos en fresco y seco

Localidad	Edad	Fresco (gr)	Seco (gr)	Localidad	Edad	Fresco (gr)	Seco (gr)
La Magdalena	1	80	7,38	El Cristal	1	80	14,55
		80	10,12			80	8,68
	5	80	73,58		5	80	28,88
		-	-			80	30,54
	7	80	26,88		7	80	10,57
		80	24,65			80	28,6
	12	80	43,58		12	80	10,12
		80	34,21			80	19,4
	20	80	50,32		20	-	-
		80	77,68			-	-

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

- **Tamaño:** Se determina lóbulos de 0,07 cm de ancho por 0,54 cm de largo, con una única diferencia de tamaño en el largo de los lóbulos a la edad de un año con un largo de 0,27cm. La agrupación de los lóbulos puede ser variable debido a que la bacteria se forma

a partir de un pequeño filamento que con el pasar del tiempo se ramifica obteniendo agrupaciones de uno a cuatro cm de radio irregulares.

4.1.3 Determinación de la cantidad de nitrógeno fijado por árbol

Tabla 4. Concentración de nitrógeno

LOCALIDAD	EDAD	Fijación biológica de nitrógeno (gr/árbol)	LOCALIDAD	EDAD	Fijación biológica de nitrógeno (gr/árbol)
La MAGDALENA	1	0,936	El CRISTAL	1	0,980
	5	0,968		5	0,752
	7	0,736		7	0,688
	12	0,664		12	0,756
	20	1,004		20	-

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

El nitrógeno fijado biológicamente por la especie a varias edades presenta variaciones; obteniendo una cantidad mínima de 0,664 gr para la edad de 12 años y una máxima de 1,004 gr para la edad de 20 años; Sharma y Ambasht (1984), mencionan que la mayor fijación de nitrógeno presentan en edades de 7 y 46 años y la menor en edades de 7 y 56 años obteniendo un máximo de 100 kg ha⁻¹ y un mínimo de 3,96 kg ha⁻¹. Kass (1998), menciona que los árboles leguminosos tienen la capacidad de fijar una alta cantidad de nitrógeno, hasta 150 kg ha⁻¹ año⁻¹. Según Córdova *et al.* (2013), Las fabáceas presentaran valores de 70 kg ha⁻¹ de nitrógeno (N) en suelos ácidos.

Se estima que los valores obtenidos son representativos, debido a que se analiza una muestra de dos individuos por edad ubicados en linderos, con un radio estudiado de 6 metros aproximadamente; obteniendo aproximadamente una cantidad máxima de 10.04 kg y mínima de 6.64 kg de nitrógeno fijado en nódulos por individuo por hectárea; cabe recalcar que el nitrógeno incorporado aumenta o disminuye según la época en la que se realice la toma de las muestras, determinado por Sharma y Ambasht (1984), de igual manera de las condiciones edafológicas y pH; según Molina *et al.* (2006), el desarrollo nodular y la fijación requieren de micronutrientes como Co, B y Mo que pueden limitar la fijación de nitrógeno en el campo al tener deficiencia en el suelo.

4.1.4 Prueba de *t* de Student

Al comparar el porcentaje de Nitrógeno presente en los nódulos a diferentes edades, se registraron valores significativos y altamente significativos, a excepción de las comparaciones entre las edades de 1 vs 20 años y 7 vs 12 años, donde se determinó diferencias no significativas al nivel de 5% de probabilidad estadística.

Tabla 5. Prueba de *t* de Student para porcentaje de nitrógeno presente en los nódulos

Comparación	t_c	Sig.	Comparación	t_c	Sig.	Comparación	t_c	Sig.
1 vs 5	3,70	*	5 vs 7	2,98	*	7 vs 12	0,04	ns
1 vs 7	5,95	**	5 vs 12	3,03	*	7 vs 20	5,86	**
1 vs 12	6,57	**	5 vs 20	4,84	**	12 vs 20	6,60	**
1 vs 20	1,74	ns						

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

En base a los resultados de la prueba de *t* de Student, se acepta la hipótesis alterna, en vista de que el contenido de Nitrógeno en los nódulos, y por ende la fijación del mismo difiere en función de la edad del árbol.

4.1.5 Análisis de correlación

Tabla 6. Análisis de correlación

VARIABLES		R	Sig.	$r\alpha_{0.05}$	$r\alpha_{0.01}$
Edad	Área radicular	0,852	**	0,468	0,590
Edad	DAP	0,838	**	0,468	0,590
Edad	Altura	0,839	**	0,468	0,590
Edad	Diámetro de copa	0,915	**	0,468	0,590
Área radicular	DAP	0,958	**	0,468	0,590
Área radicular	Altura	0,953	**	0,468	0,590
Área radicular	Diámetro de copa	0,923	**	0,468	0,590
DAP	Altura	0,927	**	0,468	0,590
DAP	Diámetro de copa	0,910	**	0,468	0,590
Altura	Diámetro de copa	0,960	**	0,468	0,590

** Altamente significativo al nivel del 1% de probabilidad estadística.

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

Al realizar el análisis de correlación se obtuvo para 19 comparaciones relaciones altamente significativas, en comparación a sus coeficientes tabulares, mientras que para 10 variables fue significativa, es preciso mencionar que nueve variables analizadas presentaron una correlación inversamente proporcional a sus variables; es decir que a mayores valores de la una, presenta menores valores de la otra, en las que se destacan pH – Altura; pH – Diámetro de copa, cabe recalcar que se presenta las variables que poseen un coeficiente de correlación superior al 80%, detallados en la tabla, para las demás relaciones existentes ver (Anexo 3); las relaciones que no se encuentran en la tabla es debido a que no presentaron ninguna relación existente a sus valores analizados. Imbaquingo y Naranjo (2010), mencionan que al realizar los análisis de correlación obtuvieron datos altamente significativos para sus variables DAP y altura 0,84 por especie a año de edad en sistemas silvopastoriles; mientras que para la correlación de las variables diámetro de copa y altura, registra una correlación inversamente proporcional de -0,95 de probabilidad estadística siendo un valor altamente significativo, en comparación a los coeficientes tabulares.

En comparación a Imbaquingo y Naranjo (2010), los valores obtenidos son mayores, para las variables DAP y altura; mientras que para las variables diámetro de copa altura, se registra datos altamente significativos, resaltando que Imbaquingo y Naranjo (2010), obtienen una correlación inversamente proporcional, mientras que en el estudio se registra una correlación proporcional, en relación a sus coeficientes tabulares, mismos que se considera por la práctica agroforestal en el cual se desarrollan.

4.1.6 Regresión lineal

Tabla 7. Análisis de regresión lineal

VARIABLES		ECUACIÓN	R ²
Edad	Diámetro de copa	$y = 0,2755x + 1,5513$	0,837
Área radicular	DAP	$y = 9,7973x - 3,6429$	0,918
Área radicular	Altura	$y = 3,5723x + 1,1572$	0,908
Área radicular	Diámetro de copa	$y = 0,8054x + 0,7856$	0,853
DAP	Altura	$y = 0,3394x + 3,5216$	0,859
DAP	Diámetro de copa	$y = 0,0775x + 1,2461$	0,829
Altura	Diámetro de copa	$y = 0,2235x + 0,5127$	0,923

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

Al realizar el análisis de regresión lineal se observa que, a pesar de haber presentado proporcionalidad en el análisis de correlación, siete variables presentan un coeficiente de determinación R^2 superior al 80% con un ajuste bastante aceptable a la recta de regresión. Imbaquingo y Naranjo (2010), mencionan que al realizar el análisis de regresión lineal por las variables DAP y altura obtienen un 99,13 % de ajuste a la recta; mismo que es superior a el análisis de regresión obtenido de 85,9 %, mismo que se obtiene por la dispersión de puntos que se presenta en la recta considerados por los datos que presenta El Cristal considerados por las condiciones edafológicas en las que se desarrolla.

4.1.7 Análisis de suelo

Tabla 8. Porcentajes promedios de los análisis de suelo

Sitio	pH	Materia orgánica	Nitrógeno	Potasio	Contenido de Humedad	Textura			Porosidad	Fósforo
						Arena	Limo	Arcilla		
LA MAGDALENA	5,59	5,47	0,25	2,51	41,26	57,60	28,40	14	37,13	45,98
Testigo	5,80	1,39	0,07	0,12	16,08	40	18	30	64,10	4,20
EL CRISTAL	6,11	6,14	0,31	0,72	61,18	52	28,50	19,50	56,60	5,90
Testigo	6,06	2,35	0,12	1,71	24,88	50	22	65	70,01	5,10

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

Tabla 9. Tablas de interpretación de resultados de análisis de suelo

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS - REGIÓN SIERRA				
PARÁMETRO	MO (%)	N (%)	P (ppm)	K (cm ol/kg)
BAJO	< 1,0	0 - 0,15	0 -10,0	< 0,2
MEDIO	1,0 - 2,0	0,16 - 0,3	11,0 - 20,0	0,2 - 0,38
ALTO	> 2,0	> 0,31	> 21,0	> 0,4

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS - REGIÓN COSTA Y SIERRA					
pH	Acido	Ligeramente Acido	Prácticamente Neutro	Ligeramente Alcalino	Alcalino
	5,5	5,6 - 6,4	6,5 - 7,5	7,6 - 8,0	8,1
Porosidad	Suelos ligeros (%)	Suelos medios (%)	Suelos pesados (%)	Suelos turbosos (%)	
	30 - 45	45 - 55	50 - 65	75 - 90	

Fuente: Agrocalidad (2016)

Una vez realizado el análisis de suelo, se determinó los resultados al comparar con tablas de Interpretación de resultados, para la región sierra de Agrocalidad (2016), obteniendo que para el sector La Magdalena presenta un pH ácido; mientras que para El Cristal se determinan suelos pesados, mismos que pueden ser producto del apisonamiento, considerándose factor que limitan el crecimiento y la óptima fijación de nitrógeno de la especie; cabe recalcar que las concentraciones de nitrógeno presentes en el suelo pueden ser producto de la biomasa depositada al suelo, que mediante el proceso de descomposición aportan nutrientes al suelo.

4.1.8 Determinación del agente fijador de nitrógeno

Al aislar un grupo de bacterias dominantes, mismas que fueron sometidas a pruebas bioquímicas; presentaron una tolerancia a antibióticos como la tetraciclina y cloranfenicol, con circunferencias de resistencia menores a dos cm de diámetro, además se obtuvo una tinción Gram negativa respectivamente en dos repeticiones y al ser observado al microscopio se observó filamentos, considerando que la especie posiblemente presente sea *Frankia*. Concordando con Torrey (1978), quien afirma los resultados obtenidos en pruebas bioquímicas; cabe mencionar que pocas cepas de *Frankia* son cultivables, debido a su estricto requerimiento nutritivo, considerando a las cepas de las Betuláceas (*Alnus*) cultivables debido a que su requerimiento nutricional es menos estricto.

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

En lo que respecta a las características dasométricas, *Alnus nepalensis* presenta un IMA en DAP de 0,42 cm a los 12 y de 0,23 cm a los 20 años; mientras que, en altura de 0,13 m a los 12 años y de 0,10 m a los 20 años respectivamente para La Magdalena y un IMA en DAP de 0,25 cm a los 12 años; mientras que, en altura de 0,12 m respectivamente en El Cristal.

Alnus nepalensis, presenta un crecimiento lineal en cuanto a las variables dasométricas, para La Magdalena, mientras que para El Cristal se aprecia una desaceleración en el crecimiento a la edad de 12 años, debido probablemente a las condiciones edafológicas que presenta el sector.

El nitrógeno fijado biológicamente por la especie a varias edades presenta variaciones en cuanto a la cantidad de nitrógeno capturado; se presenta el rango de 0,664 gr a 1,004 gr para La Magdalena y de 0,688 gr a 0,980 gr para El Cristal; la fijación que realiza cumple dos fases en la cual se considera la primera de beneficio para la especie y una segunda fase en la cual se aporta al suelo que sucesivamente lo pone disponible para los cultivos.

Según los análisis de suelo el sector de La Magdalena, presenta suelos franco arenosos con alto contenido de materia orgánica, alta concentración de fósforo, bajas concentraciones de potasio, alta concentración de nitrógeno, con un suelo ligeramente ácido; mientras que para El Cristal se determinó suelos franco con altas concentraciones de materia orgánica, bajas concentraciones de fósforo, bajas concentraciones de potasio, altas concentraciones de nitrógeno, con un suelo prácticamente neutro.

Los nódulos nitrificantes de las raíces en la especie presentan una coloración de café sin aroma característico, de estructuras coraloides, formado por muchos lóbulos ramificados y

agrupados, de textura lisa y siendo de textura rugosa la agrupación, con un tamaño determinado para los lóbulos de 0,07 cm de ancho por 0,54 cm de largo.

El agente que se encuentra en la especie se determina que es *Frankia*, una bacteria filamentosas, causante de la nodulación y del proceso de fijación biológica de nitrógeno, se caracteriza debido a la simbiosis que se presenta entre estas especies.

5.2 Recomendaciones

Continuar la evaluación de la fijación biológica de nitrógeno, considerando la toma de muestras en varias épocas estacionales del año.

En próximas investigaciones realizar el estudio de reacción en cadena de polimerasa que determine el epíteto específico de la especie del género *Frankia* registrada en el estudio.

Difundir las ventajas y desventajas de los sistemas agroforestales ya que fomentan pequeños corredores biológicos, generando información y metodologías locales para la conservación de los recursos naturales.

CAPÍTULO VI

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre, C., & Vizcaíno, M. (2010). *Aplicación de estimadores estadísticos y diseños experimentales en investigaciones forestales*. Ibarra: Universitaria.
- Agrocalidad. (2016). *Interpretación de Resultados de Análisis de Suelo*. Laboratorio de Suelos, Foliaves y Aguas. Quito. Ecuador.
- Akkermans, D. (1971). *Nitrogen fixation and nodulation of Alnus and hippophae under natural conditions*. Ph. D thesis, University of Leiden.
- Altamirano, F. (2003). *Eco fisiología de las rizobacterias*. Microbiología Agrícola, Un aporte de la investigación Argentina. 1ª Edición, Santiago del Estero. Universidad Nacional de Santiago del Estero. pág. 113-118
- Ancco, I., Naquiche, A., & Martínez, G. (2011). *Aislamiento de Frankia sp.* Recuperado: <https://es.scribd.com/document/100581959/La-Bacteria-Filamentosa-Frankia>
- Asamblea Nacional Constituyente. (2008). *Constitución política de la República del Ecuador*. Montecristi, Ecuador.
- Baca B., Soto L., Pardo M. (2000). *Fijación biológica de nitrógeno*. Elementos. 38: 39-49 pág. Recuperado: <http://www.elementos.buap.mx/num38/htm/43.htm>
- Ballones, C. (2000). Decano y profesor de la Cátedra de Microbiología De la Facultad de Agronomía De la universidad Nacional de Tucumán. Revista Agromercado (*Suplemento Soja*) Año Exposición.
- Barakoti, T. 2001. *Crecimiento de Uttis (Alnus nepalensis) seguimiento en un ensayo de plantación en Pakhribas, Dhankuta – Nepal* pág. 23-30.
- Barrera, Y. (2012). *Ciclo del nitrógeno*, Ecuador. Recuperado: http://es.slideshare.net/manuela_maria/ciclo-del-nitrógeno-14089597
- Burrys, B. (1974). *Methodology In: The Biology of Nitrogen Fixation*. Quispel (edit.). North Holland Publishing Comoany, Amsterdam, Cap2. Pág. 9. Recuperado <http://aem.asm.org/content/33/1/85.short>
- Bauer, T. (2001). *Microorganismos Fijadores de Nitrógeno: familia Rhizobiaceae*.

- Bautista, H., & Valdés, M. (2008). *Frankia y la simbiosis actinorrízica*. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, Instituto Politécnico Nacional, 11340 México, D.F. Recuperado: http://www.medigraphic.com/pdfs/lamicro/mi-2008/mi08-3_4g.pdf
- Brewbaker, J., Willers, k., & Macklin, B. (1990). *Nitrogen fixing trees: validation and prioritization*. Nitrogen Fixing Tree Research Report 8: pág. 8-16.
- Caba, J. M., Poveda, J. L., & Ligeró, F. (2003). *Control de la nodulación en las leguminosas: Implicación de las fitohormonas*. Recuperado: <http://nostoc.usal.es/sefin/Ligeró.html>.
- Cárdena, N. R., Salgado, G. S., Córdova, S. S., Palma, L. J. D., Peña, C. J. J., Vera, N. J. A., Castelán, E. M., & Lagunes, E. L. C. (2011). *Fijación biológica de nitrógeno por tres fabáceas (Leguminosae) en suelos ácidos de Tabasco, México*. Avances en Investigación Agropecuaria, 15 pág. 31-50. Recuperado: <http://sociales.redalyc.org/articulo.oa?id=83717122003>
- Catuto, A. (2013). *“Efecto de Inoculación de Rhizobium en el Crecimiento y Nutrición de Plántulas de Soya, en la Zona de Manglar Alto, Cantón Santa Elena”*. Recuperado: <http://repositorio.upse.edu.ec/bitstream/46000/893/1/CATUTO%20SU%C3%81R%20ANDREA-2013.pdf>
- Cevallos, J. (2017). *Determinación de la ubicación geográfica de Alnus nepalensis D; Don en la zona de Intag noroccidente del Ecuador*. Intag – Ecuador. Recuperado: <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/7001>
- Córdova, S. S., Cárdenas, N. R., Peña, C. J. J., Salgado, G. S., Castelán, E. M., Lobbit P. C., & Vera, N. J. A. (2013). *Fijación biológica de nitrógeno por cuatro fabáceas en suelos ácidos de Tabasco, México* Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias, vol. XLV, núm. 1, 2013, pág. 1-9
- Coyne, M. (2000). *Microbiología del Suelo un Enfoque Exploratorio*. México. Recuperado: <http://www.fiuxy.net/ebooks-gratis/3730701-microbiologia-del-suelo-un-enfoque-exploratorio-mark-coyne-pdf.html>
- Duke, J. (1981). *Alnus nepalensis D. Don Indian Alder, Nepalese Alder*. Recuperado https://hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/Alnus_nepalensis.html

- Fernández, C. (2003). *Factores determinantes de la nodulación*. Departamento de Investigación y Desarrollo Nitragin Argentina S.A. 46 pp.+ Manual de nodulación. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires, Argentina. pág 53.
- Ferrari, A., & Wall, L. (2004). *Utilización de árboles fijadores de nitrógeno para la revegetación de suelos degradados, Argentina*. Revista de la Facultad de Agronomía, La Plata 105. Recuperado http://www2.agro.unlp.edu.ar/uploads/R/Ag105_2_63_87.pdf
- Foth, H. (1992). *Fundamentos de la ciencia del suelo*. México, D.F. ME. Continental. Pág. 433.
- Gerhardt, C. GMBH., & CO. KG. (2015). *Análisis de Nitrógeno el Método de Jean Dumas*. Alemania. Recuperado http://www.gerhardt.de/fileadmin/Redaktion/downloads/Stickstoffanalyse_-_Die_Methode_von_Jean_Dumas_gekuerzt_f_Homepage-spa-ES.pdf
- Giles, E., Oldroyd, G., & Downie, A. (2008). *Coordinating nodule morphogenesis with Rhizobium infection in legumes*. The Annual Review of Plant Biology, 59: pág. 519-546.
- Gonnet, S., Días, P., & Borsani, O. (1998). *Fijación y asimilación de nitrógeno en nódulos de Lotu corniculatis Montevideo, Uruguay*. Agrociencia 84-88. Recuperado [file:///D:/Users/Fausto/Downloads/616-1324-1-SM%20\(1\).pdf](file:///D:/Users/Fausto/Downloads/616-1324-1-SM%20(1).pdf)
- González, N. (2002). *Algunos elementos de juicio para interpretar el fenómeno de la nodulación en soja*. Publicación de las Jornadas de Cosecha Gruesa. INTA
- Graham, P. (2000). *Nodule formation in Legumes*. Encyclopedia of Microbiology. 3: pág. 407-417.
- Hernandez, M., & Sanchez, S. (1998). *Aporte del follaje arbóreo en la producción de guinea y en la fertilidad del suelo*. III Taller Internacional Silvopastoril. Los árboles y arbustos en la ganadería. Matanzas, CU. Pág. 130. Recuperado: <http://payfo.ihatuey.cu/index.php/pasto/article/view/754/1213>
- Hernandez, M., & Rusell, J. (2001). *Scientific Communication at the Beginning of the Twenty-First Century*. Estados Unidos. 271 – 282 pág. Recuperado: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1468-2451.00314/abstract>.

- Hirsch, A., Lum, M., & Downie, A. (2001). *What makes the rhizobia-legume symbiosis so special?* *Plantphysiol.* 127: pág. 1484-1492.
- Hubbell, D. H., & Kidder, G. (2009). Univ Fla IFAS Ext Publ SL16. *Biological nitrogen fixation*. Recuperado: https://www.researchgate.net/publication/291003677_Biological_nitrogen_fixation
- Hughes, H. (1981). *Forraje de ciencia de la agricultura basada en la producción de 58 pasto CIA editorial continental*. México. Pág.56, 72.
- Imbaquingo, E., & Naranjo, D. (2010) *Comportamiento inicial de aliso (Alnus nepalensis D. Don) y cedro tropical (Acrocarpus fraxinifolius Wight y Arn), asociados con brachiaria (Brachiaria decumbens Staff.) y pasto miel (Setaria sphacelata (Schumach) Staff y C. E. Hubb)*. Pág. 15-60.
- Iñon, N. (2010). *Ciclo del nitrógeno*. fijacion biológica del nitrógeno <http://www.iib.unsam.edu.ar/php/docencia/licenciatura/biotecnologia/2010/QuimicaBiol/ciclo.pdf>
- Johnsrud, C. (1978). *Nitrogen fixation by nodules of Alnus incana in a norwegian forest ecosystem*. *Oikos* 30. Pág. 475-479
- Kass, D. (1998). *Fertilidad de suelos*. Ed. J Nuñez Solís. San José, CR, EUNED. 272 pág.
- Martinez, M. (2002). *Ciencia – Filosofía, México*. Recuperado <http://es.scribd.com/doc/23693095/MARTINEZ-MIGUELEZ-MIGUEL-La-Nueva-Ciencia-2002#scribd>
- Mediavilla, F. (2016). *Forestal; Madera; Propiedades Físicas Químicas y de Trabajabilidad; Zona Andina Del Ecuador*. Intag – Ecuador. Recuperado <http://repositorio.utn.edu.ec/handle/123456789/5352>
- Méndez, C., & Bilbao, B. (2015). *Fijación simbiótica de nitrógeno en Dimorphandra macrostachya de los bosques del altiplano de la Guayana Venezolana*. *Bosque*, 36. Pág. 331-335. Recuperado de <http://sociales.redalyc.org/articulo.oa?id=173141111018>
- Molina, L. M., Medina, S. M., & Orozco, P. H. (2006). *El efecto de la interacción Frankia - micorrizas - micronutrientes en el establecimiento de árboles Aliso (Alnus acuminata) en sistemas silvopastoriles*. Medellín. Recuperado:

- http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-06902006000100005
- Munsell, A. (1906). *Atlas of the Munsell color system*. Recuperado <http://munsell.com/wp-content/uploads/2014/03/atlas-munsell-color.pdf>
- Muslera, E., & Ratera, C. (1991). *Pastos y forrajes*. Málaga - España. Editorial Edmundo. Pág. 29-56. Recuperado http://biblioteca.unirioja.es/biba/mas_info.php?-titn=94467
- Moyano, S., Yaguela, M., & Salmerón, J. (2004). *Las leguminosas de grano en la agricultura moderna*. Boletín N° 3. Publicado por Mundi Prensa. 31 pág.
- Napier, I. (1989). *Bosque de semillas y vivero, práctica en Nepal*. Proyecto de Investigación Forestal del Reino Unido, Katmandú - Nepal. Pág. 35 – 36.
- Olivares, P. (2005). *Cuatro décadas en la simbiosis Rhizobium-Leguminosa*. Academia de Ciencias Matemáticas, físicoquímicas y naturales de Granada. España. 2003. 31 pág.
- Orwa, C. A., Mutua, K. R., & Jamnadass, R. S. A. (2009). *Agroforestry Database: a tree reference and selection guide version 4.0*. Recuperado <http://www.worldagroforestry.org/sites/treedbs/treedatabases.asp>
- Paspuel, L. (1993). *Evaluación del crecimiento del aliso (Alnus acuminata H.B.K.) en asocio con Kikuyo (Pennisetum clandestinus)*. Conocoto-Quito.
- Pezo, D., & Ibrahim, M. (1999). *Sistemas silvopastoriles*. Módulo de enseñanza agroforestal N° 2. 2da edición. Turrialba, CR. CATIE/GTZ. 275 pág.
- Plan Nacional de Buen Vivir (2017; 2021) Ecuador. Recuperado http://www.planificacion.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/10/PNBV-26-OCT-FINAL_0K.compressed1.pdf
- PDOT, Cotacachi. (2015). Actualización Plan de Desarrollo y Ordenamiento Territorial Cantón Santa Ana de Cotacachi 2015-2035. Cotacachi.
- PDOT, Peñaherrera. (2015). Recuperado http://app.sni.gob.ec/sni-link/sni/PORTAL_SNI/data_sigad_plus/sigadplusdiagnostico/1060020610001_Documento%20Final%20GAD%20Parroquial%20Pe%C3%B1aherrera_30-10-2015_14-09-27.pdf

- Ramírez, M. (1995). *Caracterización de cepas de Rhizobium leguminoso arumb.vtrifolii utilizando perfiles de iso enzimas*. Revista Suelos Ecuatorianos. Vol. 25: pág. 118-126.
- Russo, R., & Botero, R. (1999). *El componente arbóreo como recursos forrajero en los sistemas silvo pastoriles*. Mercedes de Gúacimo, CR, EARTH. 16 pág.
- Sharma, E., & Ambasht, R. (1984). *Seasonal variation in nitrogen fixation by differents ages of root nodules of Alnus nepalensis plantations, in the eastern Himalayas, India*.
- Salisbury, B., & Ross, C. (1992). *Filosofía vegetal*. Editorial Iberoamericana, Mexico. Recuperado http://biblioteca.unirioja.es/biba/mas_info.php?-titn=192711
- Sandoval, I. (2006). *Producción de hojarasca y reciclaje de nutrientes de dos especies arbóreas y dos gramíneas de pasturas de Muy Muy, Nicaragua*. CATIE. Recuperado de <http://usi.earth.ac.cr/glas/sp/ISA.pdf>
- Sevillano, F., & Rodríguez, B. C. (1987). *Sistemas simbióticos fijadores de nitrógeno de interés aplicado en Agricultura*. En: Avances en la biología de la Fijación de nitrógeno atmosférico. Eds.. M. Megias y F Ruíz. Pág 9 – 29, publicación de la Universidad de Sevilla, España
- Tairuan, T., Aguilar, O., & Fabra, A. (2002). *Characterization of nodulation peanut rhizobia isolated from a native soil population in Cordoba, Argentina*. Balaban, Philadelphia. Simbiosis. 33: pág. 59-72. Recuperado: <http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=13932820>
- Torrey, J.G. (1982). *Casuarina: A nitrogen-fixing tree of the tropics*. In: P.H. Graham and S.C. Harris (eds.). BNF Technology for Tropical Agriculture. CIAT, Cali, Colombia.
- Universidad de Navarra. Campus Tecnológico. España. (1995). *Ciclo del nitrógeno*. Recuperado: <http://www.tecnun.com/asignatura/s/ecología/Hipertexto/04Ecosis/135>
- Universidad de Jaén. (2015): *Análisis de la Calidad del Aire Atmosférico*, España. Recuperado: http://www4.ujaen.es/~mjayora/docencia_archivos/Quimica%20analitica%20ambiental/tema9.pdf

- Valdés, M., Pérez, O, N., & Vásquez, L. (s.f) *La bacteria filamentosa Frankia*. Recuperado: <http://www.biblioweb.tic.unam.mx/libros/microbios/Cap13/>
- Velasco, J. (1998). *Productividad forrajera, aporte de fósforo foliar y dinámica de los hongos endomicorrizicos y lombrices, en una pradera de Brachiaria humidicola sola y en asocio con Acacia mangium*. Tesis Mag. Sc. Turrialba, CR, CATIE. 88 pág.
- Wang, T., Romero, J., Martínez, I., & López, L. (2001). *Rhizobium y su destacada simbiosis*, cap. 8. In E. Martínez-Romero & J. Martínez-Romero (eds.). *Microbios*. Centro de investigaciones sobre Fijación de Nitrógeno. Universidad National Autónoma de México, México.
- Willems, A. (2006). *The taxonomy of rhizobia: an overview*. *Plant and Soil* 287: pág. 3–14. Recuperado <http://link.springer.com/article/10.1007/s11104-006-9058-7>
- Willems, A. (2003). *Description of New Ensifer strains from nodules and proposal to transfer Ensifer adhaerens Cassida 1982 to SinoRhizobium* *SinoRhizobium adhaerens comb. Nov. Request for an Opinion. Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*53, 1207–1217. Recuperado <http://ijs.microbiologyresearch.org/content/journal/ijsem/10.1099/ijms.0.02264-0>
- Young, J. (2005). *Rhizobium.2009. International Committee on Systematic of Prokaryotes; Subcommittee on the taxonomy of Agrobacterium and Rhizobium: Minutes of the meetings, 31 August 2008, Gent, Belgium. Int J SystEvolMicrobiol* 59, pág. 921-922
- Zhang, F., & Smith, D. (2002). *Interorganismal signaling in suboptimum environments: The legume-rhizobia symbiosis*. *Adv. Agron.* 76: pág. 125-161. Recuperado <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0065211302760045>

GLOSARIO

Antagonista: Que actúa de manera contraria y opuesta a otra; especialmente, personaje que se opone al héroe o protagonista en el asunto principal de una obra literaria, una película u otra creación artística.

Frankia: Es una bacteria filamentosa o actinomiceto, fijadora de nitrógeno, que cuando vive en asociación con ciertas plantas, induce en sus raíces la formación de nódulos fijadores de nitrógeno.

Simbiosis: Asociación íntima de organismos de especies diferentes para beneficiarse mutuamente en su desarrollo vital.

Plantas actinorrízicas: Las plantas actinorrízicas son angiospermas que se caracterizan por su capacidad de formar nódulos fijadores de nitrógeno en simbiosis con bacterias filamentosas del género *Frankia*.

Filamentos septados: Son una red de filamentos cilíndricos que conforman la estructura del cuerpo de los hongos multicelulares. Están constituidos por una fila de células alargadas y tubulares, envueltas por una pared celular compuesta de quitina. El conjunto de estas hifas se denomina micelios.

ATP: El trifosfato de adenosina es un nucleótido fundamental en la obtención de energía celular.

Factores Nod: Los factores de nodulación o factores NOD son lipoquitooligosacáridos (LCOs) producidos por bacterias llamadas rizobios que intervienen durante la formación de nódulos fijadores de nitrógeno en las leguminosas.

N₂: Nitrógeno molecular atmosférico.

Rhizobium: Es un género de bacterias Gram-negativas del suelo que fijan nitrógeno atmosférico.

Fenotípicas: En biología y específicamente en genética, se denomina fenotipo a la expresión del genotipo en función de un determinado ambiente.

Lectinas: Son proteínas que se unen a azúcares con una elevada especificidad para cada tipo distinto.

Nitrogenasa: Es una enzima utilizada por las bacterias fijadoras de nitrógeno atmosférico para romper el nitrógeno molecular y combinarlo con hidrógeno para formar amonio.

Fijación de nitrógeno: Por fijación de nitrógeno se entiende la combinación de nitrógeno molecular o dinitrógeno con oxígeno o hidrógeno para dar óxidos o amonio que pueden incorporarse a la biosfera.

CAPÍTULO VII

ANEXOS

Anexo 1. Ubicación del sitio

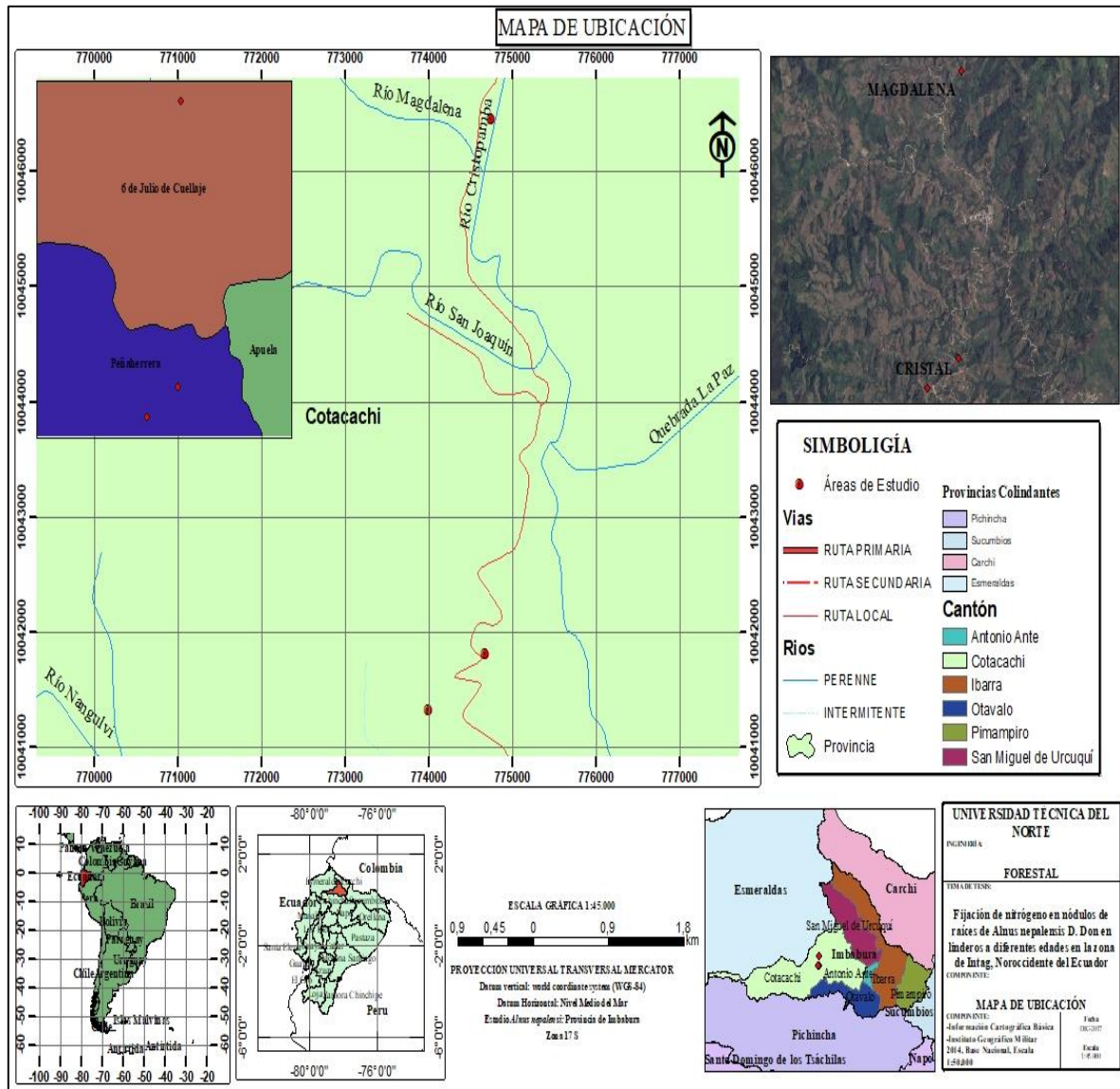


Ilustración 3. Ubicación del sitio de estudio

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

Anexo 2. Correlaciones y regresiones analizadas

Tabla 10. Variables consideradas para las correlaciones y regresiones.

Fijación de nitrógeno	Edad	Peso de nódulos	Área radicular	pH	Materia orgánica
	Peso de nódulos		pH		Nitrógeno
	Área radicular		Materia orgánica		Potasio
	pH		Nitrógeno		Contenido de Humedad
	Materia orgánica		Potasio		Arena
	Nitrógeno		Contenido de Humedad		Limo
	Diámetro de copa		Diámetro de copa		Diámetro de copa
	Potasio		Arena		Arcilla
	Contenido de Humedad		Limo		Porosidad
	Arena		Arcilla		Fósforo
	Limo		Porosidad		DAP
	Arcilla		Fósforo		Altura
	Porosidad		DAP		Nitrógeno
	Fósforo		Altura		Potasio
	DAP		pH		Contenido de Humedad
Altura	Materia orgánica	Arena			
Edad	Peso de nódulos	Área radicular	Nitrógeno	Materia orgánica	Limo
	Área radicular		Potasio		Arcilla
	Diámetro de copa		Diámetro de copa		Diámetro de copa
	pH		Contenido de Humedad		Porosidad
	Materia orgánica		Arena		Fósforo
	Nitrógeno		Limo		DAP
	Potasio		Arcilla		Altura
	Contenido de Humedad		Porosidad		Potasio
	Arena		Fósforo		Contenido de Humedad
	Limo		DAP		Arena
Arcilla	Altura	Limo			
			Nitrógeno		

Continúa.../...

Edad	Porosidad		Arena		Arcilla
	Fósforo		Limo		Porosidad
	DAP		Arcilla		Fósforo
	Altura	Contenido de Humedad	Porosidad	Nitrógeno	DAP
Diámetro de copa	Diámetro de copa		Diámetro de copa		
Contenido de Humedad	Fósforo		Altura		
Arena	DAP		Arcilla		
Potasio	Limo		Altura		Porosidad
	Arcilla		Limo	Limo	Fósforo
	Porosidad		Arcilla		DAP
	Fósforo		Porosidad		Altura
	DAP	Arena	Fósforo		Diámetro de copa
	Altura		DAP		Diámetro de copa
	Diámetro de copa		Diámetro de copa		Fósforo
Porosidad	Altura		DAP		
Arcilla	Fósforo		DAP		Altura
	DAP	Fósforo	Altura		Altura
	Altura		Diámetro de copa	DAP	Diámetro de copa

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

Anexo 3. Correlaciones

Tabla 11. Correlaciones de las variables

VARIABLES		r	Sig.	r $\alpha_{0.05}$	r $\alpha_{0.01}$
Fijación biológica de nitrógeno	Materia orgánica	-0,528	*	0,468	0,590
Fijación biológica de nitrógeno	Potasio	0,542	*	0,468	0,590
Edad	Peso de nódulos	0,593	**	0,468	0,590
Edad	Área radicular	0,852	**	0,468	0,590
Edad	pH	-0,737	**	0,468	0,590
Edad	Potasio	0,619	**	0,468	0,590
Edad	Arena	0,645	**	0,468	0,590
Edad	Arcilla	-0,571	*	0,468	0,590
Edad	Porosidad	-0,554	*	0,468	0,590
Edad	DAP	0,838	**	0,468	0,590
Edad	Altura	0,839	**	0,468	0,590

Continúa.../...

Edad	Diámetro de copa	0,915	**	0,468	0,590
Peso de nódulos	Área radicular	0,620	**	0,468	0,590
Peso de nódulos	Potasio	0,578	*	0,468	0,590
Peso de nódulos	DAP	0,557	*	0,468	0,590
Peso de nódulos	Altura	0,568	*	0,468	0,590
Peso de nódulos	Diámetro de copa	0,638	**	0,468	0,590
Área radicular	pH	-0,601	**	0,468	0,590
Área radicular	Arcilla	-0,540	*	0,468	0,590
Área radicular	DAP	0,958	**	0,468	0,590
Área radicular	Altura	0,953	**	0,468	0,590
Área radicular	Diámetro de copa	0,923	**	0,468	0,590
pH	Potasio	-0,579	*	0,468	0,590
pH	Contenido de humedad	0,576	*	0,468	0,590
pH	Arena	-0,647	**	0,468	0,590
pH	Arcilla	0,670	**	0,468	0,590
pH	Porosidad	0,678	**	0,468	0,590
pH	DAP	-0,556	*	0,468	0,590
pH	Altura	-0,643	**	0,468	0,590
pH	Diámetro de copa	-0,682	**	0,468	0,590
Materia orgánica	Nitrógeno	0,935	**	0,468	0,590
Materia orgánica	Contenido de humedad	0,474	*	0,468	0,590
Materia orgánica	Limo	0,584	*	0,468	0,590
Potasio	Arena	0,712	**	0,468	0,590
Potasio	Limo	-0,557	*	0,468	0,590
Potasio	Porosidad	-0,648	**	0,468	0,590
Arena	Arcilla	-0,806	**	0,468	0,590
Arena	Porosidad	-0,610	**	0,468	0,590
Arena	Altura	0,512	*	0,468	0,590
Arena	Diámetro de copa	0,544	*	0,468	0,590
Arcilla	Porosidad	0,600	**	0,468	0,590
Arcilla	DAP	-0,501	*	0,468	0,590
Arcilla	Altura	-0,576	*	0,468	0,590
Arcilla	Diámetro de copa	-0,595	**	0,468	0,590
Porosidad	DAP	-0,477	*	0,468	0,590
DAP	Altura	0,927	**	0,468	0,590
DAP	Diámetro de copa	0,910	**	0,468	0,590
Altura	Diámetro de copa	0,960	**	0,468	0,590

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

Anexo 4. Regresiones

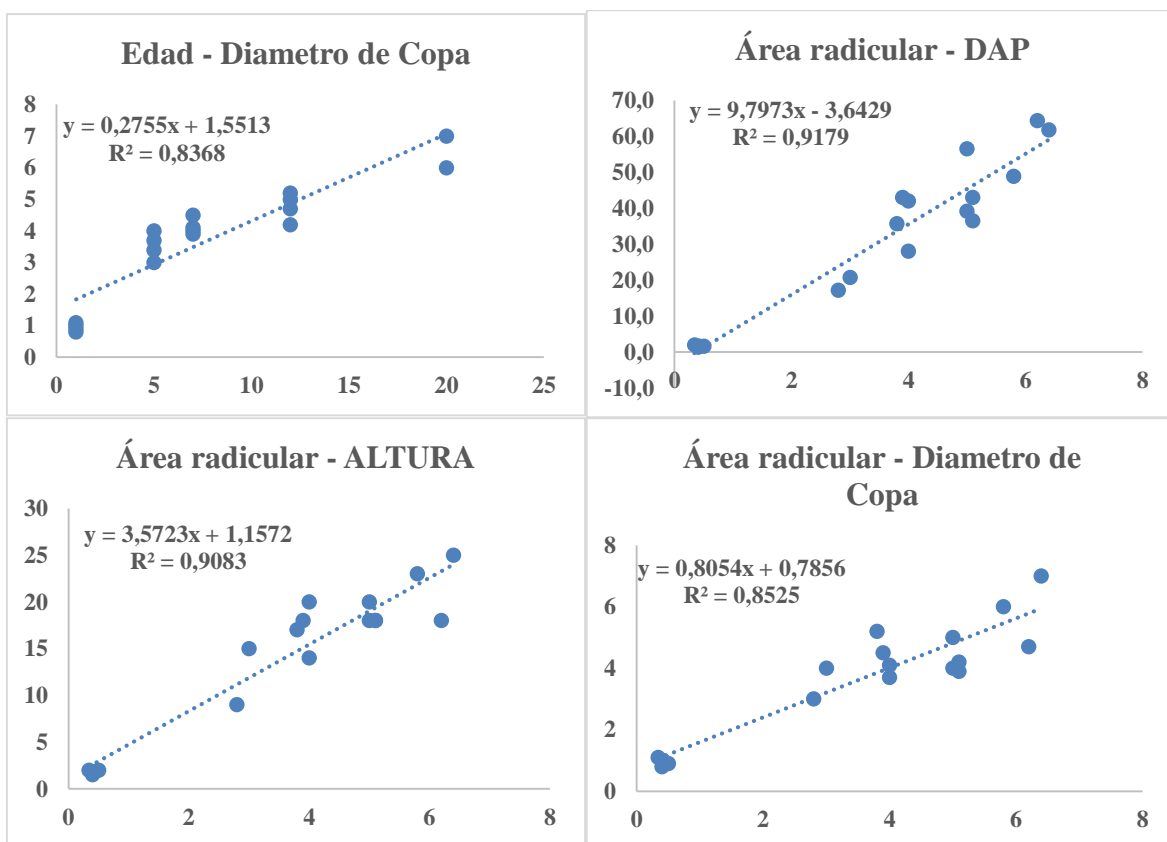
Tabla 12. Regresiones de las variables

VARIABLES		ECUACIÓN	R ²
Fijación biológica de nitrógeno	Materia orgánica	$y = -5,3333x + 11,246$	0,279
Fijación biológica de nitrógeno	Potasio	$y = 6,5436x - 5,0513$	0,294
Edad	Peso de nódulos	$y = 2,107x + 12,664$	0,352
Edad	Área radicular	$y = 0,2961x + 1,2817$	0,726
Edad	pH	$y = -0,0678x + 6,3483$	0,544
Edad	Potasio	$y = 0,2574x - 0,2857$	0,383
Edad	Arena	$y = 0,8592x + 48,428$	0,416
Edad	Arcilla	$y = -0,5148x + 20,448$	0,327
Edad	Porosidad	$y = -1,3719x + 56,454$	0,307
Edad	DAP	$y = 2,9651x + 8,5202$	0,702
Edad	Altura	$y = 1,0864x + 5,7889$	0,704
Edad	diámetro de copa	$y = 0,2755x + 1,5513$	0,837
Peso de nódulos	Área radicular	$y = 0,0606x + 1,8517$	0,384
Peso de nódulos	Potasio	$y = 0,0682x - 0,2916$	0,334
Peso de nódulos	DAP	$y = 0,5569x + 15,58$	0,310
Peso de nódulos	Altura	$y = 0,2082x + 8,015$	0,323
Peso de nódulos	Diámetro de copa	$y = 0,0544x + 2,1119$	0,407
Área radicular	pH	$y = -0,1592x + 6,3862$	0,361
Área radicular	Arcilla	$y = -1,4075x + 21,466$	0,292
Área radicular	DAP	$y = 9,7973x - 3,6429$	0,918
Área radicular	Altura	$y = 3,5723x + 1,1572$	0,908
Área radicular	Diámetro de copa	$y = 0,8054x + 0,7856$	0,853
pH	Potasio	$y = -2,6478x + 17,023$	0,334
pH	Contenido de humedad	$y = 17,666x - 55,883$	0,332
pH	Arena	$y = -10,763x + 117,67$	0,418
pH	Arcilla	$y = 7,914x - 29,354$	0,449
pH	Porosidad	$y = 20,173x - 69,739$	0,460
pH	DAP	$y = -21,537x + 156,65$	0,310
pH	Altura	$y = -9,1107x + 67,147$	0,413
pH	Diámetro de copa	$y = -2,2464x + 16,74$	0,464
Materia orgánica	Nitrógeno	$y = 0,0482x - 0,0016$	0,875
Materia orgánica	Contenido de humedad	$y = 3,4316x + 28,006$	0,225
Materia orgánica	Limo	$y = 1,3389x + 20,231$	0,271
Potasio	Arena	$y = 2,5896x + 50,805$	0,507
Potasio	Limo	$y = -1,3261x + 29,797$	0,310
Potasio	Porosidad	$y = -4,2126x + 54,573$	0,420
Arena	Arcilla	$y = -0,5724x + 48,226$	0,650

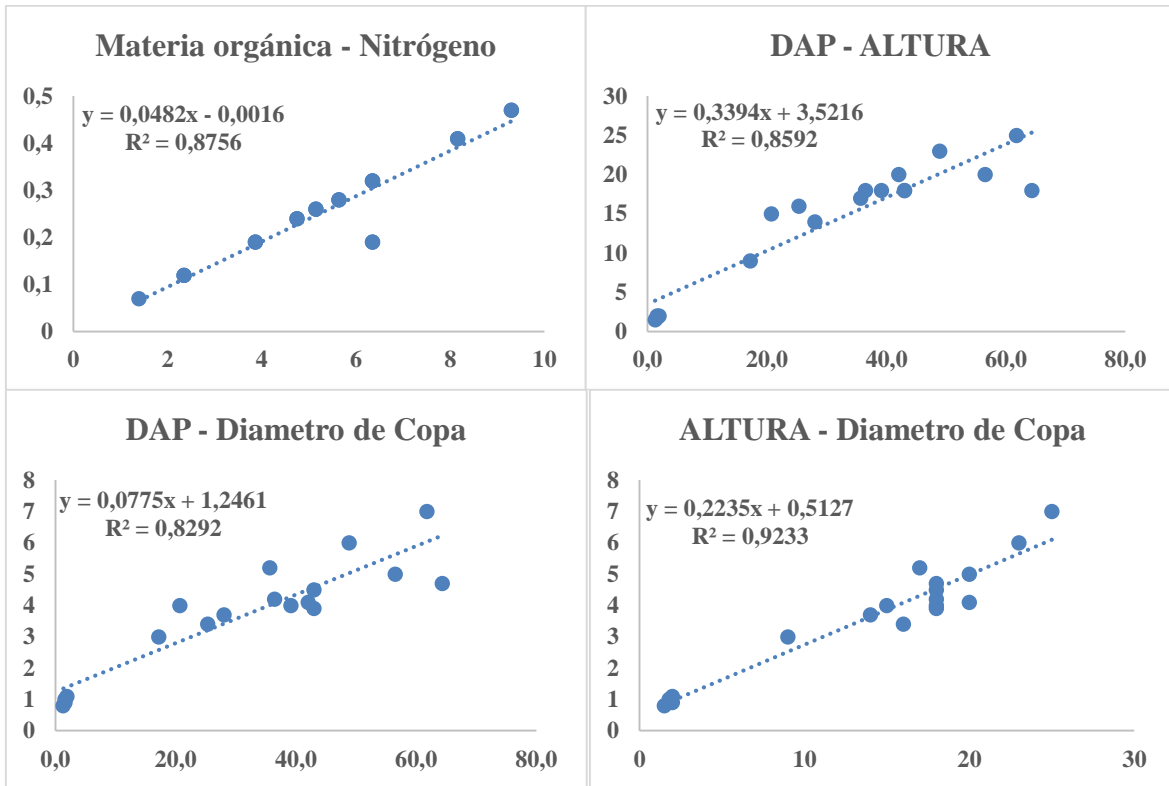
Arena	Porosidad	$y = -1,0904x + 107,77$	0,372
Arena	Altura	$y = 0,4984x - 13,228$	0,262
Arena	Diámetro de copa	$y = 0,1232x - 3,0933$	0,296
Arcilla	Porosidad	$y = 1,5101x + 22,541$	0,360
Arcilla	DAP	$y = -1,9681x + 63,946$	0,251
Arcilla	Altura	$y = -0,828x + 27,855$	0,331
Arcilla	Diámetro de copa	$y = -0,1989x + 6,9649$	0,353
Porosidad	DAP	$y = -0,6816x + 62,788$	0,227
DAP	Altura	$y = 0,3394x + 3,5216$	0,859
DAP	Diámetro de copa	$y = 0,0775x + 1,2461$	0,829
Altura	Diámetro de copa	$y = 0,2235x + 0,5127$	0,923

Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

Anexo 5. Líneas de tendencia del coeficiente de determinación R^2 para las variables superiores al 80%



Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal



Elaborado por: Farinango León Fausto Cristóbal

Anexo 6. Registro fotográfico



Ilustración 4. Recolección de muestras de suelo.
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 5. Embalaje de muestras de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 6. Recolección de muestras de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 8. Identificación de muestra de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 7. Recolección de muestra de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 9. Pesaje de muestras de agua
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 10. Identificación de muestras de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 12. Extracción de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 11. Cooler para transporte de muestras
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 13. Recolección de muestras de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 14. Equipos de laboratorio
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 16. Análisis de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 15. Materiales de laboratorio
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 17. Espectrofotómetro
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 18. Análisis de fósforo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

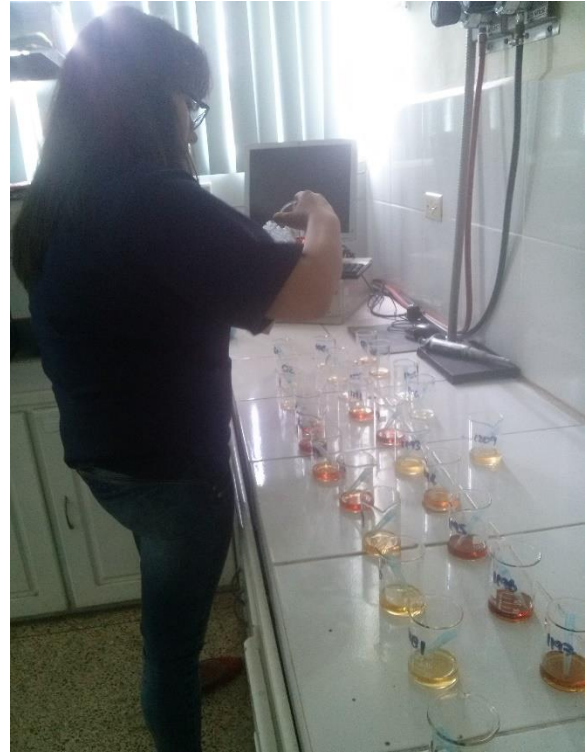


Ilustración 20. Análisis de materia orgánica
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 19. Registro de análisis de fosforo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 21. Análisis de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 22. Espectrómetro de absorción atómica
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 24. Calibración de equipo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 23. Agitador
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 25. Análisis de pH de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 26. Capsulas para análisis de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

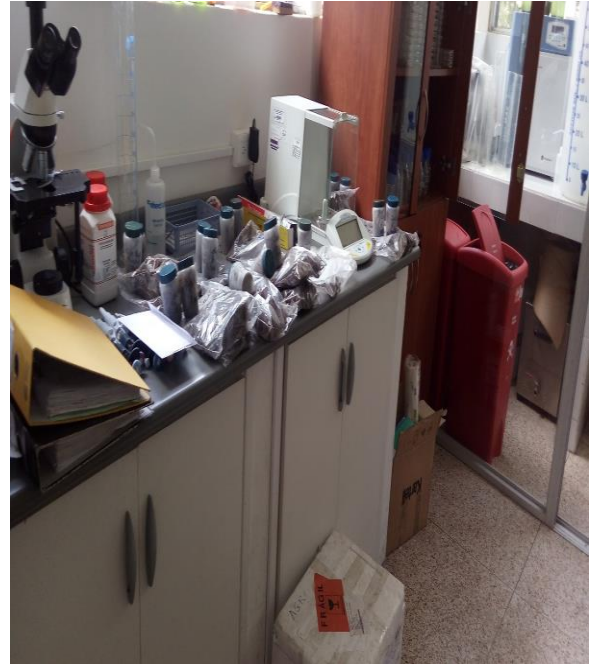


Ilustración 28. Laboratorio de biotecnología
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 27. Muestras de raíces y nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 29. Estufa
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 30. Secado de muestras de suelo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 32. Pesaje de muestras de raíces
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 31. Muestras de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 33. Limpieza de muestras de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 34. Comparación de muestras de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 36. Pesaje de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 35. Crecimiento de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 37. Separación de muestras de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 38. Separación de nódulos.
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 39. Muestras de nódulos de raíces
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 40. Preparación de medios de cultivo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 41. Muestras de nódulos en embaces esterales.
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 43. Autoclave
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

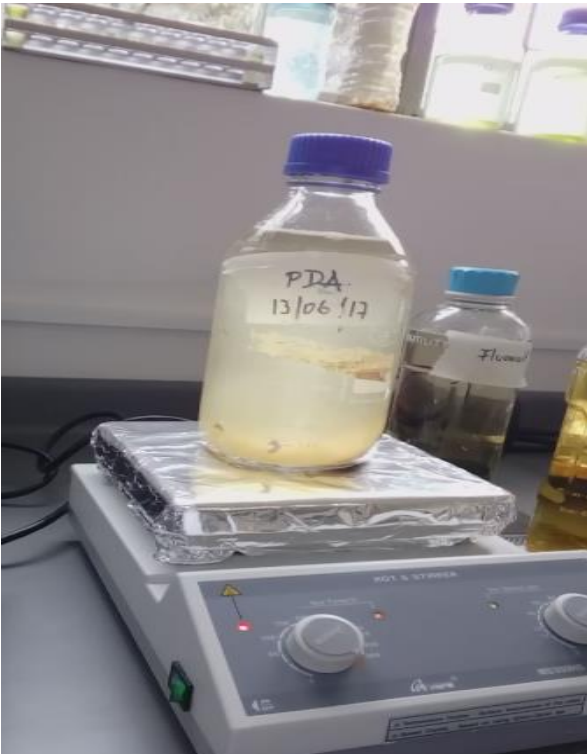


Ilustración 42. Medio de cultivo para bacterias
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 44. Preparación de medio
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

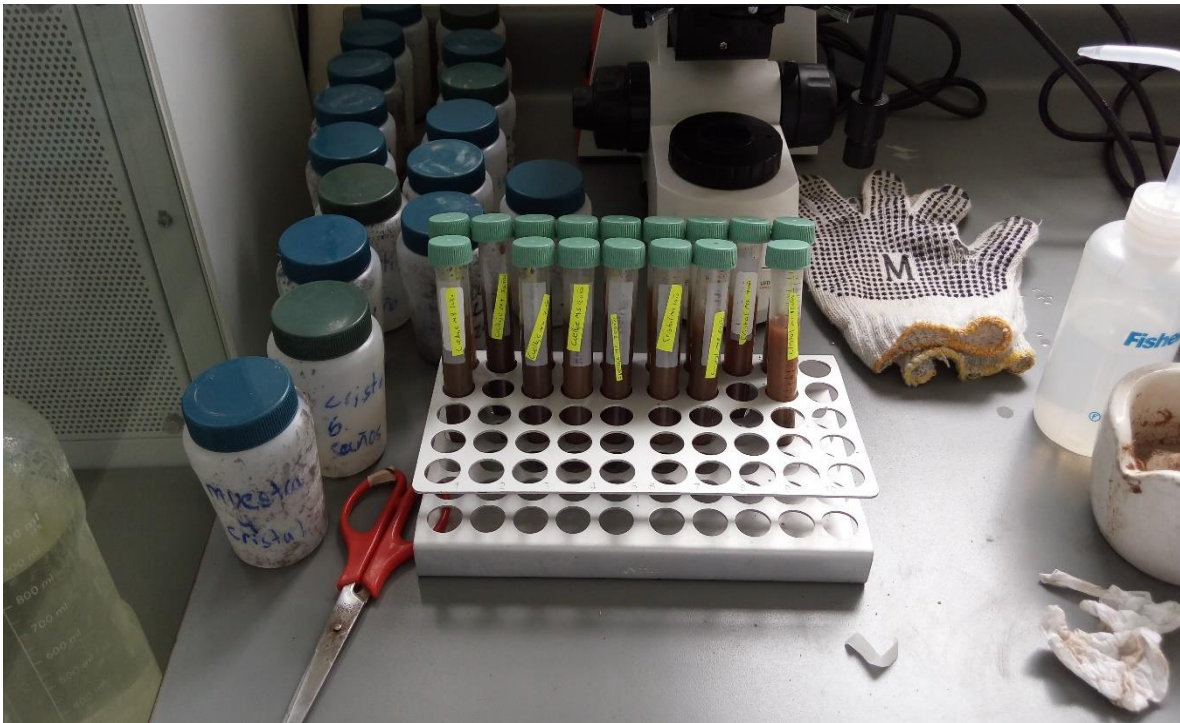


Ilustración 45. Muestras de nódulos triturados
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 46. Colocación de medio en cajas petri
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 47. Siembra de nódulos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

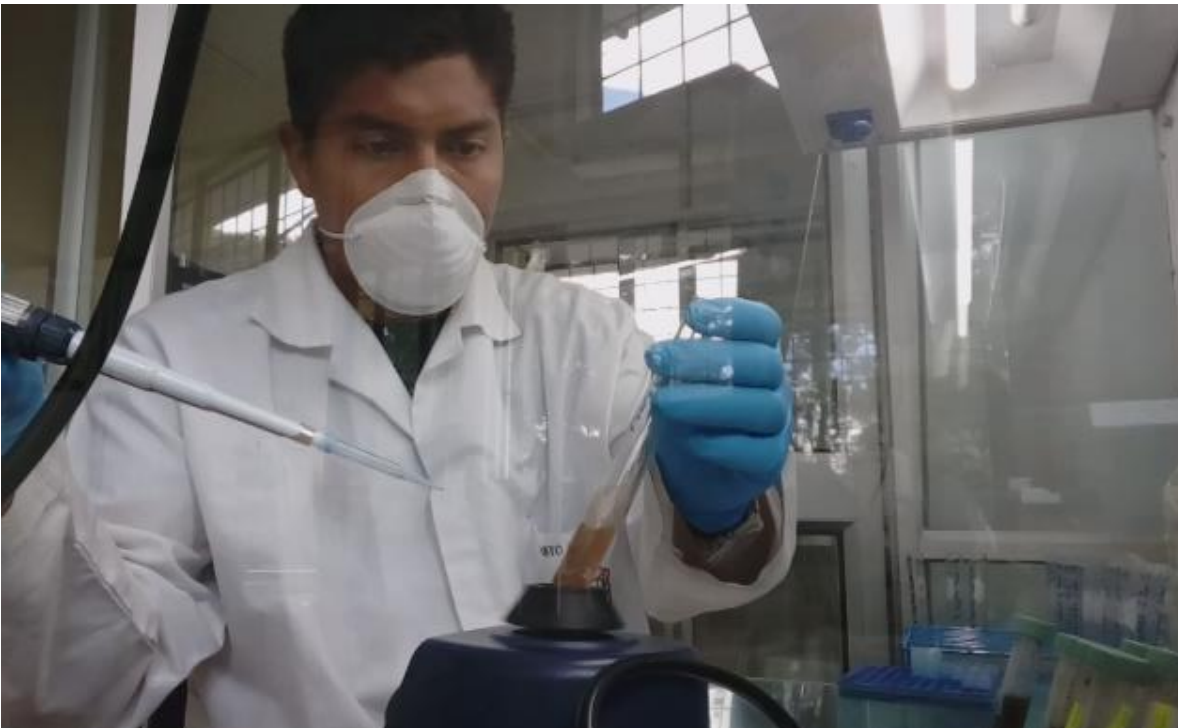


Ilustración 48. Disolución de muestras en medio de cultivo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

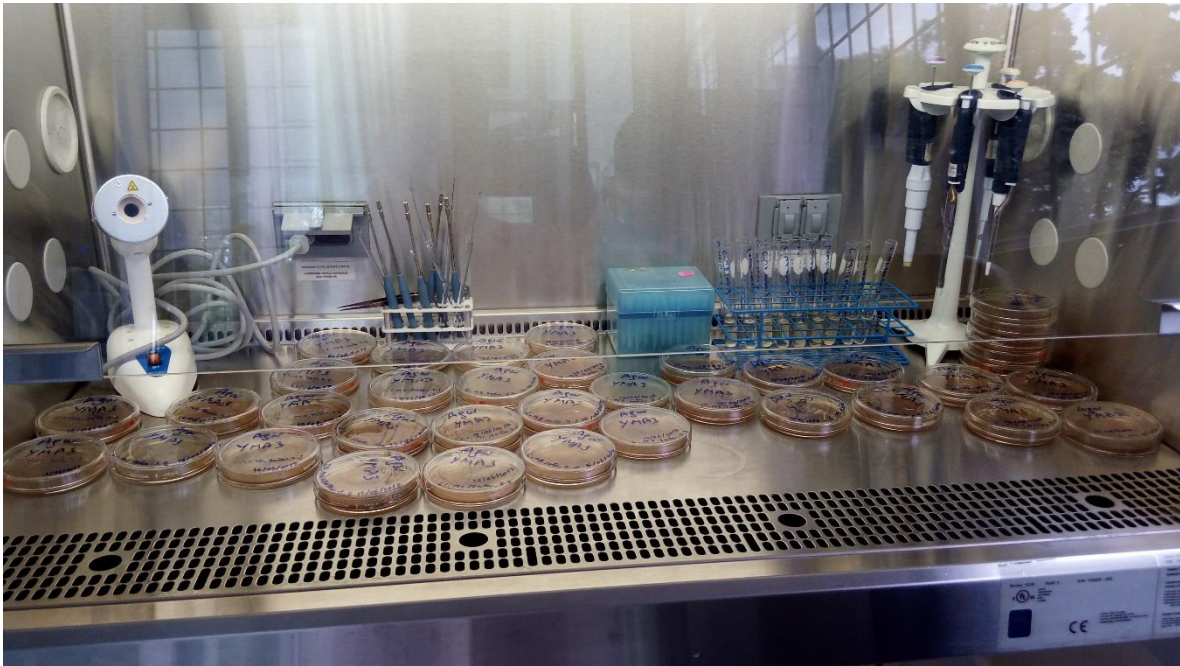


Ilustración 49. Cajas petri cultivadas
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 50. Muestra de nódulos homogénea triturada y tamizada
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

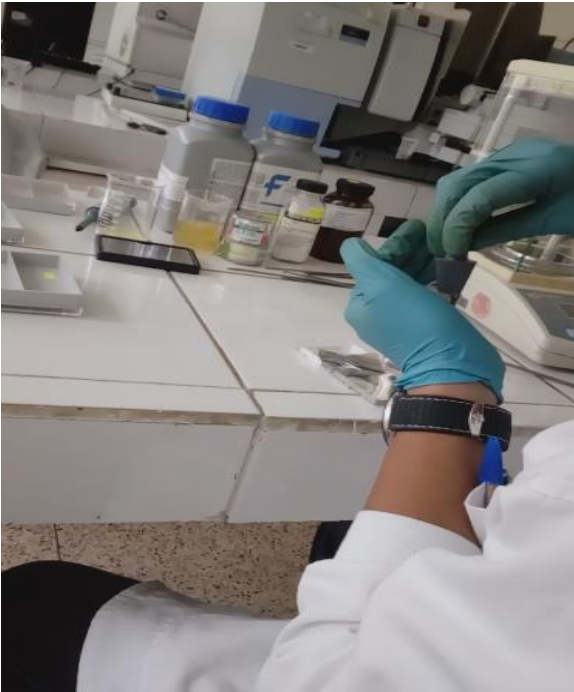


Ilustración 51. Preparación de láminas de cobalto
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

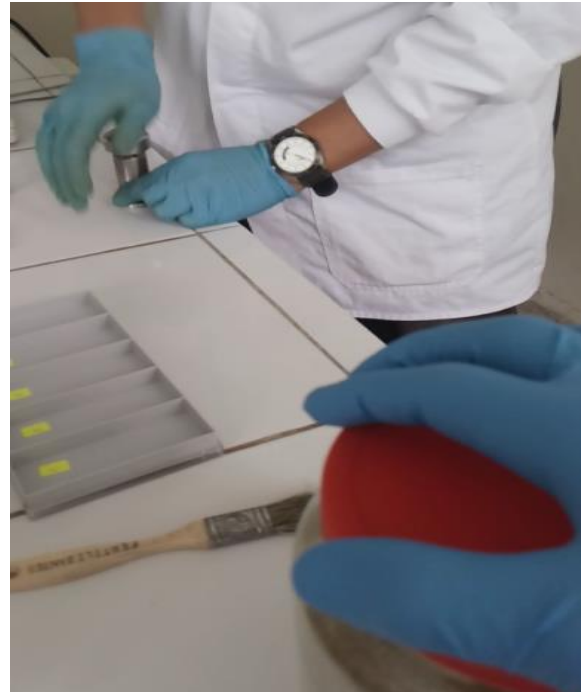


Ilustración 53. Preparación de capsulas
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 52. Sustrato para calibración de equipo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

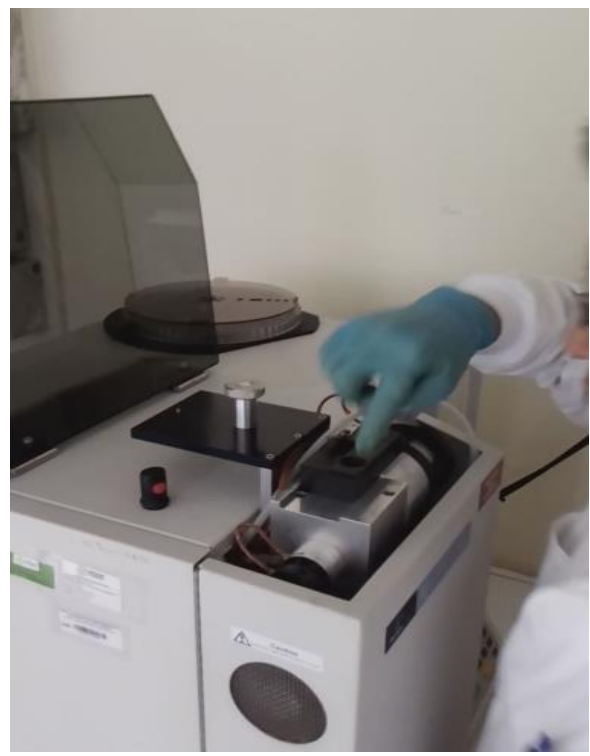


Ilustración 54. Calibración de Dumax
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 55. Verificación de calibración de equipo
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 56. Capsuladora manual
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 57. Capsulas de cobalto para análisis de nitrógeno
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 58. Mechero eléctrico
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 60. Muestras de bacterias para análisis
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 59. Preparación de placas
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 61. Análisis de tinción
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

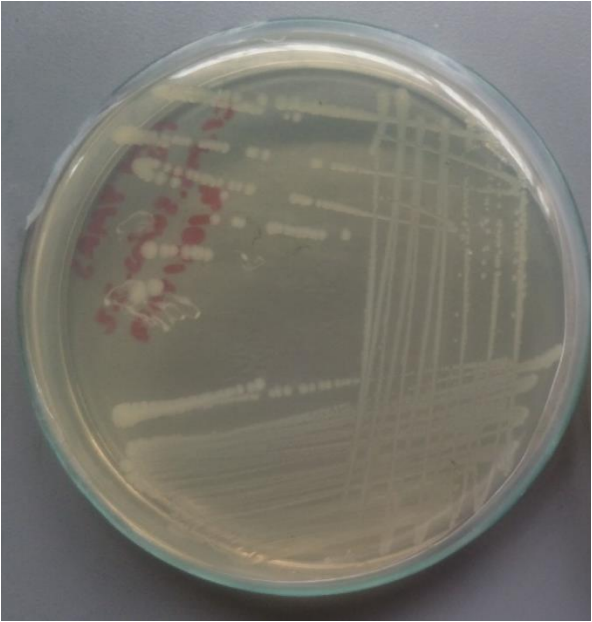


Ilustración 62. Caja petri cultivada.
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

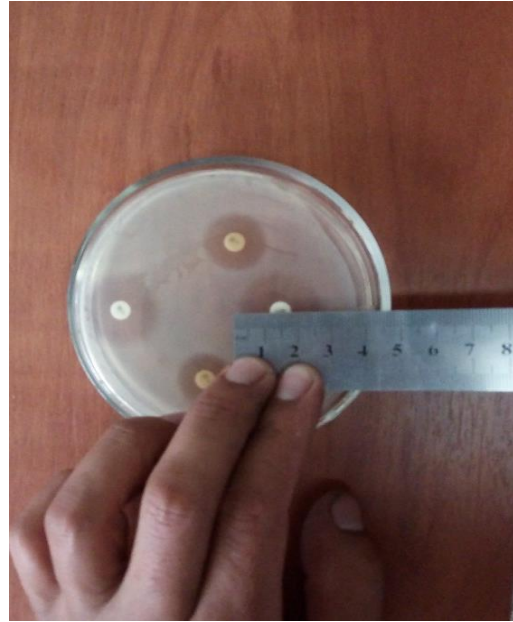


Ilustración 63. Medición de tolerancia a antibióticos
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.

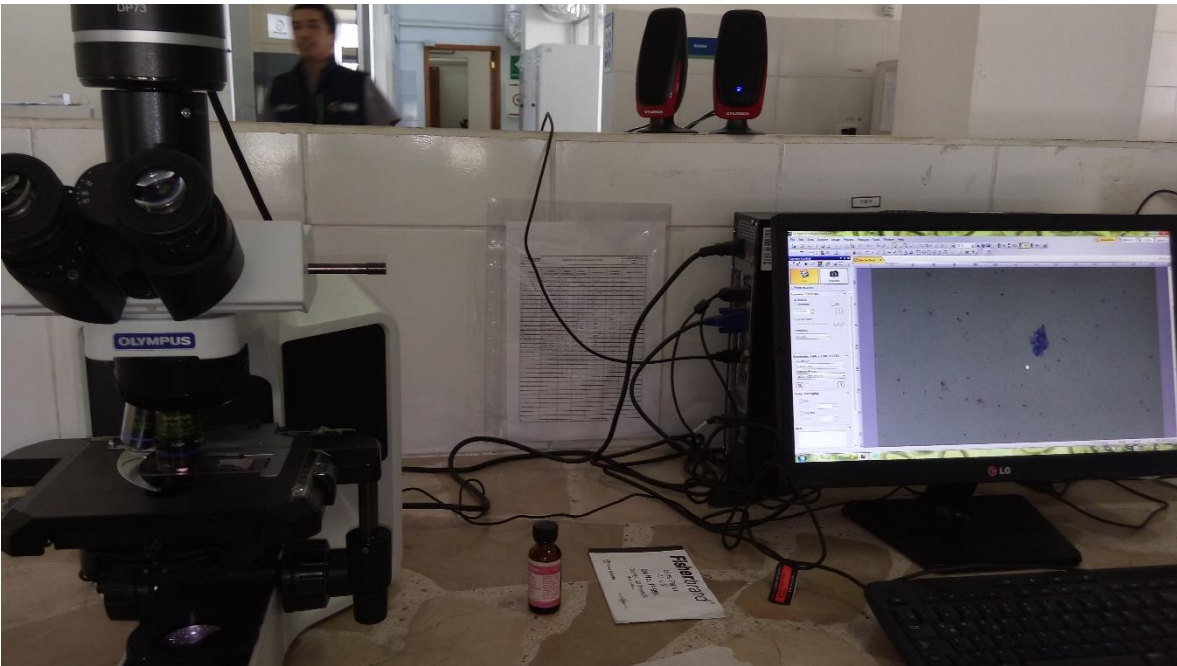


Ilustración 64. Revisión de bacteria
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.



Ilustración 65. Bacterias filamentosas del género *Frankia*.
Fuente: Farinango León Fausto Cristóbal.