



UNIVERSIDAD AUSTRAL DE CHILE

Facultad de Ciencias  
Escuela de Ciencias

PROFESOR PATROCINANTE:  
Dr. Eduardo Valenzuela F.  
Instituto de Microbiología.  
Facultad de Ciencias.

“Efectos del fuego sobre la abundancia y diversidad de las poblaciones bacterianas  
en suelos de un bosque de *Araucaria - Nothofagus*”

Tesis de Grado presentada como  
parte de los requisitos para optar al  
Grado de **Licenciado en Ciencias  
Biológicas.**

CECILIA ANDREA RUIZ ALVAREZ

VALDIVIA-CHILE

2006

*“Con cariño y afecto para mis padres, hermanos y familia”.*

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Proyecto Bilateral Corporación Científica y Tecnológica Chile-Comunidad Flamenca de Bélgica que permitió realizar éste trabajo. Al profesor Dr Eduardo Valenzuela F., quien me acogió y brindó su apoyo durante éste proceso. A mis padres Mónica y Roberto, hermanos Alexis y Tito, y primo Marcos, que me apoyaron, dándome fuerza y ánimo para continuar durante mi carrera y tesis. También a mis amigas Carmen, Claudia, Lesly y Sarita, que me brindaron apoyo, comprensión y su alegría en momentos de dificultad, a Beto que me dio su tiempo, paciencia, compañía y apoyo durante mi carrera y tesis. También agradezco al Oscar que siempre estuvo allí ayudándome en el desarrollo de mi tesis. Me siento feliz de haber logrado mi anhelo, a todos muchas GRACIAS.

**ÍNDICE**

	Pág.
<b>1. RESUMEN</b>	<b>1</b>
<b>1.1. SUMMARY</b>	<b>2</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN</b>	<b>3</b>
<b>2.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO</b>	<b>13</b>
<b>2.2. OBJETIVOS</b>	<b>13</b>
<b>3. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	<b>15</b>
<b>3.1. MATERIALES</b>	<b>15</b>
<b>3.1.1. Biológicos.</b>	<b>15</b>
<b>3.1.2. Reactivos.</b>	<b>15</b>
<b>3.1.3. Equipos.</b>	<b>16</b>
<b>3.1.4. Otros.</b>	<b>16</b>
<b>3.2. MÉTODOS</b>	<b>17</b>
<b>3.2.1. Área de estudio</b>	<b>17</b>
<b>3.2.2. Muestreo del suelo</b>	<b>18</b>
<b>3.2.3. Recuento y Aislamiento de cepas bacterianas.</b>	<b>18</b>
<b>3.2.4. Determinación de grupos funcionales bacterianos.</b>	<b>19</b>
<b>3.2.5. Identificación taxonómica de cepas bacterianas.</b>	<b>21</b>
<b>3.2.6. Análisis estadísticos.</b>	<b>22</b>
<b>4. RESULTADOS.</b>	<b>23</b>
<b>4.1. Recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables.</b>	<b>23</b>
<b>4.2. Determinación de grupos funcionales.</b>	<b>25</b>
<b>4.2.1. Determinación de la población bacteriana proteolítica.</b>	<b>28</b>

4.2.2.	Determinación de la población bacteriana ureolítica.	29
4.2.3.	Determinación de la población bacteriana desnitrificante.	30
4.2.4.	Determinación de la población bacteriana nitrificante.	31
4.2.5.	Determinación de la población bacteriana amonizante.	32
4.2.6.	Determinación de la población bacteriana amilolítica.	33
4.3.	Parámetros climatológicos del área estudiada.	34
4.3.1.	Precipitación.	34
4.3.2.	Temperatura máxima media.	35
4.4.	Relación entre factores climatológicos y poblaciones bacterianas.	35
4.4.1.	Análisis estadístico.	36
4.4.1.1.	Precipitación versus poblaciones bacterianas.	37
4.4.1.2.	Temperatura máxima media versus poblaciones bacterianas.	38
4.5.	Taxonomía.	39
4.5.1.	Distribución, cuali y cuantitativa, de las taxas registradas en el suelo de un bosque de <i>Araucaria-Nothofagus</i> .	39
5.	DISCUSIÓN.	43
5.1.	Recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables. (UFC/gss).	43
5.2.	Determinación de grupos funcionales bacterianos (NMP).	44
5.3.	Relación entre los factores climatológicos y los grupos funcionales bacterianos.	47
5.4.	Taxonomía.	48
6.	CONCLUSIONES.	50
7.	BIBLIOGRAFÍA.	51
8.	ANEXOS.	58

**ÍNDICE DE FIGURAS**

- Figura 1.** Poblaciones Bacterianas psicrófilas heterótrofas viables determinadas en muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm recolectadas en parcela control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) del Parque Nacional Tolhuaca versus las estaciones climáticas del año. 23
- Figura 2.** Poblaciones Bacterianas psicrófilas heterótrofas viables determinadas en muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm, recolectadas en parcela control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) del Parque Nacional Tolhuaca versus la estaciones climáticas del año. 24
- Figura 3.** Población bacteriana Proteolítica de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0 - 20 y 20 - 40 cm, en las estaciones climáticas del año. 26
- Figura 4.** Población bacteriana Ureolítica de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, en las estaciones climáticas del año. 26
- Figura 5.** Población bacteriana Desnitrificante de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0 - 20 y 20 - 40 cm, en las estaciones climáticas del año. 26
- Figura 6.** Población bacteriana Nitrificante de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, en las estaciones climáticas del año. 26

- Figura 7.** Población bacteriana Amonizante de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0 - 20 y 20 - 40 cm, en las estaciones climáticas del año. 27
- Figura 8.** Población bacteriana Amilolítica de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0 – 20 y 20 – 40 cm., en las estaciones climáticas del año. 27
- Figura 9.** Precipitación a través de las estaciones climáticas del año en el Parque Nacional Tolhuaca. 34
- Figura 10.** Temperatura máxima media (°C) versus estaciones climáticas del año en el Parque Nacional Tolhuaca. 35

## CUADROS Y ANEXOS.

		Pág.
<b>Cuadro 1.</b>	Correlación entre los factores climatológicos (precipitación y temperatura máxima media) versus las poblaciones bacterianas (proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas) a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm) del Parque Nacional Tolhuaca.	36
<b>Cuadro 2.</b>	Distribución cuali y cuantitativa, de las taxas registradas en las muestras de suelo de el bosque de <i>Araucaria-Nothofagus</i> del Parque Nacional Tolhuaca.	40
<b>ANEXO 1.</b>		
<b>Cuadro 3.</b>	Recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables (ufc/gss) con desviación estándar.	59
<b>ANEXO 2.</b>		
<b>Cuadro 4.</b>	Poblaciones bacterianas proteolíticas (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca.	60
<b>Cuadro 5.</b>	Poblaciones bacterianas ureolíticas (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca.	60



- Cuadro 6.** Poblaciones bacterianas desnitrificantes (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca. 61
- Cuadro 7.** Poblaciones bacterianas nitrificantes (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca. 61
- Cuadro 8.** Poblaciones bacterianas amonizantes (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca. 62
- Cuadro 9.** Poblaciones bacterianas amilolíticas (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca. 62
- ANEXO 3.**
- Figura 11.** Gráfico de población bacteriana proteolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 63

- Figura 12.** Gráfico de población bacteriana proteolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 63
- Figura 13.** Gráfico de población bacteriana proteolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 64
- Figura 14.** Gráfico de población bacteriana proteolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 64
- Figura 15.** Gráfico de población bacteriana ureolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 65
- Figura 16.** Gráfico de población bacteriana ureolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 65
- Figura 17.** Gráfico de población bacteriana ureolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 66
- Figura 18.** Gráfico de población bacteriana ureolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 66
- Figura 19.** Gráfico de población bacteriana desnitrificante a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 67
- Figura 20.** Gráfico de población bacteriana desnitrificante a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 67

- Figura 21.** Gráfico de población bacteriana desnitrificante a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 68
- Figura 22.** Gráfico de población bacteriana desnitrificante a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 68
- Figura 23.** Gráfico de población bacteriana amonizante a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 69
- Figura 24.** Gráfico población bacteriana amonizante a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 69
- Figura 25.** Gráfico de población bacteriana amonizante a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 70
- Figura 26.** Grafico de población bacteriana amonizante a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 70
- Figura 27.** Gráfico de población bacteriana amilolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 71
- Figura 28.** Gráfico de población bacteriana amilolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA). 71
- Figura 29.** Gráfico de población bacteriana amilolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA). 72

<b>Figura 30.</b>	Gráfico de población bacteriana amilolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).	72
<b>ANEXO 4.</b>		
<b>Cuadro 10.</b>	Población bacteriana proteolítica de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	73
<b>Cuadro 11.</b>	Población bacteriana proteolítica de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	73
<b>Cuadro 12.</b>	Población bacteriana proteolítica de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	74
<b>Cuadro 13.</b>	Población bacteriana proteolítica de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	74
<b>Cuadro 14.</b>	Población bacteriana ureolítica de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	74
<b>Cuadro 15.</b>	Población bacteriana ureolítica de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	75
<b>Cuadro 16.</b>	Población bacteriana ureolítica de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	75
<b>Cuadro 17.</b>	Población bacteriana ureolítica de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	75

invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

<b>Cuadro 18.</b>	Población bacteriana desnitrificantes de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	76
<b>Cuadro 19.</b>	Población bacteriana desnitrificante de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	76
<b>Cuadro 20.</b>	Población bacteriana desnitrificantes de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	76
<b>Cuadro 21.</b>	Población bacteriana desnitrificante de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	77
<b>Cuadro 22.</b>	Población bacteriana amonizante de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	77
<b>Cuadro 23.</b>	Población bacteriana amonizante de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	77
<b>Cuadro 24.</b>	Población bacteriana amonizante de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	78
<b>Cuadro 25.</b>	Población bacteriana amonizante de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	78
<b>Cuadro 26.</b>	Población bacteriana amilolítica de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	78

<b>Cuadro 27.</b>	Población bacteriana amilolítica de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	79
<b>Cuadro 28.</b>	Población bacteriana amilolítica de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	79
<b>Cuadro 29.</b>	Población bacteriana amilolítica de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).	79
<b>ANEXO 5.</b>		
<b>Cuadro 30.</b>	Precipitación mensual (mm de agua caída) registrada en los meses de diciembre (2003) y enero a noviembre (2004), en el Parque Nacional Tolhuaca.	80
<b>ANEXO 6.</b>		
<b>Cuadro 31.</b>	Temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ) mensual máxima y mínima registrada en los meses de diciembre (2003) y enero a noviembre (2004) en el Parque Nacional Tolhuaca.	81

## 1. RESUMEN

Se estudiaron cuali y cuantitativamente las poblaciones bacterianas de muestras de suelo de un bosque de *Araucaria-Nothofagus* afectado por un incendio de origen natural en el Parque Nacional Tolhuaca, provincia de Malleco (38°10`S y 71°40`E a 71°50`O), Chile. Se realizaron muestreos estacionales después de dos años de ocurrido el incendio, recolectándose muestras de suelo de dos profundidades (0-20 y 20-40 cm) en dos parcelas afectadas por el fuego (P1 y P2) y una parcela no afectada (PC). El mayor recuento ( $2937,9 \times 10^3$  UFC/gss) de poblaciones bacterianas psicrófilas heterótrofas viables aisladas de las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm, se determinó en la parcela P1 durante invierno, y a la profundidad 20-40 cm la mayor población bacteriana ( $2424,7 \times 10^3$  UFC/gss) se determinó en la parcela P1 durante primavera. Con relación a los grupos funcionales, las bacterias amonizantes registraron los mayores recuentos poblacionales independientes de las parcelas, muestra de suelo y estación del año, y las menores poblaciones bacterianas correspondieron a las nitrificantes. Los parámetros climatológicos en correlación a los grupos funcionales registraron en el caso de la temperatura la mayor relación positiva para la población bacteriana proteolítica (0,69), en el caso de la precipitación la registró la población bacteriana nitrificante (0,63). En relación a las taxas aisladas, el mayor (9) y menor (4) número de éstas se aislaron de la profundidad 20-40 cm de la parcela P2 durante el muestreo de verano y otoño respectivamente. Las cepas del género *Bacillus* (362) predominaron independientes de la profundidad de la muestra de suelo, parcela y época de muestreo.

## SUMMARY

A bacterial population obtained from soil samples of the *Araucaria-Nothofagus* forest affected by a natural fire in the Tolhuaca National Park, Malleco province (38°10`S and 71°40`E to 71°50`O) Chile, was studied both quantitatively and qualitatively. Seasonal samplings were taken after two years since the fire occurred, collecting soil samples within two depths (0-20 and 20-40 cm) in two plots affected by the fire (P1 and P2) and one plot not affected (PC). The greatest bacterial count of psychrophiles heterotrophic populations was observed in P1 during winter (2937,9 x10<sup>3</sup> CFU/gss) at 0-20 cm depth, while at 20-40 cm the greatest bacterial population was also observed in P1 during spring (2424,7 x10<sup>3</sup> CFU/gss). Regarding the functional groups, the ammonifiers bacteria showed the greatest counts independently of plot, soil sample and season of the year, and the smallest bacterial populations were the nitrificants group. The climatologic parameters in association with the functional groups showed for temperature the greatest positive correlation with proteolytic bacterial population (0, 69). The precipitation showed the highest correlation with nitrificants bacterial population (0, 63). For taxa isolated, the highest (9) and lowest (4) number of these taxa were isolated at depth 20-40 cm in the P2 during the summer and autumn sampling, respectively. Strains belonging to Genera of *Bacillus* (362) were predominant independently of the depth of the soil sample, plots and time of sampling.



## 2. INTRODUCCIÓN

Los bosques nativos del Sur de América han sido un recurso sobreexplotado por el hombre, es por esto que en Chile estas áreas han debido ser protegidas formando parte del patrimonio Nacional, constituyendo los parques y reservas nacionales, que en Chile se encuentran bajo la supervisión y mantención de la Corporación Nacional Forestal (CONAF).

El Parque Nacional Tolhuaca se ubica en los faldeos precordilleranos y cordillera andina de la provincia de Malleco, comuna de Victoria (38°10`S y 71°40`E a 71°50`O) y ocupa una extensión de 6.474 ha. En este parque se encuentra un extenso bosque nativo compuesto principalmente de asociaciones de *Araucaria araucana* y *Nothofagus spp.*, que han sido estudiados por las condiciones adversas en que se ubican (depósitos volcánicos), o en algunos casos por su resistencia al fuego (auto recorte de ramas y gruesa corteza) (Montaldo, 1974; Pauchard, *et al.* 2005).

*Araucaria araucana* (Molina) K. Koch, es una conífera endémica de Chile, se caracteriza por la producción de un fuste monopódico y ramas en verticilos (Lusk y Le-Quesne, 2000). Es de climas templados del centro sur de Chile y Argentina. Pueden alcanzar 50 m de altura y 2,5 m de diámetro, su edad puede llegar a 1.300 años (Montaldo, 1974).

Su distribución es a ambos lados de la cordillera de Los Andes, en Chile *A. araucana* ocupa 261.073 ha de las cuales 130.579 ha se encuentran bajo protección en los Parques Nacionales Conguillío y Nahuelbuta, y las Reservas Nacionales Malalcahuello y Villarrica, predominando con mayor número de hectáreas en el lado oeste, que pertenece a Chile. *A. araucana* crece en distintos tipos de suelo debido a

su amplio rango ecológico, tanto en suelos de La Cordillera de la Costa como de Los Andes, que se han desarrollado a partir de roca metamórfica y granítica; y suelos con ceniza volcánica y escoria, respectivamente.

*A. araucana* se encuentra actualmente protegida en Chile, (desde 1990) y es considerado como árbol sagrado para las comunidades indígenas (Veblen *et al.* 1996).

#### Bosques de *Araucaria araucana* y *Nothofagus spp.*

Los bosques andinos de *A. Araucana* y *Nothofagus spp.*, están particularmente bien situados para estudios de gradientes de disturbios y de medio ambiente a escala fina (Pauchard, *et al.* 2005).

*A. araucana* usualmente se encuentra en asociaciones con *Nothofagus pumilio* (Poepp & Endl.) Krasser, *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Blume, *Nothofagus antarctica* (G.Forst.) Oerst., ocupando aproximadamente un área de 442.000 ha entre Chile y Argentina, correspondiendo 194.000 ha a áreas protegidas. (Lara *et al.* 1999). También se puede encontrar en asociaciones con *Nothofagus alpina* (Poepp. Et Ende.) Oerst. (Pollmann, 2001).

#### Alteraciones que afectan a los bosques de *Araucaria araucana*.

Normalmente la ecología y dinámica de los bosques de *Araucaria* se ven afectados por factores exógenos tales como: (1) volcanismo, hay registros de 1640 que muestran una actividad volcánica, con una alta frecuencia de erupciones en los bosques de *Araucaria*, lo que indica que esta alteración tuvo gran incidencia en la

dinámica de estos bosques. (2) incendios, pueden ser originados por factores naturales como tormentas eléctricas (rayos) o por factores antropogénicos (3) deslizamientos de tierra, pueden ocurrir producto de aluviones, terremotos, o por fatiga del sustrato y (4) tempestades de viento, son ocasionados por rachas de viento de gran velocidad, que pueden ser tornados.

Por su parte *Araucaria-Nothofagus* se encuentran distribuidos en la Cordillera de los Andes, dependiendo de la especie de *Nothofagus* con la cual se encuentra asociada *Araucaria* en un bosque, va a determinar la resistencia al fuego y su distribución geográfica. Por ejemplo *Araucaria-Lenga* (*Nothofagus pumilio*) es el bosque más extenso, se encuentra desde los 1.000 a 1.400 msnm. Las principales alteraciones de estos bosques están dadas por los incendios y volcanismo, teniendo mayor resistencia al fuego en este caso *Araucaria*, que es capaz de sobrevivir a incendios de baja a moderada intensidad. Lo mismo ocurre con el Coihue (*Nothofagus dombeyi*) cuando se encuentra en bosques con *Araucaria*, puesto que al ocurrir alteraciones como incendios, la capacidad del Coihue de volver a colonizar sitios alterados es muy alta, esto se debe por que forma rodales coetáneos. En cambio la *Araucaria*, que es semitolerante logra establecerse con menor cantidad de individuos en estos rodales. (Lara *et al*, 2004).

Incendios forestales.

El fuego como alteración de la ecología del bosque tiene una gran importancia, puesto que es uno de los más perjudiciales, alterando las propiedades físico-químicas del suelo, muerte de la biota e interrumpiendo la comunidad de microorganismos del suelo (Neary *et al.*, 1999; Ok-Sun *et al.*, 2004). El grado en que

las propiedades del suelo son afectadas dependen de los tiempos de permanencia e intensidad del fuego. Diversos estudios se han realizado en suelos que han sido afectados por incendios prescritos, en los cuales el efecto es relativamente moderado en comparación con los incendios no controlados, que tienen efectos mayores (Acea y Carballas, 1996).

Los incendios pueden ser originados por factores biológicos (causados voluntaria o involuntariamente por el hombre) o fenómenos naturales, tales como tormentas eléctricas y actividad volcánica entre otros. Estos a su vez pueden ser de distintas intensidades dependiendo de la magnitud de los incendios y del estado del bosque (húmedo o seco).

Hay distintos tipos de incendios forestales con relación a la superficie y forma de propagación:

a) Incendios subterráneos, consisten en incendios sin llamas y que consumen la materia orgánica del suelo que producen los bosques, son de lenta propagación, provocando la muerte de todas las plantas y árboles que tienen sus raíces ancladas en el sustrato. Son incendios que no producen humo, he ahí su difícil detección, aunque sean de lenta propagación pueden ser muy destructivos.

b) Incendios superficiales, son los que queman desechos en la superficie del suelo y vegetación baja, son de rápida propagación y arrasan con pastos, hierbas, arbusto, el mantillo y también quema los troncos de los árboles, pero va a depender de la humedad del suelo su eventual efectos en las raíces.

c) Incendios de copas, son los incendios de más rápida propagación, cuando los bosques son muy densos, ya que las copas de los árboles tienden a tocarse entre sí, entonces esto facilita su dispersión.

Bacterias de suelo y su rol.

El suelo como hábitat microbiano presenta gran relevancia, pues allí en la superficie de las partículas de suelo es donde ocurre el crecimiento microbiano, generalmente este crecimiento se ve acentuado en las partículas de suelo de la rizosfera, pudiendo haber, a la vez en el suelo distintos microambientes que permitirían la existencia de distintos microorganismos. (Madigan, *et al.* 1998). La existencia de las bacterias en el suelo va a depender de varios factores entre otros, nutrientes, disponibilidad de agua, concentración de oxígeno, pH y temperatura. Si el suelo se encuentra bien aireado habrá gran concentración de oxígeno, lo que permite el crecimiento de bacterias aerobias y anaerobias facultativas. Por el contrario, si el suelo se encuentra saturado con agua, el único oxígeno disponible para las bacterias será el que se encuentra en las moléculas de agua, que prontamente será agotado, provocando condiciones anóxicas, que dará espacio a que crezcan las bacterias anaeróbicas estrictas y anaerobias facultativas. La nutrición es otro factor importante que afecta la actividad microbiana. Esta se lleva a cabo principalmente en la superficie del suelo donde se encuentran abundantes cantidades de nutrientes, y especialmente en la rizosfera y sus alrededores. Es así, como la actividad de los microorganismos del suelo dependen en gran parte del equilibrio en los nutrientes presentes, tanto orgánicos como inorgánicos.

Nutricionalmente las bacterias se pueden dividir en dos grupos: un primer grupo corresponde a las autótrofas son aquellas que utilizan como fuente de carbono el  $\text{CO}_2$  atmosférico. Además pueden ser fotótrofas (obtener su energía de la luz) o quimiótrofos (obtener su energía de compuestos químicos). En este último caso, pueden utilizar compuestos orgánicos o inorgánicos obteniendo la energía a través de la oxidación. (Donoso, 1994).

El segundo grupo en que se han reunido nutricionalmente las bacterias, corresponde a las bacterias heterótrofas, estas obtienen su carbono a partir de los compuestos orgánicos preformados que forman parte de la materia animal y vegetal muerta. Estas bacterias son numerosas en el suelo, son capaces de hidrolizar múltiples sustancias orgánicas y presentan una amplia diversidad en cuanto a sus requerimientos de oxígeno, temperatura y pH del suelo.

En los ecosistemas terrestres existen bacterias heterótrofas que participan en la transformación y mineralización de numerosas sustancias orgánicas que forman parte de los residuos vegetales y restos de animales que se depositan en el suelo o quedan en forma subterránea, entre estas sustancias destacan: los azúcares simples y polisacáridos, celulosa, lípidos, grasas, proteínas, ácidos nucleicos y hemicelulosas (Donoso, 1994). Además entre las bacterias heterótrofas se encuentran algunas desnitrificantes que en condiciones anaeróbicas utilizan los nitratos, reduciéndolo a nitrito, amoníaco y óxido nítrico o  $\text{N}_{2(g)}$  elemental, que es reintegrado a la atmósfera.

Otro factor determinante para el crecimiento de bacterias de suelo es la humedad, donde la máxima densidad bacteriana se encuentra en regiones con alto contenido de humedad. Frecuentemente lo óptimo para la actividad de bacterias aerobias es del 50 a 70% de la máxima capacidad de retención del suelo. Por otra

parte, la inundación del suelo trae una disminución en la abundancia de las bacterias que se desarrollan en presencia de aire (Alexander, 1961).

La influencia de la temperatura, también afecta el crecimiento de las poblaciones bacterianas donde cada microorganismo tiene una temperatura de crecimiento óptimo y a intervalo fuera de el, las bacterias mueren o no crecen. Así, dependiendo de la región geográfica del suelo donde se encuentre pueden dominar bacterias psicrófilas, mesófilas o termófilas (Alexander, 1961). Por su parte las condiciones altamente ácidas o alcalinas, tienden a inhibir el crecimiento del común de las bacterias, puesto que el pH óptimo de la mayoría de las especies tiende a neutro. Por último, la materia orgánica también condiciona el crecimiento de las bacterias ya que probablemente la función más importante de los organismos del suelo es, la descomposición de los residuos orgánicos con la liberación de nutrientes tales como C, N, P, y S, de manera que pueden ser reutilizados por otros organismos del suelo. Se ha estimado que el 70 % de las sustancias orgánicas que retornan a la atmósfera como CO<sub>2</sub> es metabolizado por los microorganismos (Paul y Clark, 1996).

En los suelos forestales el número de bacterias presentes, puede fluctuar entre algunos cientos de miles y varios millones por gramo de suelo (Donoso, 1994), Este número de bacterias va disminuyendo a medida que aumenta la profundidad. Por otra parte, las bacterias cumplen principalmente tres roles ecológicos, que están dados por las distintas interrelaciones que establecen con los distintos microorganismos, plantas y animales del suelo, a saber: saprófitos, parásitos y simbioses. Entre estos roles ecológicos el saprofitismo es uno de los más importantes, pues los microorganismos, entre ellos las bacterias transforman y mineralizan las macromoléculas que constituyen parte de los restos vegetales y

animales, permitiendo así la recircularización de la materia orgánica, la formación de humus y las etapas fundamentales de los ciclos biogeoquímicos (mineralización e inmovilización) (Madigan *et al.* 1998).

Respuestas de las bacterias al fuego.

En primer lugar la respuesta al fuego por parte de las bacterias esta relacionado con la intensidad del fuego y el tipo de incendio. Se ha demostrado en bosques de *Pinus pinaster* un incremento total en el número de microbios después de un mes del incendio forestal (Vázquez *et al.* 1993). Un segundo efecto del fuego, también depende del intervalo de incendios. Un estudio realizado por Hossain *et al.* (1995) demostraron que frecuentes incendios de un bosque de *Eucalyptus pauciflora* (de 2 a 3 veces en un año) provoca pérdidas en la biomasa microbiana. Un estudio realizado por Mabuhay *et al.* (2003) en Japón, sobre la biomasa microbiana y abundancia después de un incendio forestal de un bosque de pino, entregó información de como se recuperan las comunidades microbianas a un mes de ocurrido el incendio, arrojando los siguientes resultados:

- Durante un mes de muestreo, a la primera semana de ocurrido el incendio en Higashiku, Fukuda-cho, no se mostró crecimiento de bacterias Gram (+).
- El crecimiento bacteriano se observó por primera vez en esta área al segundo mes después del fuego.
- Una tendencia creciente en el número de bacterias fue observado en todos los sitios de estudio durante Abril a Julio 2001, pero ocurrió un “peak” en la estación de verano.



Con este estudio se demostró que las bacterias Gram positivas y bacterias Gram negativas, son significativamente afectadas por el fuego.

Efectos de la temperatura sobre las bacterias.

La temperatura que puede alcanzar un incendio va a depender de la densidad y ubicación geográfica del bosque. Un estudio realizado por Swift *et al.* (1993) demostraron que la temperatura de las llamas alcanzaba a 800 °C, y en bosques que presentan humedad en el humus la temperatura alcanzo sólo a los 60 °C. Esta diferencia de temperaturas se explica por la alta capacidad de aislamiento de la humedad del humus o mantillo, pues la materia orgánica es mal conductora de calor y la materia orgánica húmeda, no puede alcanzar temperaturas mayores a 100°C.

En general las bacterias son más resistentes al calor seco que húmedo, pero esto varia dependiendo del tipo de bacteria y el estado en que se encuentre (por ej. estructuras de resistencia). La temperatura letal para bacterias en calor seco corresponde a 210 °C y en calor húmedo 110 °C (Pietikäinen, 1999).

El fuego es una de las muchas formas destructivas que juega un rol fundamental en los ecosistemas. Este destruye las propiedades físico-químicas del suelo y destruye la biota, que incluye a los animales y plantas. Este también destruye las comunidades de microorganismos del suelo (Neary *et al.* 1999). Uno de los factores que afecta el equilibrio de los bosques nativos corresponde a los Incendios forestales, cada año produce más pérdidas en el número de especies de la flora y fauna nativa.

En el año 2002, la Región de la Araucanía producto de incendios forestales, sufrió una pérdida sustancial de superficies de terrenos con distintas coberturas vegetacionales, afectando principalmente a un conjunto de áreas protegidas con 20.107,6 ha dañadas, captando la atención por tratarse de terrenos estratégicos en la conservación de la biodiversidad genética (Corporación Nacional Forestal, 1998). Una de estas áreas afectadas corresponde al Parque Nacional Tolhuaca, donde las áreas destruidas abarcan 4.069,3 ha que equivale al 62,8% de un total de 6.474 ha (Corporación Nacional Forestal, 2002). Del total un 56% afectó a la especie *Araucaria araucana*. (Echeverría y Medel, 2002). El incendio que afectó al Parque fue de origen natural causado por un rayo en el verano del 2002.

A nivel de suelo un indicador de esta catástrofe son los microorganismos. Aunque la importancia de los microorganismos del suelo están bien establecidas y los numerosos incendios forestales ocurren en cualquier parte alrededor del mundo, los efectos del fuego versus las comunidades microbianas no han sido investigados en detalle. Los estudios que se han realizado se han enfocado sólo a los cambios de poblaciones de algunos grandes grupos taxonómicos o grupos funcionales (Sharma, 1981; Acea *et al.* 2003; Ok-Sun, 2004).

Los microorganismos del suelo son importantes y esenciales para la mantención de la sustentabilidad de todo el ecosistema terrestre (Neary *et al.* 1999). Las características físicas, químicas y biológicas del suelo que permiten el crecimiento de plantas, incluyendo estructura de suelo, capacidad de capturar agua y nutrientes, aireación, infiltrar agua y otros, están profundamente comprometidos con la actividad microbiana del suelo (Ok-Sun *et al.* 2004).

En base a los antecedentes expuestos se plantea la siguiente hipótesis de trabajo.

## **2.1. HIPOTESIS DE TRABAJO.**

En un bosque de *Araucaria-Nothofagus* de la IX Región de Chile, por efectos del fuego luego de dos años de ocurrido el incendio forestal existe una disminución cuali y cuantitativa de las comunidades bacterianas quimioorganoheterótrofas.

Con el objeto de someter a prueba la hipótesis, se plantea el siguiente objetivo general y los objetivos específicos.

## **2.2. OBJETIVOS.**

### **Objetivo general.**

-Determinar cuali y cuantitativamente las poblaciones bacterianas que se establecen en el suelo de un bosque de *Araucaria-Nothofagus*, luego de dos años de un incendio de origen natural.

### **Objetivos específicos:**

- Determinar poblaciones bacterianas totales, en una parcela control (PC) y parcelas afectadas por el fuego (P1 y P2) de un bosque de *Araucaria-Nothofagus*.

-Determinar las poblaciones bacterianas proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amilolíticas y amonificantes de PC, P1 y P2 de un bosque de *Araucaria-Nothofagus*.

-Relacionar los factores climatológicos con la diversidad de las comunidades bacterianas de PC, P1 y P2.

-Identificar taxonómicamente las cepas bacterianas obtenidas en cultivos puros desde PC, P1 Y P2.

### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1. MATERIALES.

##### 3.1.1. Biológicos.

Se utilizaron en total 1200 cepas de bacterias aisladas desde el suelo de tres parcelas (una control y dos quemadas por un incendio de origen natural) de un bosque de *Nothofagus-Araucaria* ubicado en el Parque Nacional Tolhuaca, Provincia de Malleco, IX región Chile. Además, se utilizaron las cepas ATCC 25922 de *Escherichia coli* y *Pseudomonas auruginosa*. Las cepas bacterianas estudiadas se mantienen en el cepario del Instituto de Microbiología de la Facultad de Ciencias, Universidad Austral de Chile.

##### 3.1.2. Reactivos.

Los reactivos utilizados en la fase experimental se presentan ordenados alfabéticamente: ácido sulfúrico concentrado ( $H_2SO_4$ ), agar-agar, agar citrato Simmon, agua destilada, alcohol acetona, alcohol de 97°, alcohol etílico 95%, almidón de arroz, asparragina, azul de bromotimol, caldo glucosado, caldo urea, carbonato de calcio, cloruro de Sodio (NaCl) cristal violeta, difenilamina, extracto de carne, extracto de tierra, fenol, fosfato de sodio ( $Na_2HPO_4$ ), fosfato de K secundario, fosfato de sodio, gelatina, glucosa, Ioduro de potasio, nitrato de amonio, nitrato de potasio ( $KNO_3$ ) peptona, peróxido de hidrógeno al 3% ( $H_2O_2$ ), reactivo de Barrit solución A (naftol al 5% en alcohol etílico al 95%), solución B (KOH al 40%), reactivo

de Kovac (50 g de p- dimetilaminobenzaldehido, 750 mL de alcohol amílico o butílico, 250 mL de ácido clorhídrico concentrado), reactivo de Nessler Solución A (agua destilada, Ioduro de mercurio, Ioduro de potasio); Solución B (agua destilada, Potasa pura), reactivo nitrato solución A (ácido sulfanílico, ácido acético 5N), solución B (alfa naftilamina, ácido acético 5N), rojo fenol (1:500), rojo metilo, safranina al 0,25% , Solución salina estándar, solución de oligoelementos, sulfato de amonio, urea, verde de malaquita al 7.6%, Yodo.

### **3.1.3. Equipos.**

Autoclave Orsa; balanza Precisa 2200; cámara de incubación Kotterman GMB type S430; cámara fría Eurofrigo; mezclador magnético Heidolph type mr 1000 (220/240V y 50 Hz 2200 1/min.); microondas Mademsa Memo-900; microscopio óptico Carl Zeiss G/427942, pHmetro Hi 9321 microprocessor pH meter.

### **3.1.4. Otros.**

Aceite de inmersión Carl Zeiss, algodón, asa de siembra, botellas de vidrio de 200 mL, campanas Durham, cocinilla a gas Indugas, embudos, espátula, lápiz marcador, mechero, olla a presión, papel aluminio, papel filtro, parafilms, pinzas, pipetas Pasteur, pipetas volumétricas de 1, 5, 10 mL, placas Petri, probetas de 100, 250, 500 y 1000 mL, rastrillo de siembra, tubos Can, tubos de ensayo, vasos precipitados, varilla de agitación.

## 3.2. MÉTODOS.

### 3.2.1 Área de estudio.

Corresponde a un bosque que presenta condiciones homogéneas de vegetación *Araucaria araucana* y *Nothofagus* spp., se encuentran en la ladera oriente de la cordillera de Los Andes del Parque Nacional Tolhuaca, (38°10`S. y 71°40`E, 71°50`O.) Provincia de Malleco, IX Región de Chile. Este parque fue creado en 1935 y tiene 6.474 ha, se encuentran a cargo de CONAF. El clima presente en el Parque Nacional Tolhuaca, se clasifica como templado lluvioso y se caracteriza por precipitaciones elevadas en invierno y veranos muy secos (Amigo y Ramírez 1998). La temperatura media mensual en invierno es de 7°C y en verano de 19,9°C. El suelo del Parque Nacional Tolhuaca, geológicamente corresponde a formaciones de roca volcánica e intrusiva del terciario (Plioceno) (Zeil 1986). Los suelos típicos de esta área se encuentran formados sobre materiales volcánicos recientes y se le denominan suelos trumaos, que corresponde a suelos Andisoles Staff (1997), y a suelos Andosoles (FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAO, 1990; UNESCO 1990). Por la composición volcánica de estos suelos (como por ejemplo basalto y andesita) presenta una alta fertilidad debido a la porosidad y profundidad. Además de disponer, en estados secos, una gran resistencia a la adsorción de agua, y en estado húmedo tiene una alta capacidad conductiva y almacenamiento de agua (Pollmann, 2001).

Vegetacionalmente se caracteriza por la presencia de bosques caducifolios de *Nothofagus alpina* (Poepp. Et Ende) Oerst., *Nothofagus pumilio* (Poepp & Endl.) Krasser, *Nothofagus dombeyi* (Mirb.) Blume, *Araucaria araucana* (Molina) K. Koch.

El sotobosque es relativamente ralo y está representado por *Chusquea culeou*, Desv., *Gaultheria phyllyreaefolia* (Pers.) Sleumer, *Maitenus disticha*, Hook, F., *Berberis darwinii* Hook, *Desfontaina spinosa* Ruiz et. Pav., entre otras (Corporación Nacional Forestal, 1998).

### **3.2.2. Muestreo del suelo.**

Se realizaron muestreos estacionales (verano, otoño, invierno y primavera del 2004). En cada muestreo y de cada parcela (control y dos quemadas), independientemente se tomaron tres muestras de suelo a la profundidad de 0-20 cm y tres de la profundidad 20 a 40 cm. Luego las tres muestras de suelo de la parcela y profundidad respectiva se mezclaron para obtener una muestra única. Al mismo tiempo del muestreo se realizaron mediciones de la temperatura del suelo mediante data logger instalados en el área de estudio.

### **3.2.3. Recuento y Aislamiento de cepas bacteriana.**

Cada muestra única de suelo se procesó independientemente por el método de las diluciones seriadas. Para ello la muestra única de suelo se tamizó (para eliminar los posibles restos de raíces, hojas, u otros elementos que entorpezcan el proceso de diluciones). Del suelo tamizado se pesaron 10 g y se depositaron en un matraz que contenía 100 mL de agua destilada estéril, la mezcla se agitó hasta que quede totalmente homogénea. Luego se extrajo 1 mL de esta dilución y se depositó en un tubo que contenía 9 mL de agua destilada estéril, el tubo se agitó manualmente hasta la homogenización. A partir de este tubo se extrajo 1 mL y se



depositó en un nuevo tubo que contenía 9 mL de agua destilada estéril. Esta metodología se realizó hasta obtener una dilución  $10^7$ .

De la dilución respectiva se extrajo 0.1 mL y se depositó en placa Petri que contenían agar peptona al 2%, el inóculo fue diseminado mediante un rastrillo de siembra, tras lo cual las placas fueron incubadas a  $23 \pm 2$  °C hasta por 48 horas, todas las diluciones fueron sembradas por triplicado. Luego del período de incubación, se realizó el recuento de las poblaciones bacterianas y por cada tipo de suelo analizado, se rescataron de las placas respectivas 50 cepas bacterianas. Estas cepas fueron sembradas individualmente en tubos que contenían agar peptona al 2%. Luego de 24 horas de incubación los tubos se almacenaron en una cámara fría a 5 °C, hasta realizar la taxonomía de las cepas bacterianas.

El recuento bacteriano se realizó contando las colonias de aquellas placas que contienen entre 30 a 300 colonias de bacterias y luego fue multiplicado por el factor de dilución. Finalmente la población bacteriana del suelo se expresó como unidades formadoras de colonias per gramo de suelo seco (UFC/gss).

#### **3.2.4. Determinación de grupos funcionales bacterianos.**

Para determinar las poblaciones bacterianas proteolíticas, ureolíticas, amilolíticas, desnitrificantes, amonificantes y nitrificantes se utilizaron las mismas diluciones de suelo empleadas para el recuento bacteriano. Cada dilución fue sembrada por triplicado y la respectiva población bacteriana se calculó mediante el método del número más probable (NMP), empleándose para ello la tabla de Mc Crady que aparece en Pochon *et* Tardeaux (1965).

Población bacteriana proteolítica: 1 mL de la dilución respectiva se sembró en tubos que contenían gelatina al 12% como sustrato. Una vez sembrados los tubos se incubaron a  $23 \pm 2$  °C por 7 días. Una prueba positiva se denota por la liquefacción del medio de cultivo.

Población bacteriana ureolítica: 1 mL de la dilución respectiva se sembró en tubos que contenían caldo urea. Sembrados los tubos se incubaron a  $23 \pm 2$  °C por 7 días. Una prueba positiva se denota si el medio se torna a un color rosado.

Población bacteriana amilolítica: 1 mL de la dilución respectiva se sembró en tubos con caldo almidón. Sembrados los tubos se incubaron a  $23 \pm 2$  °C por 10 días. Una vez terminado el período de incubación a cada tubo se le agregan 0,5 mL de lugol. La prueba es positiva si el medio mantiene el color del lugol (amarillento), una reacción negativa se denota por un color azul.

Población bacteriana desnitrificante: 1 mL de la dilución respectiva se sembró en tubos que contenían medio nitrato. Sembrados los tubos se incubaron a  $23 \pm 2$  °C por 10 días. Terminado el período de incubación se depositó 1 mL de la muestra incubada en tubos Can que contienen 50 mg de urea, 0,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc. y 0,5 mL del reactivo difenilamina. La prueba es positiva si no hay cambio de color.

Población bacteriana nitrificante: 1 mL de la dilución respectiva se sembró en tubos que contenían medio nitrato. Sembrados los tubos se incubaron a  $23 \pm 2$  °C por 20 días. Una vez terminado el período de incubación se depositó 1 mL de la muestra incubada en tubos Can que contienen 50 mg de urea, 0,5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> conc y 0,5

mL del reactivo difenilamina. La prueba es positiva si el contenido del tubo se torna azul.

Población bacteriana amonificante: 1 mL de la dilución respectiva se sembró en tubos que contenían un caldo con asparragina como sustrato. Sembrados los tubos se incubaron a  $23 \pm 2$  °C por 20 días. Terminado el período de incubación se deposita 1 mL de la dilución en tubos Can, a los cuales se le agrega 0,3 mL del reactivo de Nessler. Una prueba positiva se denota por un color amarillo-naranja.

### **3.2.5. Identificación taxonómica de cepas bacterianas.**

Para la identificación taxonómica de las cepas bacterianas hasta el rango de género se utilizaron los esquemas propuestos por Holt, *et al.* (1994) que aparecen en el manual de Bergey`s. Entre otras tinciones y pruebas se realizaron las que se indican a continuación.

Tinción de Gram: para determinar la reacción de las bacterias (Gram positivas y Gram negativa), además mediante esta tinción se puede observar la morfología y agrupación de las bacterias.

Tinción de Wirtz: para determinar la forma y ubicación de endosporas bacterianas.

Las pruebas bioquímicas realizadas correspondieron a: Catalasa, Coagulasa, Oxidasa, Indol, Rojo metilo, Voges Proskauer, Citrato, Reducción de Nitratos, Producción de Amoniaco a partir de Urea y Producción de gas Sulfhídrico (Valenzuela, 2004). Prueba hidrólisis de gelatina, Producción de acido de glucosa, motilidad (Holt, *et al.* 1994).

Los protocolos de interpretación de estas pruebas y los medios de cultivos utilizadas se encuentran en Guía de práctico para Microbiología General MICR 105 y 112 (Valenzuela, 2004),

Una vez obtenidos los resultados de las tinciones realizadas y las pruebas bioquímicas, se procedió a la identificación del género al que pertenecen las cepas en estudio, para lo cual se utilizaron las claves diagnósticas que aparecen en el Manual de Bergey`s. (Holt, J *et al.* 1994)

### **3.2.6. Análisis estadísticos.**

Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) una vía con test de Tukey ( $p < 0,05$ ) usado para evaluar la significancia de diferencias estadísticas en poblaciones bacterianas entre parcelas, independientes de las estaciones, y entre estaciones independiente de las parcelas, de dos profundidades de suelo (0-20 y 20-40 cm), en el Parque Nacional Tolhuaca.

La prueba  $r$  de Pearson se realizó para determinar la correlación que existe entre los factores climatológicos (precipitación y temperatura máxima media) y poblaciones bacterianas (proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas), de dos profundidades de suelo (0-20 y 20-40 cm), en el Parque Nacional Tolhuaca. Para ambos análisis se utilizó el programa estadístico STATISTICA 6.0.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables.

En la Figura 1 y 2 respectivamente, se muestran los gráficos de los recuentos de las poblaciones bacterianas psicrófilas heterótrofas viables determinadas a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm) en muestras de suelo de la parcela control (PC) y las dos parcelas afectadas por el fuego (P1 y P2) del Parque Nacional Tolhuaca versus las estaciones climáticas del año.

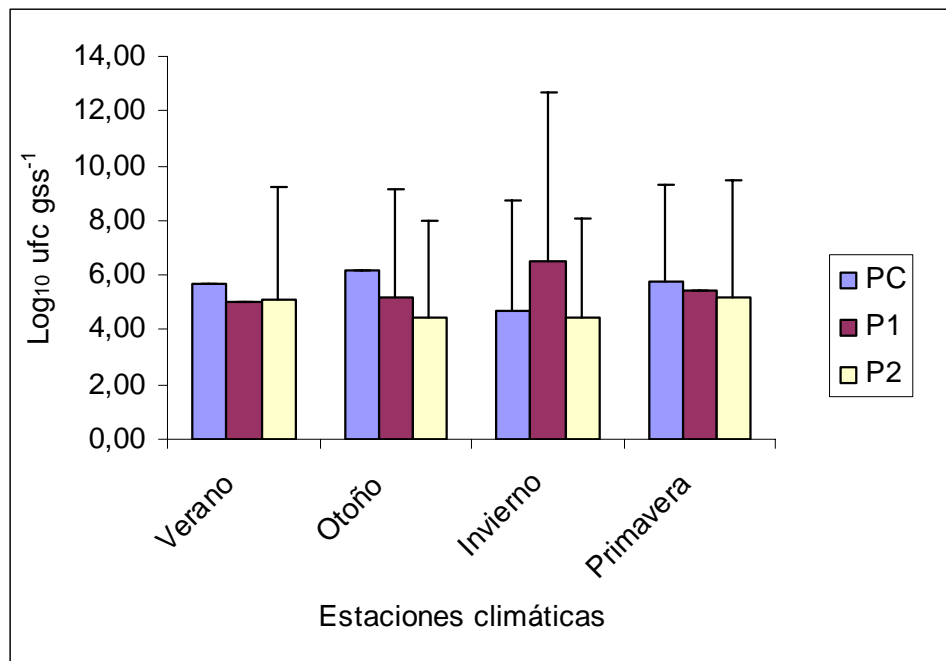


Figura 1. Poblaciones bacterianas psicrófilas heterótrofas viables determinadas en muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm recolectadas en parcela control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) del Parque Nacional Tolhuaca versus las estaciones climáticas del año.

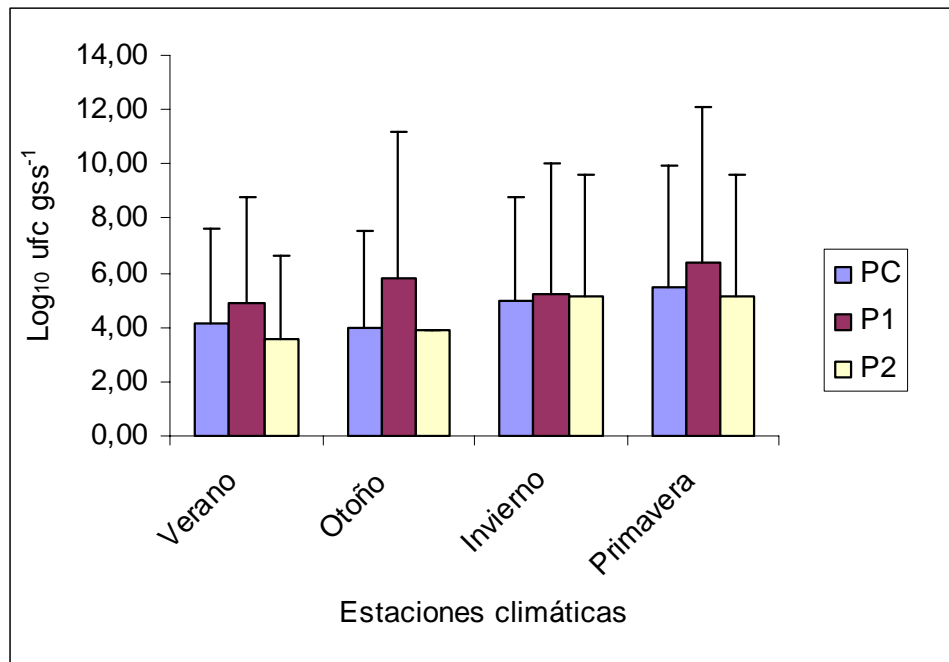


Figura 2. Poblaciones bacterianas psicrófilas heterótrofas viables determinadas en muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm recolectadas en parcela control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) del Parque Nacional Tolhuaca versus la estaciones climáticas del año.

En la Figura 1, se observa que en las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm, la mayor población bacteriana ( $\log 6,47 = 2937,9 \times 10^3$  UFC/gss) se determinó en invierno de la muestra de suelo de la parcela P1 la menor población bacteriana ( $\log 3,87 = 28,6 \times 10^3$  UFC/gss) se determinó en otoño de la muestra de suelo de la parcela afectada por el fuego (P2).

Por otra parte, si se comparan las poblaciones bacterianas de las parcelas P1, P2 y PC, numéricamente estas poblaciones tienden a ser más homogéneas para los muestreos realizados en verano y primavera.

El análisis estadístico ANOVA no reveló diferencias significativas en los recuentos de bacterias psicrófilas heterótrofas viables en las muestras de suelo

entre las parcelas ( $F_{2,9} = 2,4309$ ;  $p = 0,14319$ ), ni entre las estaciones climáticas del año ( $F_{3,8} = 0,05731$ ;  $p = 0,98072$ ).

En la Figura 2, se observa que en las muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm, la mayor población bacteriana ( $\log 6,38 = 2424,7 \times 10^3$  UFC/gss) se determinó en el muestreo de primavera de la muestra de suelo de la parcela afectada por el fuego (P1) y la menor población bacteriana ( $\log 3,58 = 3,8 \times 10^3$  UFC/gss) se determinó para el muestreo de verano, de la muestra de suelo de la parcela afectada por el fuego (P2).

El análisis estadístico ANOVA no reveló diferencias significativas en los recuentos de bacterias psicrófilas heterótrofas viables en las muestras de suelo entre las parcelas ( $F_{2,9} = 2,8523$ ;  $p = 0,10979$ ), ni entre las estaciones climáticas del año ( $F_{3,8} = 2,3972$ ;  $p = 0,14360$ ).

Por otra parte, si se comparan las poblaciones bacterianas de la P1, P2 y PC, numéricamente estas poblaciones tienden a ser más homogéneas para los muestreos realizados en verano e invierno.

#### **4.2. Determinación de grupos funcionales bacterianos.**

En la Figura 3 a la 8, se muestran respectivamente los gráficos de las poblaciones bacterianas proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas, determinadas en muestras de suelo de dos profundidades (0-20 y 20-40 cm) recolectadas en la parcela control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2), luego de dos años de ocurrido un incendio en un bosque de *Araucaria-Nothofagus*, Parque Nacional Tolhuaca.

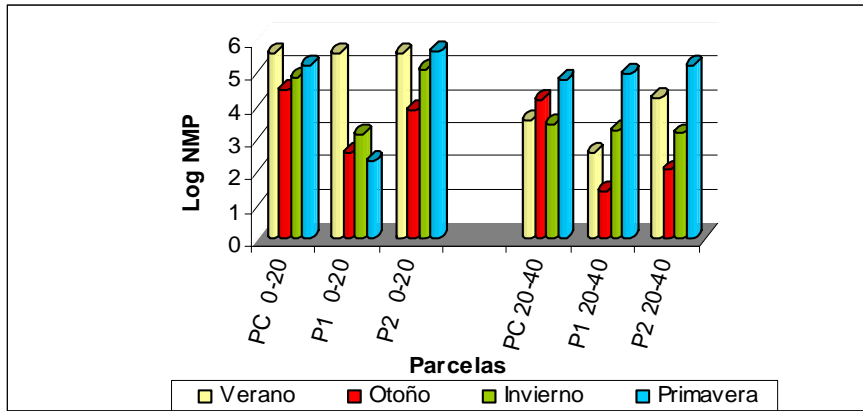


FIGURA 3 Población bacteriana Proteolítica de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, en las estaciones climáticas del año.

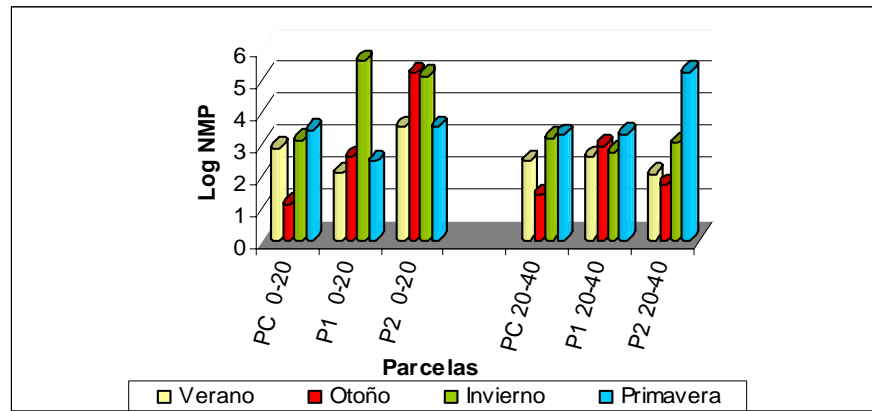


FIGURA 4 Población bacteriana Ureolítica de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, en las estaciones climáticas del año.

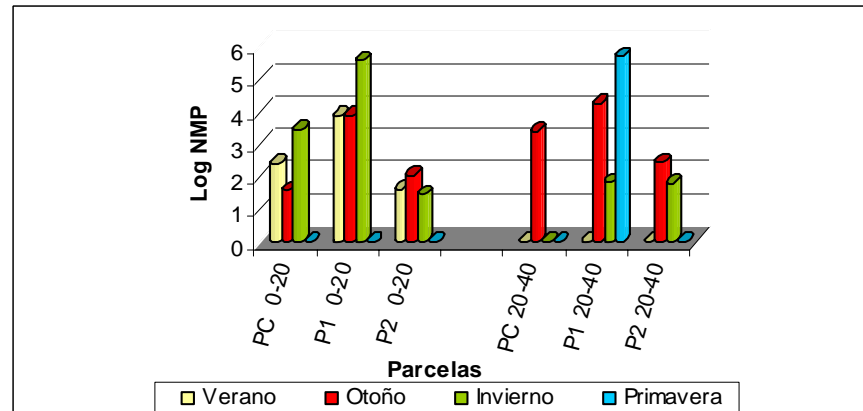


FIGURA 5 Poblaciones bacteriana Desnitrificante de muestras de suelos de PC, P1 y P2 a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, en las estaciones climáticas del año.

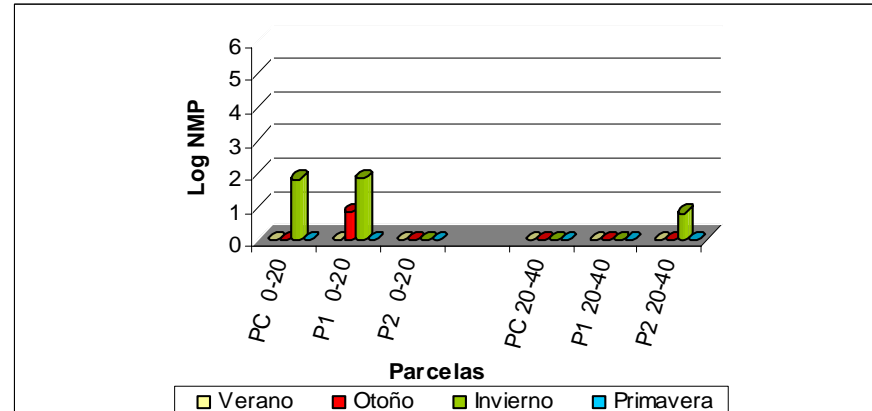


FIGURA 6 Población bacteriana Nitrificante de muestras de suelos de PC, P1 Y P2 a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, en las estaciones climáticas del año.



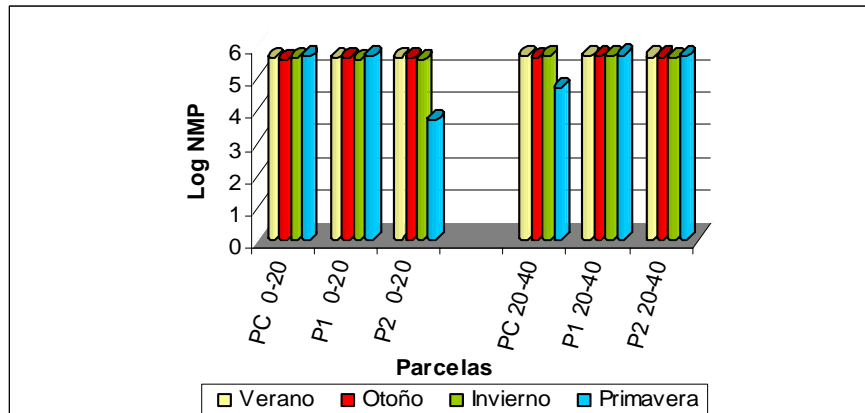


FIGURA 7 Población bacteriana Amonizante de muestras de suelos de PC, P1 Y P2, a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, en las estaciones climáticas del año.

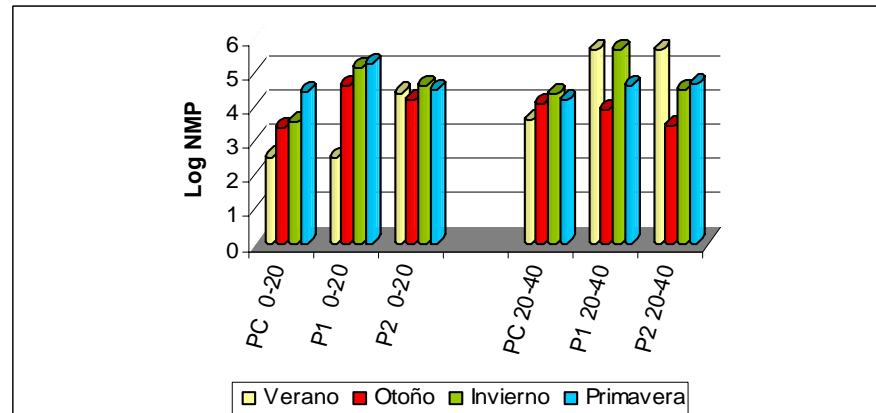


FIGURA 8 Actividad bacteriana Amilolítica de muestras de suelos de PC, P1 Y P2, a las profundidades de 0-20 y 20-40 cm, en las estaciones climáticas del año

#### 4.2.1. Determinación de la población bacteriana proteolítica.

En la Figura 3 se presenta la actividad proteolítica de las poblaciones bacterianas, se aprecia que en las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm, la mayor ( $\log 5,6 = 4407,6 \times 10^2$  bact/gss) y la menor ( $\log 2,3 = 2,2 \times 10^2$  bact/gss) población bacteriana proteolítica se determinó en las parcelas P2 y P1 respectivamente, durante primavera.

Por su parte, para las muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm, la mayor población bacteriana proteolítica ( $\log 5,2 = 1771,0 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P2 durante la primavera y la menor población proteolítica ( $\log 1,5 = 0,3 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P1, durante otoño (Fig. 3).

El análisis de varianza (ANOVA) una vía, con el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) usado para evaluar la significancia de diferencias en poblaciones bacterianas proteolíticas indica que si bien hay diferencias numéricas entre las poblaciones en las distintas parcelas (PC, P1 y P2), estadísticamente no muestran diferencias significativas entre ellas, a las profundidades de 0-20 cm ( $F(2,9) = 0,53912$ ,  $p = 0,60098$ ) y 20-40 cm ( $F(2,9) = 0,27174$ ,  $p = 0,76809$ ). Por otro lado, las poblaciones bacterianas proteolíticas estacionalmente e independiente de las parcelas, presentan diferencias estadísticas significativas ( $F(3,8) = 7,4052$ ,  $p = 0,01073$ ) a la profundidades de 0-20 cm y 20-40 cm ( $F(3,8) = 9,1155$ ,  $p = 0,00584$ ) respectivamente.

#### 4.2.2. Determinación de la población bacteriana ureolítica.

En la Figura 4 se presenta la actividad ureolítica de las poblaciones bacterianas determinadas de muestras de suelos de dos parcelas afectadas por el fuego (P1 y P2) y de una parcela no afectada por el fuego (PC) del bosque de *Araucaria-Nothofagus*.

En la Figura 4, se aprecia que en las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm la mayor población ureolítica ( $\log 5,6 = 3865,7 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P1 durante invierno, y la menor población ureolítica ( $\log 1,1 = 0,1 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela control (PC) durante otoño.

Por su parte, para las muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm, la mayor población bacteriana ureolítica ( $\log 5,2 = 1771,0 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P2 durante la primavera y la menor población ureolítica ( $\log 1,4 = 0,3 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela control (PC), durante otoño (Fig. 4).

El análisis de varianza (ANOVA) una vía, con el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) usado para evaluar la significancia de diferencias en poblaciones bacterianas ureolíticas (los datos fueron transformados a  $\log(NMP+1)$ ) indica que si bien hay diferencias numéricas entre las poblaciones en las distintas parcelas (PC, P1 y P2) estadísticamente no muestran diferencias significativas, a las profundidades de 0-20 cm ( $F(2, 9) = 1,9953$ ,  $p = 0,19176$ ) y 20-40 cm ( $F(2, 9) = 1,18011$ ,  $p = 0,83811$ ). Por otro lado, las poblaciones bacterianas ureolíticas estacionalmente e independiente de las parcelas, no muestran diferencias estadísticas significativas a la profundidad de 0-20 cm ( $F(3, 8) = 1,1871$ ,  $p = 0,37418$ ). Por su parte para la profundidad 20-40 cm se

muestran diferencias estadísticas significativas entre las estaciones climáticas del año, independiente de las parcelas ( $F(3, 8)=4.1374$ ,  $p=0,04806$ ).

#### **4.2.3. Determinación de la población bacteriana desnitrificante.**

En la Figura 5 se presenta la actividad desnitrificante de las poblaciones bacterianas determinadas de muestras de suelos de dos parcelas afectadas por el fuego (P1 y P2) y de una parcela no afectada por el fuego (PC) del bosque de *Araucaria-Nothofagus*.

En la Figura 5, se aprecia que en las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm la mayor ( $\log 5,6 = 3865,8 \times 10^2$  bact/gss) y la menor ( $\log 1,5 = 0,3 \times 10^2$  bact/gss) población bacteriana desnitrificante se determinaron en las parcelas P1 y P2 respectivamente durante invierno. Para las parcelas PC, P1 y P2 durante primavera, no se obtuvieron poblaciones bacterianas desnitrificantes.

Por su parte, para las muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm, la mayor población bacteriana desnitrificante ( $\log 5,7 = 5225,8 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P1 durante la primavera y la menor población desnitrificante ( $\log 1,8 = 0,6 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P2 en invierno. Para las parcelas PC, P1 y P2 durante verano, PC durante invierno, y PC, P2 durante primavera no se obtuvieron poblaciones bacterianas desnitrificantes (Fig. 5).

El análisis de varianza (ANOVA) una vía, con el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) usado para evaluar la significancia de diferencias en poblaciones bacterianas desnitrificantes (los datos fueron transformados a  $\log_{10}(NMP+1)$ ) indica que, si bien hay diferencias numéricas entre las poblaciones en las distintas parcelas (PC, P1 y

P2) estadísticamente no muestran diferencias significativas entre ellas a las profundidades de 0-20cm ( $F(2, 9)=1,5688$ ,  $p=0,26031$ ) y 20-40 cm ( $F(2, 9)=1,4682$ ,  $p=0,28065$ ).

Por otro lado, las poblaciones bacterianas desnitrificantes estacionalmente e independiente de las parcelas, no muestran diferencias estadísticas significativas a las profundidades de 0-20 cm ( $F(3,8)= 3,8889$ ;  $p=0,05528$ ) y 20-40 cm ( $F(3,8)= 1,8489$ ;  $p= 0,21655$ ).

#### **4.2.4. Determinación de la población bacteriana nitrificante.**

En la Figura 6 se presenta la actividad nitrificante de las poblaciones bacterianas determinadas de muestras de suelos de dos parcelas afectadas por el fuego (P1 y P2) y de una parcela no afectada por el fuego (PC) del bosque de *Araucaria-Nothofagus*.

En la Figura 6, se aprecia que en las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm la mayor población nitrificante ( $\log 1,8 = 7,0 \times 10^1$  bact/gss) se determinó en la parcela P1 durante invierno, y la menor población nitrificante ( $\log 0,8 = 0,7 \times 10^1$  bact/gss) se determinó en la parcela P1 durante otoño. No se obtuvieron poblaciones bacterianas nitrificantes en los muestreos de verano y primavera.

Por su parte, para las muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm, la mayor y única población bacteriana nitrificante ( $\log 0,8 = 0,6 \times 10^1$  bact/gss) se determinó en la parcela P2 durante invierno. Para las demás estaciones no se obtuvieron poblaciones bacterianas nitrificantes (Fig. 6).

No fue posible realizar análisis estadísticos, debido a la carencia de poblaciones bacterianas para éste grupo.

#### **4.2.5. Determinación de la población bacteriana amonizante.**

En la Figura 7 se presenta la actividad amonizante de las poblaciones bacterianas determinadas de muestras de suelos de dos parcelas afectadas por el fuego (P1 y P2) y de una parcela no afectada por el fuego (PC) del bosque de *Araucaria-Nothofagus*.

En la Figura 7, se aprecia que en las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm la mayor ( $\log 5,7 = 483,8 \times 10^3$  bact/gss) y la menor ( $\log 3,7 = 4,9 \times 10^3$  bact/gss) población bacteriana amonizante se determinaron en las parcelas P1 y P2 respectivamente, durante primavera.

Por su parte, para las muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm, la mayor ( $\log 5,7 = 522,6 \times 10^2$  bact/gss) y la menor ( $\log 4,7 = 51,5 \times 10^3$  bact/gss) población bacteriana amonizante se determinaron en las parcelas P1 y PC respectivamente, durante primavera (Fig. 7).

El análisis de varianza (ANOVA) una vía, con el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) usado para evaluar la significancia de diferencias en poblaciones bacterianas amonizantes (los datos fueron transformados a  $NMP^2$ ) indica que si bien hay diferencias numéricas entre las poblaciones en las distintas parcelas (PC, P1 y P2) estadísticamente no muestran diferencias significativas entre ellas a las profundidades de 0-20 cm ( $F(2,9) = 1,8242$ ;  $p = 0,21624$ ) y 20-40 cm ( $F(2,9) = 0,96932$ ;  $p = 0,41568$ ). Por otro lado, las poblaciones bacterianas amonizantes

estacionalmente e independiente de las parcelas, no muestran diferencias estadísticas significativas a las profundidades de 0-20 cm ( $F(3,8) = 0,10985$ ;  $p = 0,95193$ ) y 20-40 cm ( $F(3,8) = 0,33139$ ;  $p = 0,80313$ ).

#### 4.2.6. Determinación de la población bacteriana amilolítica.

En la Figura 8 se muestra la actividad amilolítica de las poblaciones bacterianas determinadas de muestras de suelos de dos parcelas afectadas por el fuego (P1 y P2) y de una parcela no afectada por el fuego (PC) del bosque de *Araucaria-Nothofagus*.

En la Figura 8, se aprecia que en las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm la mayor población amilolítica ( $\log 5,3 = 1838,6 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P1 durante primavera, y la menor población amilolítica ( $\log 2,5 = 3,3 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P1 durante verano.

Por su parte, para las muestras de suelo de la profundidad 20-40 cm, la mayor población bacteriana amilolítica ( $\log 5,7 = 4783,8 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P1 durante la invierno y la menor población amilolítica ( $\log 3,4 = 27,6 \times 10^2$  bact/gss) se determinó en la parcela P2, durante otoño (Fig. 8).

El análisis de varianza (ANOVA) una vía, con el test de Tukey ( $p < 0,05$ ) usado para evaluar la significancia de diferencias en poblaciones bacterianas amilolíticas (los datos fueron transformados a  $\log(NMP+1)$ ) indica que si bien hay diferencias numéricas entre las poblaciones en las distintas parcelas (PC, P1 y P2) estadísticamente no muestran diferencias significativas entre ellas a las profundidades de 0-20 ( $F(2, 9) = 1,5499$ ,  $p = 0,26399$ ) y 20-40 cm ( $F(2, 9) = 1,5133$ ,

$p=0,27129$ ). Por otro lado, las poblaciones bacterianas amilolíticas estacionalmente e independiente de las parcelas, no muestran diferencias estadísticas significativas a las profundidades de 0-20 ( $F(3, 8)=2,3010$ ,  $p=0,15392$ ) y 20-40 cm ( $F(3, 8)=1,4827$ ,  $p=0,29104$ ).

### 4.3. Parámetros climatológicos del área estudiada.

#### 4.3.1. Precipitación.

En la Figura 9 se muestra el gráfico de la pluviometría registrada en las estaciones climáticas del año, durante los años 2003-2004 en el Parque Nacional Tolhuaca.

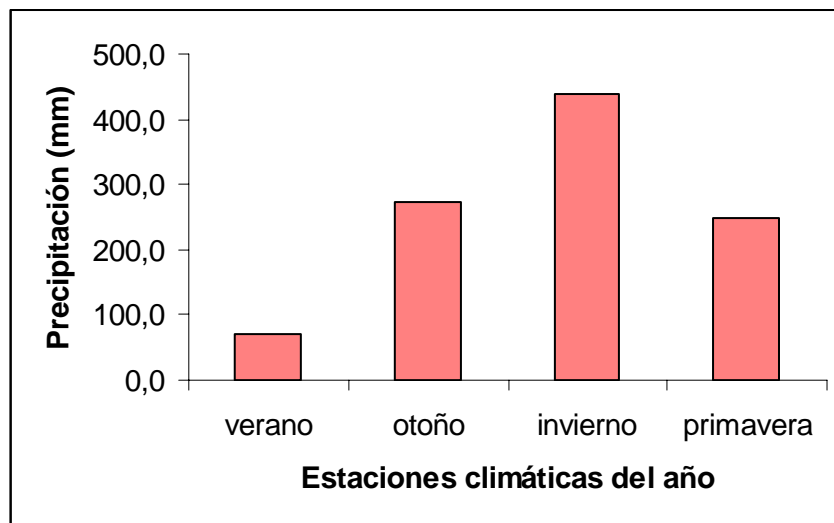


Figura 9. Precipitación a través de las estaciones climáticas del año en el Parque Nacional Tolhuaca.

En la Figura 9, se muestra que la mayor cantidad de agua caída se registró en la estación de invierno (438,9 mm), y la menor cantidad de agua caída se registró



en la estación de verano (70,3 mm). Estos datos fueron aportados por CONAF, X región.

#### 4.3.2. Temperatura máxima media.

En la Figura 10 se muestra la temperatura máxima media registrada en las estaciones climáticas del año, durante los años 2003-2004 en el Parque Nacional Tolhuaca.



Figura 10. Temperatura máxima media (°C) versus las estaciones climáticas del año en el Parque Nacional Tolhuaca.

En La Figura 10 se muestra que la mayor temperatura máxima media se registró en verano (22,1 °C), y la menor temperatura máxima media se registró en invierno (7,5 °C). Estos datos fueron aportados por CONAF, X región.

**4.4. Relación entre los factores climatológicos (precipitación y temperatura máxima media) y las poblaciones bacterianas (proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas).**

#### 4.4.1 Análisis estadístico.

Se utilizó la prueba  $r$  de Pearson para determinar la correlación que existe entre los factores climatológicos (precipitación y temperatura máxima media) y las poblaciones bacterianas (proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas), de las dos profundidades del suelo (0-20 y 20-40 cm) de las muestras de suelo del Parque Nacional Tolhuaca.

En el Cuadro 1, se muestran los valores  $r$  de Pearson para la correlación milímetros de agua caída versus poblaciones bacterianas, y para temperatura máxima media versus poblaciones bacterianas.

Cuadro 1, Correlación entre los factores climatológicos (precipitación y temperatura máxima media) versus las poblaciones bacterianas (proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas) a dos profundidades (0-20 y 20-40 cm) del Parque Nacional Tolhuaca.

Precipitación	A	B	C	D	E	F
Agua caída 0-20 cm	-0,71	0,55	0,42	0,63	-0,08	0,32
Agua caída 20-40 cm	-0,07	-0,02	-0,02	0,42	-0,02	-0,25
Temperatura						
t° max. media 0-20 cm	0,69	-0,56	-0,43	-0,65	0,07	-0,32
t° max. Media 20-40 cm	0,09	0,03	0,03	-0,43	0,00	0,23

A= Proteolítica, B= Ureolítica, C= Desnitrificante, D= Nitrificante, E= Amonizante, F= Amilolítica.

#### 4.4.1.1 Precipitación versus poblaciones bacterianas.

Como se observa en el Cuadro 1 las poblaciones bacterianas proteolíticas versus la precipitación presenta una mayor relación negativa a la profundidad de 0-20 cm (-0,71), que para la profundidad de 20-40 cm (-0,07).

Por otro lado, las poblaciones bacterianas ureolíticas versus la precipitación, muestra una mayor relación positiva para la profundidad de 0-20 cm (0,55), que para la profundidad de 20-40 cm (-0.02).

Por su parte las poblaciones bacterianas desnitrificantes versus la precipitación muestra una mayor relación positiva para la profundidad de 0-20 cm (0,42), que para la profundidad de 20-40 cm (-0.02).

Las poblaciones bacterianas nitrificantes versus la precipitación muestra una mayor relación positiva para la profundidad de 0-20 cm (0,63), que para la profundidad de 20-40 cm (0,42).

Para las poblaciones bacterianas amonizantes versus la precipitación (agua caída) se muestra una mayor relación negativa a la profundidad de 0-20 cm (-0,08) que para la profundidad de 20-40 cm (-0,02). Finalmente, las poblaciones bacterianas amilolíticas versus la precipitación (agua caída) muestra una mayor relación para la profundidad de 0-20 cm (0,32), que para la profundidad de 20-40 cm (-0,25).

La correlación entre las poblaciones bacterianas (proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas) y las precipitaciones, muestran una mayor relación negativa (cercana a -1) para la población bacteriana proteolítica, lo que indica una tendencia a encontrar estas poblaciones en las estaciones con menor precipitación y viceversa. Por su parte la que presenta una

mayor relación positiva (cercana a +1) es la población bacteriana nitrificante, lo que indica una tendencia a encontrar estas poblaciones en las estaciones con mayor precipitación.

Estos datos pueden variar debido a las bajas poblaciones bacterianas nitrificantes determinadas en las muestras de suelos.

#### **4.4.1.2 Temperatura máxima media versus poblaciones bacterianas.**

Como se observa en el Cuadro 1 al relacionar las poblaciones bacterianas proteolíticas versus la temperatura máxima media, se muestra una mayor relación positiva a la profundidad de 0-20 cm (0,69), que para la profundidad de 20-40 cm (0,09).

Por su parte las poblaciones bacterianas ureolíticas versus la temperatura máxima media, muestran una mayor relación para la profundidad de 0-20 cm (-0,56), que para la profundidad de 20-40 cm (0,03). En lo que respecta a las poblaciones bacterianas desnitrificantes versus la temperatura máxima media, muestra una mayor relación para la profundidad de 0-20 cm (-0,43), que para la profundidad de 20-40 cm (0,03). A su vez, las poblaciones bacterianas nitrificantes versus la temperatura máxima media, muestran una mayor relación negativa para la profundidad de 0-20 cm (-0,65), que para la profundidad de 20-40 cm (-0,43).

Por otra parte, las poblaciones bacterianas amonizantes versus la temperatura máxima media indican una mayor relación para la profundidad de 0-20 cm (0,07), que para la profundidad de 20-40 cm (0,00). Finalmente, las poblaciones bacterianas amilolíticas versus la temperatura máxima media, muestra una mayor

relación para la profundidad de 0-20 cm (-0,32), que para la profundidad de 20-40 cm (0,23).

La correlación entre las poblaciones bacterianas (proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas) y las temperaturas máximas medias (°C), indican una mayor relación negativa (cercana a -1) para la población bacteriana nitrificante, lo que indica una tendencia a encontrar estas poblaciones en la estación con menor temperatura máxima media y viceversa.

Por su parte, la que presenta una mayor relación positiva (cercana a +1) es la población bacteriana proteolítica, lo que indica una tendencia a encontrar estas poblaciones en la estación con mayor temperatura máxima media.

#### **4.5. Taxonomía.**

##### **4.5.1. Distribución, cuali y cuantitativa, de las taxas registradas en el suelo de un bosque de *Araucaria-Nothofagus*.**

En el Cuadro 2 se indican los géneros bacterianos determinados para las cepas aisladas desde las tres parcelas (PC, P1 y P2), y a ambas profundidades (0-20 y 20-40 cm) de suelo. Se determinaron las características morfológicas, tintoriales y bioquímicas, para las 1.078 cepas bacterianas analizadas, distribuidas en los cuatro muestreos (verano, otoño, invierno y primavera). Del total de 1.078 cepas analizadas, se identificaron 915 cepas equivalente a un 85% del total, y no se identificaron 162 cepas que equivalen a un 15% del total.

Cuadro 2. Distribución cuali y cuantitativa de las taxas registradas en las muestras de suelo de el bosque de *Araucaria-Nothofagus* del Parque Nacional Tolhuaca.

Taxa	Verano						Otoño					
	PC		P1		P2		PC		P1		P2	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Agrobacterium</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
<i>Arthrobacter</i>	1	1	2	6	3	6	0	0	7	3	1	2
<i>Bacillus</i>	13	15	17	9	16	6	10	4	19	11	30	25
<i>Cellulomonas</i>	10	2	5	5	1	6	10	7	6	4	3	0
<i>Corynebacterium</i>	5	5	5	1	4	12	4	3	1	1	5	0
<i>Curtobacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Enterobacteriaceae	13	1	3	2	0	5	12	19	0	1	0	0
<i>Kurthia</i>	0	1	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0
<i>Micrococcus</i>	0	0	0	0	2	0	0	3	0	2	0	2
<i>Pseudomonas</i>	2	3	8	8	8	3	10	7	6	14	6	8
<i>Staphylococcus</i>	0	0	0	0	0	0	0	4	3	3	0	0
<i>Streptomyces</i>	2	2	2	2	7	1	0	0	0	0	0	0
No identificadas	4	12	7	16	4	4	3	0	1	9	3	11
total cepas	50	42	49	49	44	47	49	47	44	47	48	48
Taxa	Invierno						Primavera					
	PC		P1		P2		PC		P1		P2	
	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B	A	B
<i>Agrobacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	1	0	2	0	6
<i>Arthrobacter</i>	0	2	0	5	0	1	1	2	2	3	5	1
<i>Bacillus</i>	17	10	13	8	24	15	15	14	16	10	23	22
<i>Cellulomonas</i>	1	1	1	0	1	0	6	2	8	8	1	0
<i>Corynebacterium</i>	2	1	0	0	0	3	2	8	1	0	1	1
<i>Curtobacterium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Enterobacteriaceae	7	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>kurthia</i>	0	0	0	0	1	1	0	0	3	2	0	0
<i>Micrococcus</i>	0	0	2	0	1	0	2	1	0	1	0	0
<i>Pseudomonas</i>	5	10	14	11	9	9	5	13	11	4	5	12
<i>Staphylococcus</i>	5	2	1	4	2	1	1	0	2	3	0	0
<i>Streptomyces</i>	0	0	0	4	2	0	0	1	0	0	0	0
No identificadas	9	4	10	10	8	11	11	5	6	8	5	0
total cepas	46	31	42	42	48	41	43	47	50	41	40	43

A= profundidad 0-20 cm. B= profundidad 20-40 cm.

Como se aprecia en el Cuadro 2, las bacterias aisladas desde las muestras de suelo en las estaciones climáticas de verano, otoño, invierno y primavera, independiente de la profundidad y de las parcelas fueron las siguientes taxas *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Corynebacterium*, Enterobacteriaceae, *Micrococcus* y *Pseudomonas*.

En el Cuadro 2, se aprecia que en verano, en las muestras de suelo recolectadas a la profundidad 0-20 cm el mayor número de cepas (17) corresponde al género *Bacillus* aisladas de la parcela P1 y el menor número de cepas (1), corresponde a los géneros *Arthrobacter* aisladas de la parcelas PC, *Cellulomonas* y *Kurthia*, aisladas de la parcela P2. Por su parte, para las muestras de suelo recolectadas a la profundidad de 20-40 cm, el mayor número de cepas (15) corresponde al género *Bacillus* aisladas de la parcela control (PC) y el menor número de cepas (1) corresponde a las taxa *Arthrobacter*, *Kurthia* y Enterobacteriaceae aisladas de PC. *Corynebacterium* aislada de P1 y finalmente, *Streptomyces* y *Agrobacterium* aisladas de P2.

Para otoño (Cuadro 2) se aprecia, que en las muestras de suelo recolectadas a la profundidad 0-20 cm el mayor número de cepas (30) corresponde al género *Bacillus*, aisladas de la parcela P2 y el menor número de cepas (1) corresponde a los géneros *Corynebacterium* aisladas de la parcela P1 y *Arthrobacter* aisladas de la parcela P2. Por su parte, las cepas bacterianas recolectadas desde las muestras de suelo a la profundidad de 20-40 cm, el mayor número de cepas (25) corresponden al género *Bacillus* aisladas de la parcela P2 y el menor número de cepas (1) corresponde *Corynebacterium* y a Enterobacteriaceae asiladas de la parcela P1.

Para invierno (Cuadro 2) se aprecia, que en las muestras de suelo recolectadas a la profundidad 0-20 cm el mayor número de cepas (24) corresponde al género *Bacillus* aisladas de la parcela P2 y el menor número de cepas (1) corresponde a los géneros *Cellulomonas* aisladas de las parcelas PC, P1 y P2. *Kurthia* y *Micrococcus* aisladas de la parcela P2. *Staphylococcus* y Enterobacteriaceae aisladas de la parcela P1. Por su parte, las cepas bacterianas aisladas desde las muestras de suelo a la profundidad de 20-40 cm, el mayor número de cepas (15) corresponde al género *Bacillus* aisladas de la parcela P2 y el menor número de cepas (1) corresponde a los géneros *Corynebacterium*, *Cellulomonas* y Enterobacteriaceae aislados de la parcela (PC) y *Arthrobacter*, *Kurthia* y *Staphylococcus* aislados de la parcela P2.

Para primavera (Cuadro 2) se aprecia, que en las muestras de suelo recolectadas a la profundidad 0-20 cm el mayor número de cepas (23) corresponde al género *Bacillus* aisladas de la parcela P2 y el menor número de cepas (1) corresponde a los géneros *Arthrobacter* y *Staphylococcus* aisladas de PC. *Corynebacterium* y Enterobacteriaceae aisladas de la parcela P1 y *Cellulomonas* y *Corynebacterium* aisladas de P2. Por su parte, las cepas bacterianas recolectadas desde las muestras de suelo de la profundidad de 20-40 cm, el mayor número de cepas (22) corresponden al género *Bacillus* aisladas de la parcela P2, y el menor número de cepas (1) corresponden a los géneros *Agrobacterium*, *Streptomyces* y *Micrococcus* aisladas de PC. *Micrococcus* aisladas de la parcela P1, y *Arthrobacter*, *Corynebacterium* y *Curtobacterium* aisladas de la parcela P2.



## 5. DISCUSIÓN

### 5.1. Recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables. (UFC/gss).

De acuerdo a los resultados señalados en el punto 4.1 del recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables (UFC/gss) a la profundidad de 0-20 cm las mayores y menores poblaciones bacterianas estacionalmente e independiente de las parcelas, se registraron en invierno y otoño respectivamente. Esto no concuerda con Wüthrich *et al.* (2002), quienes determinaron en un estudio realizado en un bosque de Castaño dulce después de ocurrido un incendio, que la biomasa microbiana es afectada por las estaciones climáticas del año, ocurriendo usualmente las mayores cantidades en primavera, pero este estudio concuerda al relacionar las poblaciones microbianas de la profundidad de 20-40 cm, donde se encontraron las mayores poblaciones en primavera.

Por otro lado, en el presente estudio el recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables de la profundidad de 0-20 cm muestra que las mayores y menores poblaciones bacterianas entre las UFC de las parcelas se registraron en P1 y P2 respectivamente, si bien se muestran diferencias numéricas entre las parcelas, estadísticamente no presentan diferencias significativas entre ellas, lo que concuerda con un estudio realizado por Song *et al.* (2004), que indican que el número de bacterias en un suelo quemado se incrementa después de un incendio, pero es restaurado al nivel original luego de tres meses. Otros estudios realizados por Ahlgren y Ahlgren (1965) en bosques de pino, luego de ocurrido un incendio forestal, determinaron que el número y la actividad de los microorganismos disminuye inmediatamente después del incendio, pero las poblaciones bacterianas

aumentan muy abruptamente después de las primeras lluvias seguida luego del incendio.

Al comparar el recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables de la profundidad 0-20 cm con la profundidad 20-40 cm, se observa que las mayores poblaciones bacterianas se encuentran en la superficie del suelo (0-20 cm) y a medida que aumenta la profundidad (20-40 cm) disminuyen las poblaciones, lo que concuerda con Michelsen *et al.* (2004) quienes en un estudio realizado en ecosistemas tropicales (bosques, prados) sometido a un incendio prescrito a diferentes profundidades y en distintas estaciones climáticas del año, determinaron que bacterias y hongos disminuyen en todos los sitios estudiados (GR2: prados poblados con árboles, WO/GR: bosques, prados intermedios poblados por árboles, WO: bosques, FOR: bosques caducos secos) con la profundidad, pero ésta diferencia se encuentra menos pronunciado en GR1 que corresponde a un prado poblado de árboles.

## **5.2. Determinación de grupos funcionales bacterianos (NMP).**

De acuerdo a los resultados señalados en el punto 4.2., las poblaciones bacterianas proteolíticas, ureolíticas, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticas determinadas en muestras de suelo de dos profundidades (0-20 y 20-40 cm) recolectadas en la parcela control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2), luego de dos años de ocurrido un incendio en un bosque de *Araucaria-Nothofagus* del Parque Nacional Tolhuaca, se registraron las poblaciones bacterianas que presentaron mayores valores (NMP) en las estaciones climáticas del año y parcelas

corresponde a las amonizantes, y las que presentaron menores valores corresponde a las poblaciones bacterianas nitrificantes.

El bajo número de bacterias nitrificantes concuerda con el estudio realizado por Prieto-Fernández *et al.* (1993) quienes determinaron que en suelos de bosques, quemados y no quemados es relativamente bajo el número de bacterias nitrificantes, que esta en concordancia con los bajos contenidos de  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$ -N, y con el hecho de que una falta o carencia de nitrificación es normal en muchos bosques de suelos ácidos (Acea y Carballas, 1990). Otro motivo por el cual las poblaciones nitrificantes son bajas puede deberse a lo descrito por Jones y Richards, (1977), quienes por medio de incubaciones experimentales de diferentes suelos de bosques, demostraron que las bacterias nitrificantes crecen más lento que el total de las poblaciones y los microorganismos amonizantes. Por otro lado autores como Binkley, 1986; González-Prieto, 1991; Acea y Carballas, 1996 han sugerido que el uso reducido de C es más eficiente que el uso de  $\text{NH}_4^+$ , los autótrofos nitrificantes son poco competitivos a diferencia de los microorganismos heterótrofos para  $\text{NH}_4^+$  disponible. Otra posibilidad que en presencia de plantas, la competencia entre estas y microorganismos por  $\text{NH}_4^+$ -N es probablemente intensa. De aquí que las poblaciones de bacterias nitrificantes pueden ser bajas y el período de incubación ser insuficiente para la expansión significativa de estas poblaciones nitrificantes (Nardoto y Bustamante, 2003). En suelos de zonas mediterráneas y en Australia, resultados similares son explicados para la baja densidad de bacterias nitrificantes encontradas en esos suelos y no se ha detectado ningún aumento en la nitrificación después del incendio. (Prieto-Fernández *et al.* 1993).

Por su parte las poblaciones bacterianas amonizantes, independiente de las estaciones climáticas del año y profundidad de la muestra de suelo analizada presentan las mayores poblaciones, lo que concuerda con el estudio realizado por Acea y Carballas (1996) quienes enumeraron por medio de la técnica del número más probable las bacterias amonificantes aisladas del suelo a un mes y un año de ocurrido un incendio prescrito, obteniéndose los mayores valores en la parcela afectada por el fuego a un mes de ocurrido el incendio. Transcurrido un año hay una disminución cuantitativa en el suelo quemado y el efecto positivo del fuego casi ha desaparecido. A pesar de ésta disminución, las poblaciones bacterianas amonizantes siguen siendo numerosas, (del orden de  $5,0 \times 10^6$  microbios  $g^{-1}$ suelo) en el suelo quemado.

En relación a las poblaciones bacterianas proteolíticas, un estudio realizado por Tiedemann y Woodard (2002) sobre los efectos de un incendio prescrito en la recuperación de múltiples recursos en los bosques de *Pinus contorta-Abies lasiocarpa* de la zona central de Washington se señalan resultados obtenidos por Husby en los cuales se muestra que después de dos años de ocurrido un incendio prescrito, las bacterias proteolíticas (número/gramo) muestran diferencias estadísticas significativas para la parcela afectada por el fuego con respecto a la parcela control para la capa fermentativa y superior a 10 cm del suelo. Lo que no concuerda con los datos obtenidos en el presente estudio con respecto a las poblaciones bacterianas proteolíticas para las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) las cuales independiente de las estaciones climáticas del año y profundidad, no muestran diferencias estadísticas significativas entre las parcelas. A diferencias de las poblaciones bacterianas proteolíticas las cuales estacionalmente e

independiente de las parcelas, si presentan diferencias estadísticas significativas a la profundidad de 0-20 y 20-40 cm.

En el presente estudio las poblaciones bacterianas amilolíticas, si bien presentan diferencias numéricas entre las parcelas, estadísticamente no presentan diferencias significativas, lo que concuerda con Acea y Carballas (1996) que luego de un año de ocurrido el incendio prescrito el número promedio de productoras-amilasas en el suelo quemado ( $2,2 \times 10^5$  microbios  $g^{-1}$  suelo) no son significativamente diferente a las de el suelo no quemado.

### **5.3. Relación entre los factores climatológicos (precipitación y temperatura máxima media) y los grupos funcionales bacterianos (proteolíticos, ureolíticos, desnitrificantes, nitrificantes, amonizantes y amilolíticos).**

De acuerdo a los resultados señalados en el punto 4.1.1. se correlacionaron los parámetros climatológicos (precipitación, temperatura) en función de los grupos funcionales bacterianos, independiente de la parcela estudiada.

Nardoto y Bustamante (2003) concluyeron que el “peack” de la actividad microbiana ocurre comenzando las lluvias, con un periodo inicial de inmovilización del N, seguido por un periodo de mineralización del N. Lo que concordaría con la relación positiva obtenida para la población bacteriana nitrificante en correlación con la precipitación promedio para los meses de invierno, de las dos profundidades (0-20 y 20-40) no obviando el bajo número de poblaciones bacterianas nitrificante determinadas para los muestreos.

#### 5.4. Taxonomía.

De acuerdo con los resultados señalados en el punto 4.5.1., sobre la distribución cuali y cuantitativa de las taxas registradas en el suelo de un bosque de *Araucaria-Nothofagus*, se determinó que las mayores taxas aisladas de las muestras de suelo, independiente de la estación climática del año, las parcelas y la profundidad de la muestra de suelo, correspondieron a los géneros *Bacillus* (362 cepas) y *Pseudomonas* (191 cepas), lo que concuerda con un estudio realizado por Sorokin e Ivanova (2002) sobre los efectos de fuego en suelos de bosques de pino en Siberia central, los cuales después de un incendio prescrito de alta y moderada intensidad determinaron que los complejos microbianos que prevalecen para bacterias, son los géneros *Pseudomonas* tal como *P. desmolyticum* y *P. licuida*, y *Bacillus* tal como *B. cereus*, *B. mycoides* y *B. micelogenosus* predomina entre los formadores de esporas.

Una disminución de humedad y un aumento de temperatura estimulan el crecimiento de *Streptomyces* en el suelo (Burges y Raw, 1967), lo que concordaría con los resultados señalados en el punto 4.5.1., independiente de las parcelas y la profundidad de la muestra de suelo, el mayor número de cepas aisladas de muestras de suelo para *Streptomyces* se determinó en la estación de verano, donde se registraron las temperaturas más altas, y la menor precipitación.

Las Micrococcaceae, son raramente encontradas en el suelo (Burges y Raw, 1967) lo que concordaría con los bajos números de cepas aisladas de las muestras de suelos en las cuatro estaciones climáticas, independiente de las parcelas y

profundidad de las muestras de suelo. Al igual que el género *Agrobacterium* que sólo se determinó para los muestreos de verano y primavera, no son géneros abundantes en los suelos (Burges y Raw, 1967) y la mayor parte de las cepas de *Agrobacterium* aisladas de verano y primavera se determinaron en las parcelas afectadas por el fuego P1 y P2 en la profundidad de 20-40 cm, lo que podría tener relación con las transformaciones específicas que ellas realizan en el suelo o en sus asociaciones con plantas (Burges y Raw, 1967).

## 6. CONCLUSIONES

El mayor recuento ( $2,9 \times 10^6$  UFC/gss) de poblaciones bacterianas psicrófilas heterótrofas viables aisladas de las muestras de suelo de la profundidad 0-20 cm, se determinó en la parcela P1 durante la estación de invierno y a la profundidad 20-40 cm la mayor población bacteriana ( $5,7 \times 10^5$  UFC/gss) se determinó en la parcela P1 durante la estación de otoño.

Las bacterias amonizantes registraron los mayores recuentos poblacionales independientes de las parcelas, muestra de suelo y estación del año. Y las menores poblaciones bacterianas correspondieron a las nitrificantes.

Al correlacionar los parámetros climatológicos con los grupos funcionales bacterianos, en el caso de la temperatura se registró la mayor relación positiva (0,69) con la población bacteriana proteolítica de la profundidad 0-20 cm. En el caso de la precipitación la mayor relación positiva se registró con la población bacteriana nitrificante (0,63) de la profundidad de 0-20 cm.

El mayor (9) y menor (4) número de taxas se aislaron de la profundidad 20-40 cm de la parcela P2 durante el muestreo de verano y otoño respectivamente. Las cepas del género *Bacillus* predominaron independientes de la profundidad de la muestra de suelo, parcela y época de muestreo.

De acuerdo a lo expuesto anteriormente la Hipótesis se rechaza.



## 7. BIBLIOGRAFÍA

ACEA, M. y CARBALLAS, T. (1990). Principal components analysis of the soil microbial population of humid zone of Galicia (Spain). . Soil Biology Biochemical. 22: 749-759.

ACEA, M. y CARBALLAS, T. (1996). Changes in physiological groups microorganisms in soil following wildfire. FEMS Microbiology Ecology, 20: 33-39.

ACEA, M., PRIETO-FERNANDEZ, y DIZ-CID, N. (2003). Cyanobacterial inoculation of heated soils: effect on microorganisms of C and N cycles and on chemical composition in soil surface. Soil Biology Biochemical, 35: 513-524.

AHLGREN, I. y AHLGREN, C. (1965). Effects of prescribed burning on soil microorganisms in a Minnesota Jack Pine forest. Ecology, 46: 304-310.

ALEXANDER, M. (1961). Introduction to soil microbiology. Jhon Wiley y Sons, INC. New York, 470 p.

AMIGO, J. y RAMÍREZ, C. (1998). A bioclimatic classification of Chile: woodland communities in the temperate zone, Plant Ecology 136: 9-26.

BINKLEY, D. (1986). Forest Nutrition Management, Wiley-Interscience, New York. 289 p.

BURGES, A. y RAW, F. (1967). Soil Biology. Academia Press. London and New York. 532 p.

CORPORACIÓN NACIONAL FORESTAL (CONAF) (1998). Experiencia silvicultural del bosque nativo de Chile. Recopilación de antecedentes para 57 especies arbóreas y evaluación de prácticas silviculturales.- Salesianos S.A. Santiago de Chile: 420 p.

CORPORACIÓN NACIONAL FORESTAL (CONAF) (2002). Antecedentes sobre impacto de incendios forestales en la IX región. Documento de la Visita a Zona Afectada por Incendios, Cap. IV: Principales áreas silvestres protegidas y zonas aledañas afectadas en temporada 2001-2002, IX Región. CONAF Temuco, Chile, 1-13 p.

DONOSO, C. (1994). Ecología forestal; El bosque y su medio ambiente. Editorial Universitaria. Santiago de Chile 369 p.

ECHEVERRÍA, C. y MEDEL, G. (2002). The facts about the araucaria forests. Artículo. Instituto de Silvicultura de la Universidad Austral, Valdivia, Chile. 1p.  
<http://www.rainforestconcern.org/auracaria.pdf>

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS. FAO, UNESCO (1990): Soil map of the world. –FAO Soil Bulletin 60.

GONZALEZ-PRIETO, S., CARBALLAS, M. Y CARBALLAS, T. (1991). Mineralization of a nitrogen-bearing organic substrate model "k". IS N-glycine in two acid soils. . Soil Biology Biochemical. 23: 53-63.

HOLT J., KRIEG N., SNEATH P., STALEY J. y WILLIAMS S. (1994). Determinative Bacteriology. 4<sup>a</sup> edition Williams & Wilkins. Baltimore, Maryland, USA. 787 p.

HOSSAIN, A., RAISON, R. y KHANNA, P. (1995). Effects of fertilizer application and fire regime on soil microbial biomass carbon and nitrogen mineralization in an Australian subalpine eucalypt forest. Biology and Fertility of Soils 19: 246-252.

JONES, J. y RICHARDS, B. (1977). Effect of reforestation on turnover of "N-labelled" nitrate and ammonium in relation to changes in soil microflora. Soil Biology Biochemical. 9: 383-392.

LARA, A., RUTHERFORD, P., MONTORY, C., BRAN, D., PEREZ, A., CLAYTON, S., AYESA, J., BARRIOS, D., GROSS, M. y IGLESIAS, G. (1999). Vegetación de la Eco-región de los bosques valdivianos. Informe Final. Proyecto binacional Chile-Argentina. UACH - INTA - APN - FVSA.

LARA, A., GONZÁLEZ, M., CORTÉS, M., GALLO, L., PREMOLINI, A. y NEWTON A.C. (2004) Variación en *Araucaria araucana* (Molina) K.Koch (Araucaria o Pehuen). Variación intraespecífica en especies arbóreas de los bosques templados de Chile y Argentina. Editorial Universitaria, Santiago Chile.

LUSK, C. y LE-QUESNE, C. (2000) Los verticilos de juveniles de *Araucaria araucana* (Molina) Koch: ¿son formados anualmente?. Revista Chilena Historia Natural. 73: .497-501.

MABUHAY, J., NAKAGOSHI, N. y HORIKOSHI, T. (2003). Microbial biomass and abundance after forest fire in pine forests in Japan, Ecological Research, 18: 431-441.

MADIGAN, M., MARTINKO, J. y PRKER, J. (1998). Biología de los microorganismos. Ediciones Omega, S.A. Casanova, 220. Barcelona: 1064 p.

MICHELSSEN, A., ANDERSSON, M., JENSEN, M., KJØLLER, A. y GASHEW, M. (2004). Carbon stocks, soil respiration and microbial biomass in fire-prone tropical grassland, woodland and forest ecosystems. Soil Biology Biochemical, 36: 1707–1717.

MONTALDO, P. (1974). La bio-ecología de *Araucaria Araucana* (Mol) Koch. Instituto Forestal Latino-Americano 46-48:3-55.

NEARY, D., KLOPATEK, C., DEBANO, L. y FFOLLIOTT, P. (1999). Fire effects on belowground sustainability: a review and synthesis. Forest Ecology and Management, 122: 51-71.

NARDOTO, G. y BUSTAMANTE, M. (2003). Effects of fire on soil nitrogen dynamics and microbial biomass in savannas of Central Brazil. Pesq. Agropec. Bras., 8: 955-962.

OK-SUN K., JAE-JUN Y., DONG-HUN L., TAE-SEOK A. y HONG-GYU, S. (2004) Monitoring of Bacterial Community in a Coniferous Forest Soil After a Wildfire. *The Journal of Microbiology*, 42: 278-284.

PAUCHARD, A., UGARTE, E., FINCKH, M. y ALABACK, P. (2005). *Subalpine Nothofagus* and *Araucaria* forests across an environmental and disturbance gradient in South Central Chile: a floristic approach.

(<http://www2.udec.cl/~pauchard/cong.html>) 20 de agosto 2005.

PAUL, E. y CLARK, F. (1996). *Soil microbiology and biochemistry*. San Diego: Academic Press. 340 p.

PIETIKÄINEN, J. (1999). *Soil microbes in boreal forest humus after fire*. Academic dissertation in forest soil science. Faculty of Agriculture and Forestry. University of Helsinki. Vantaa, Finland. 52 p.

POCHON, J. y TARDIEUX, P. (1965). *Técnicas de análisis de microbiología del suelo*. Editorial T.E.I. (Técnica e Investigación) Burgos, España. 117 p.

POLLMANN, W. 2001. Caracterización florística y posición sintaxonómica de los bosques caducifolios de *Nothofagus alpina* (Poepp. et Endl) Oerst. en centro sur de Chile. *Phytocoenologia*, 31: 353-400.

PRIETO-FERNANDEZ, A., VILLAR, M., CARBALLAS, M. y CARBALLAS, T. (1993). Short term effects of a wildfire on the nitrogen status and its mineralization kinetics in an Atlantic forest soil. *Soil Biology Biochemical*, 25: 1657-1664.

RAMIREZ, C. (1978). Estudio florístico y vegetacional del Parque Nacional Tolhuaca. Santiago: Nacional de Historia Natural (Chile), Publicación ocasional. 24: 3-23.

SHARMA, G. (1981). Effect of fire on soil microorganisms in a Meghalaya pine forest. *Folia Microbial*, 26: 321-327.

SHCLEGEL, H. (1997). *Microbiología general*. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. 654 p.

SONG, H., KIM, O., YOO, J., JEON, S., HONG, S., LEE, D. y AHN, T. (2004). Monitoring of soil bacterial community and some inoculated bacteria after prescribed fire in Microcosm. *The Journal of Microbiology*, 42: 285-291.

SOROKIN, N. e IVANOVA, G. (2002). Effects of fires of varying intensity on soil microbial complexes in central Siberian Scot pine stands. V.N. Sukachev Institute of Forest, Siberian Br., Russian Academy of Sciences, Krasnoyarsk, Russia. *Electronic journal*. <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2002/103e>, 1219-1227.

SWIFT, L., ELLIOTT, K., OTTMAR, R. y VIHANEK, R.E. (1993). Site preparation burning to improve southern Appalachian pine-hardwood stands: fire characteristics and soil erosion, moisture, and temperature. *Can. J. For. Res.*, 23: 2242-2254.

THIENEL, R. (2004): Insectos que se desarrollan en conos de *Araucaria araucana* en la Reserva Nacional Malalcahuello (IX Región). Tesis de grado Ingeniería Forestal, Valdivia, Chile.

TIEDEMANN, A. y WOODARD, P. (2002). Multiresource Effects of a Stand-Replacement Prescribed Fire in the *Pinus contorta*-*Abies lasiocarpa* Vegetation Zone of Central Washington. Gen. Tech. Rep. PNW-GTR-535. Portland, OR: U.S. Department of Agriculture, Forest Service, Pacific Northwest Research Station. 26 p.

VALENZUELA, E. (2004). Guía de práctico para Microbiología General MICR 105 y 112. Instituto de Microbiología, Universidad Austral de Chile. 44 p.

VAZQUEZ, F., ACEA, M. y CARBALLAS, T. (1993). Soil microbial populations after wildfire. FEMS Microbiology Ecology, 13: 93-104.

VEBLEN, T., KITZBERGER, B., BURNS, y REBERTUS A. (1996) Perturbaciones y dinámica de regeneración en bosques andinos del sur de Chile y Argentina. In: Armesto JJ, C Villagrán & MTK Arroyo (eds) Ecología de los bosques nativos de Chile: 169-198. Editorial Universitaria Santiago, Chile.

WÜTHRICH, C., SCHAUB, D., WEBER, M., MARXER, P. y CONEDERA, M. (2002). Soil respiration and soil microbial biomass after fire in a sweet chestnut forest in southern Switzerland. Catena. 48: 201-215.

ZEIL, W. (1986): Sudamérica. Geologie der Erde. Vol. 1. Enke. Stuttgart: 160 p.

**ANEXOS**



## ANEXO 1.

**Cuadro 3.** Recuento de bacterias psicrófilas heterótrofas viables (UFC/gss) con desviación estándar.

Parcela/ profundidad	Verano		Otoño		Invierno		Primavera	
	UFC/gss	Desviación estándar	UFC/gss	desviación estándar	UFC/gss	desviación estándar	UFC/gss	desviación estándar
PC 0-20 cm	511,9 x10 <sup>3</sup>	0	1510,5 x10 <sup>3</sup>	0	52,1 x10 <sup>3</sup>	10.846	556,2 x10 <sup>3</sup>	3.993
P1 0-20 cm	108,3 x10 <sup>3</sup>	0	143,1 x10 <sup>3</sup>	9.915	2937,9 x10 <sup>3</sup>	1.530.771	290,3 x10 <sup>3</sup>	0
P2 0-20 cm	127,9 x10 <sup>3</sup>	12.067	28,6 x10 <sup>3</sup>	3.444	30,5 x10 <sup>3</sup>	4.071	141,9 x10 <sup>3</sup>	21.193
PC 20-40 cm	14,0 x10 <sup>3</sup>	3.158	9,4 x10 <sup>3</sup>	3.631	94,4 x10 <sup>3</sup>	7.027	286,1 x10 <sup>3</sup>	29.111
P1 20-40 cm	84,5 x10 <sup>3</sup>	6.572	573,9 x10 <sup>3</sup>	270.559	178,5 x10 <sup>3</sup>	57.448	2424,7 x10 <sup>3</sup>	532.104
P2 20-40 cm	3,8 x10 <sup>3</sup>	1.160	7,3 x10 <sup>3</sup>	0	144,9 x10 <sup>3</sup>	27.905	132,3 x10 <sup>3</sup>	33.140

PC= Parcela control

P1= Parcela uno, afectada por el fuego.

P2= Parcela dos, afectada por el fuego

UFC/gss= Unidades formadoras de colonias.

## ANEXO 2.

**Cuadro 4.** Poblaciones bacterianas proteolíticas (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca.

Parcela/ profundidad	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
PC 0-20 cm	4266,2 x 10 <sup>2</sup>	302,1 x 10 <sup>2</sup>	781,5 x 10 <sup>2</sup>	1770,0 x 10 <sup>2</sup>
P1 0-20 cm	4166,6 x 10 <sup>2</sup>	3,9 x 10 <sup>2</sup>	14,6 x 10 <sup>2</sup>	2,2 x 10 <sup>2</sup>
P2 0-20 cm	4266,2 x 10 <sup>2</sup>	74,4 x 10 <sup>2</sup>	1339,7 x 10 <sup>2</sup>	4407,6 x 10 <sup>2</sup>
PC 20-40 cm	39,3 x 10 <sup>2</sup>	162,5 x 10 <sup>2</sup>	29,8 x 10 <sup>2</sup>	617,5 x 10 <sup>2</sup>
P1 20-40 cm	4,1 x 10 <sup>2</sup>	0,3 x 10 <sup>2</sup>	18,1 x 10 <sup>2</sup>	940,6 x 10 <sup>2</sup>
P2 20-40 cm	172,1 x 10 <sup>2</sup>	1,2 x 10 <sup>2</sup>	15,3 x 10 <sup>2</sup>	1771,0 x 10 <sup>2</sup>

**Cuadro 5.** Poblaciones bacterianas ureolíticas (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca.

Parcela/ profundidad	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
PC 0-20 cm	7,7 x 10 <sup>2</sup>	0,1 x 10 <sup>2</sup>	13,0 x 10 <sup>2</sup>	27,9 x 10 <sup>2</sup>
P1 0-20 cm	1,3 x 10 <sup>2</sup>	3,9 x 10 <sup>2</sup>	3865,7 x 10 <sup>2</sup>	2,9 x 10 <sup>2</sup>
P2 0-20 cm	34,1 x 10 <sup>2</sup>	1571,8 x 10 <sup>2</sup>	1339,7 x 10 <sup>2</sup>	34,6 x 10 <sup>2</sup>
PC 20-40 cm	3,0 x 10 <sup>2</sup>	0,3 x 10 <sup>2</sup>	14,9 x 10 <sup>2</sup>	19,5 x 10 <sup>2</sup>
P1 20-40 cm	4,1 x 10 <sup>2</sup>	8,6 x 10 <sup>2</sup>	5,7 x 10 <sup>2</sup>	19,8 x 10 <sup>2</sup>
P2 20-40 cm	1,2 x 10 <sup>2</sup>	0,6 x 10 <sup>2</sup>	10,4 x 10 <sup>2</sup>	1771,0 x 10 <sup>2</sup>

**Cuadro 6.** Poblaciones bacterianas desnitrificantes (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca.

Parcela/ profundidad	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
PC 0-20 cm	$2,6 \times 10^2$	$0,4 \times 10^2$	$27,8 \times 10^2$	0
P1 0-20 cm	$75,0 \times 10^2$	$77,3 \times 10^2$	$3865,8 \times 10^2$	0
P2 0-20 cm	$0,4 \times 10^2$	$1,2 \times 10^2$	$0,3 \times 10^2$	0
PC 20-40 cm	0	$25,7 \times 10^2$	0	0
P1 20-40 cm	0	$181,7 \times 10^2$	$0,7 \times 10^2$	$5225,8 \times 10^2$
P2 20-40 cm	0	$2,8 \times 10^2$	$0,6 \times 10^2$	0

**Cuadro 7.** Poblaciones bacterianas nitrificantes (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca.

Parcela/ profundidad	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
PC 0-20 cm	0	0	$6,9 \times 10^1$	0
P1 0-20 cm	0	$0,7 \times 10^1$	$7,0 \times 10^1$	0
P2 0-20 cm	0	0	0	0
PC 20-40 cm	0	0	0	0
P1 20-40 cm	0	0	0	0
P2 20-40 cm	0	0	$0,6 \times 10^1$	0

**Cuadro 8.** Poblaciones bacterianas amonizantes (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca.

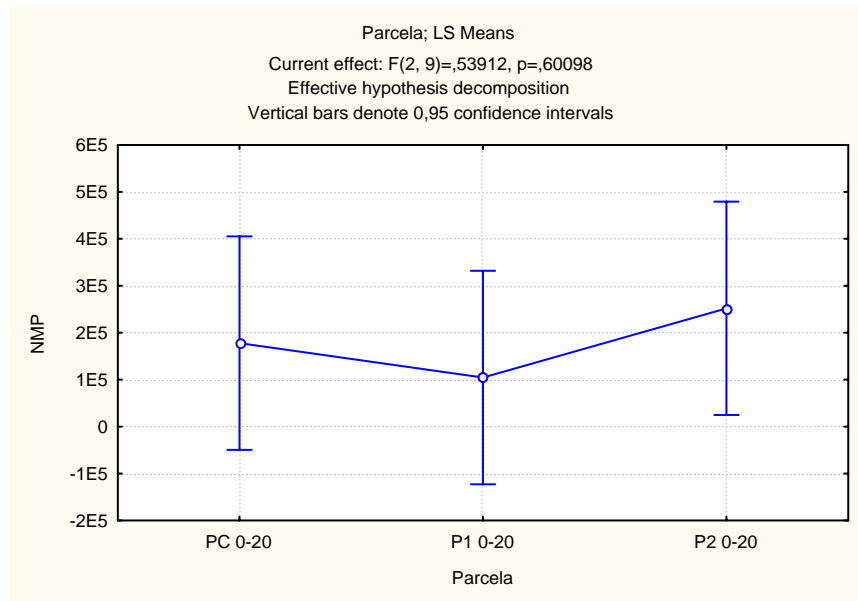
Parcela/ profundidad	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
PC 0-20 cm	426,6 x 10 <sup>3</sup>	377,6 x 10 <sup>3</sup>	434,2 x 10 <sup>3</sup>	465,8 x 10 <sup>3</sup>
P1 0-20 cm	416,6 x 10 <sup>3</sup>	429,3 x 10 <sup>3</sup>	386,6 x 10 <sup>3</sup>	483,8 x 10 <sup>3</sup>
P2 0-20 cm	426,6 x 10 <sup>3</sup>	413,6 x 10 <sup>3</sup>	352,6 x 10 <sup>3</sup>	4,9 x 10 <sup>3</sup>
PC 20-40 cm	492,1 x 10 <sup>3</sup>	427,9 x 10 <sup>3</sup>	496,9 x 10 <sup>3</sup>	51,5 x 10 <sup>3</sup>
P1 20-40 cm	464,7 x 10 <sup>3</sup>	478,3 x 10 <sup>3</sup>	478,3 x 10 <sup>3</sup>	522,6 x 10 <sup>3</sup>
P2 20-40 cm	452,9 x 10 <sup>3</sup>	459,3 x 10 <sup>3</sup>	402,8 x 10 <sup>3</sup>	466,1 x 10 <sup>3</sup>

**Cuadro 9.** Poblaciones bacterianas amilolíticas (NMP/gss), determinadas de muestras de suelo de las parcelas control (PC) y afectadas por el fuego (P1 y P2) a dos profundidades (0-20 y 0-40 cm) en las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) del Parque Nacional Tolhuaca.

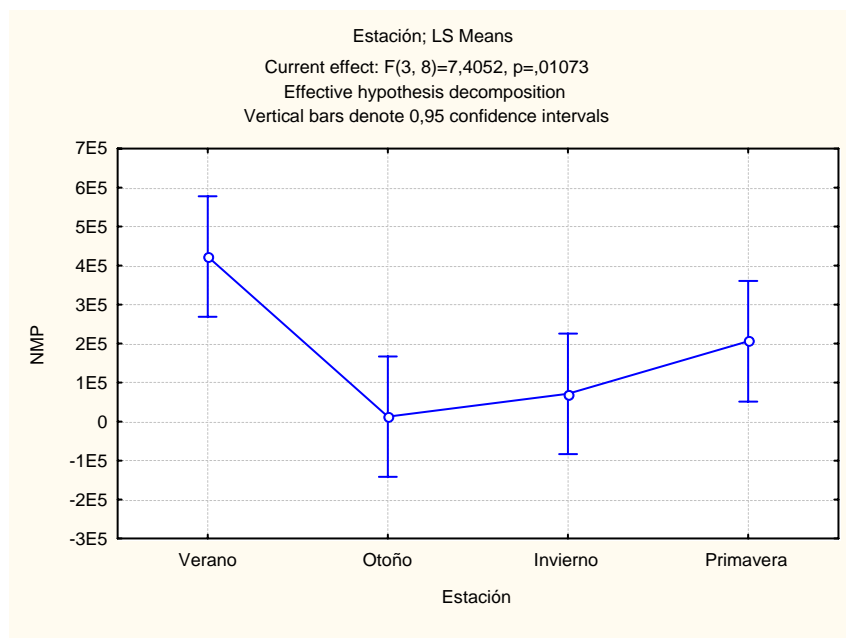
Parcela/ profundidad	Verano	Otoño	Invierno	Primavera
PC 0-20 cm	3,4 x 10 <sup>2</sup>	24,1 x 10 <sup>2</sup>	34,7 x 10 <sup>2</sup>	279,5 x 10 <sup>2</sup>
P1 0-20 cm	3,3 x 10 <sup>2</sup>	429,3 x 10 <sup>2</sup>	1469,0 x 10 <sup>2</sup>	1838,6 x 10 <sup>2</sup>
P2 0-20 cm	256,0 x 10 <sup>2</sup>	157,2 x 10 <sup>2</sup>	423,1 x 10 <sup>2</sup>	324,0 x 10 <sup>2</sup>
PC 20-40 cm	39,4 x 10 <sup>2</sup>	128,4 x 10 <sup>2</sup>	228,6 x 10 <sup>2</sup>	154,4 x 10 <sup>2</sup>
P1 20-40 cm	4646,8 x 10 <sup>2</sup>	86,0 x 10 <sup>2</sup>	4783,8 x 10 <sup>2</sup>	418,1 x 10 <sup>2</sup>
P2 20-40 cm	4529,0 x 10 <sup>2</sup>	27,6 x 10 <sup>2</sup>	322,2 x 10 <sup>2</sup>	466,1 x 10 <sup>2</sup>

### ANEXO 3.

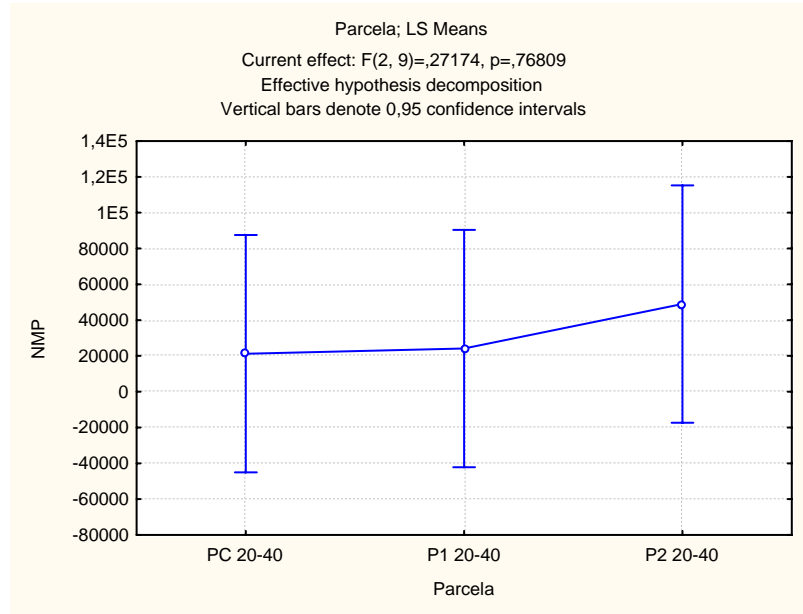
Gráficos análisis de varianza ANOVA.



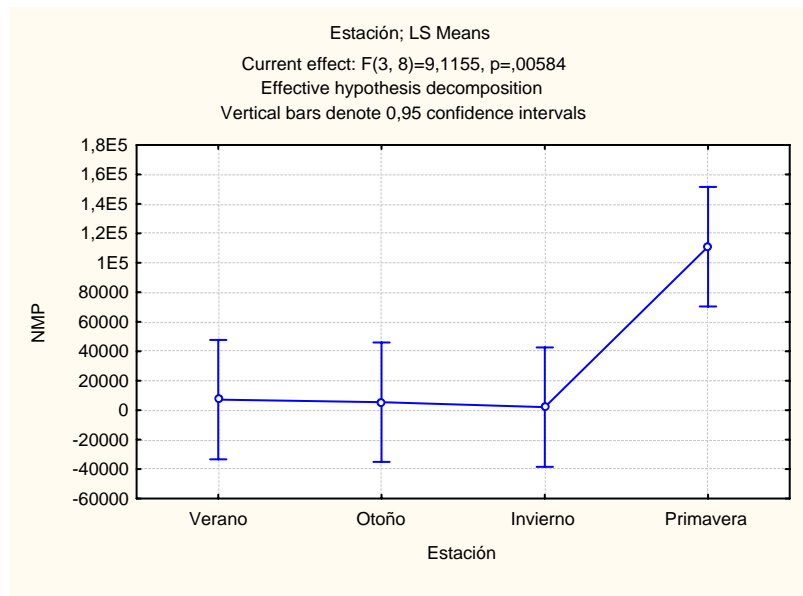
**Figura 11.** Gráfico de población bacteriana proteolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).



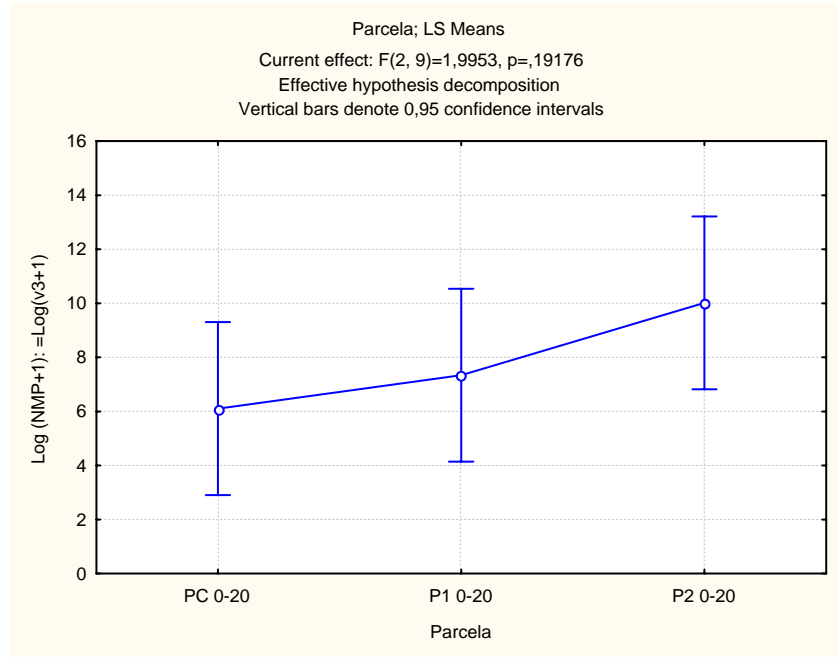
**Figura 12.** Gráfico de población bacteriana proteolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).



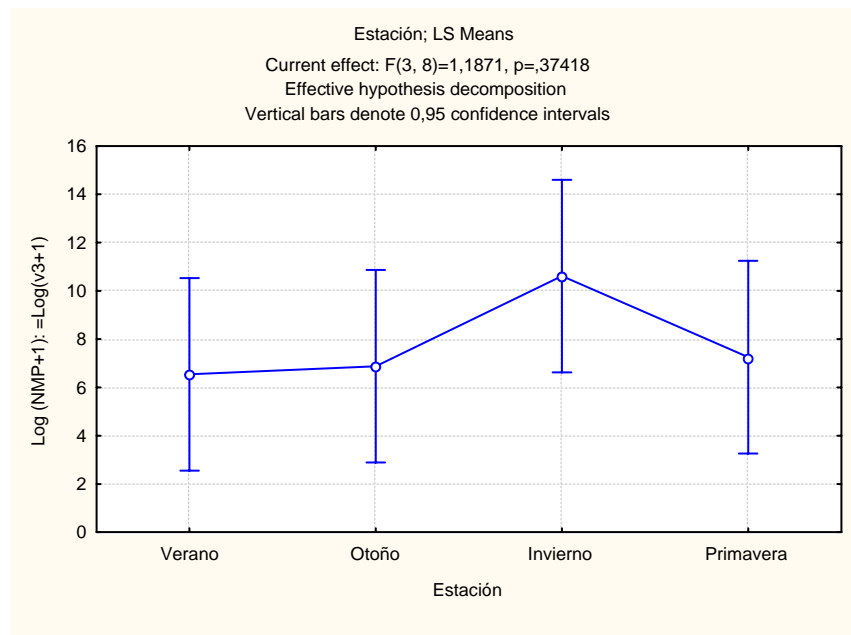
**Figura 13.** Gráfico de población bacteriana proteolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2(ANOVA).



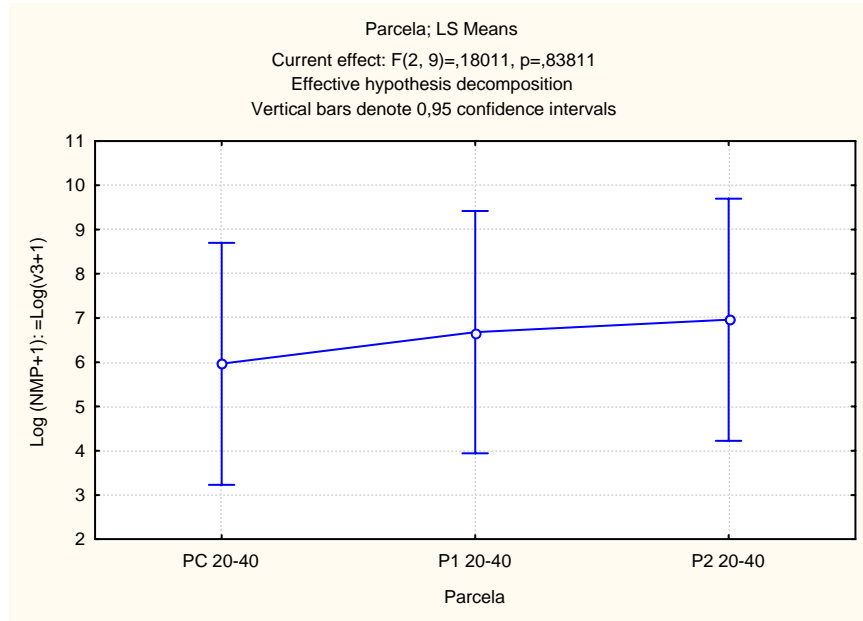
**Figura 14.** Gráfico de población bacteriana proteolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).



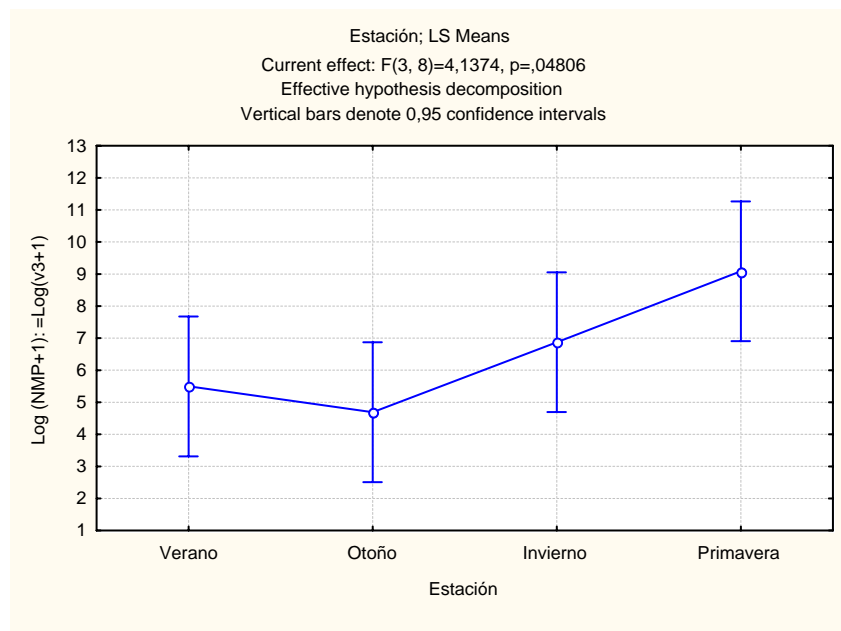
**Figura 15.** Gráfico de población bacteriana ureolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).



**Figura 16,** Gráfico de población bacteriana ureolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).

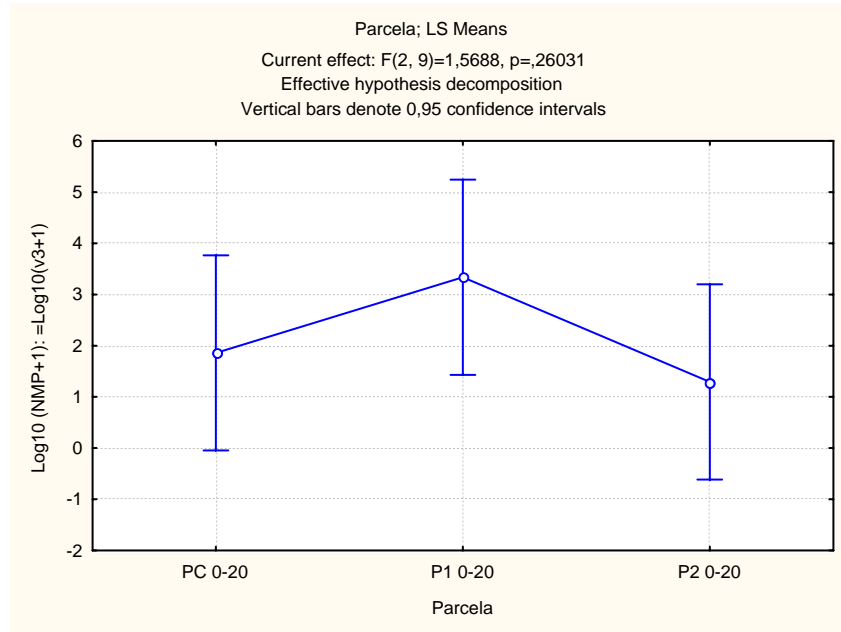


**Figura 17.** Gráfico de población bacteriana ureolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).

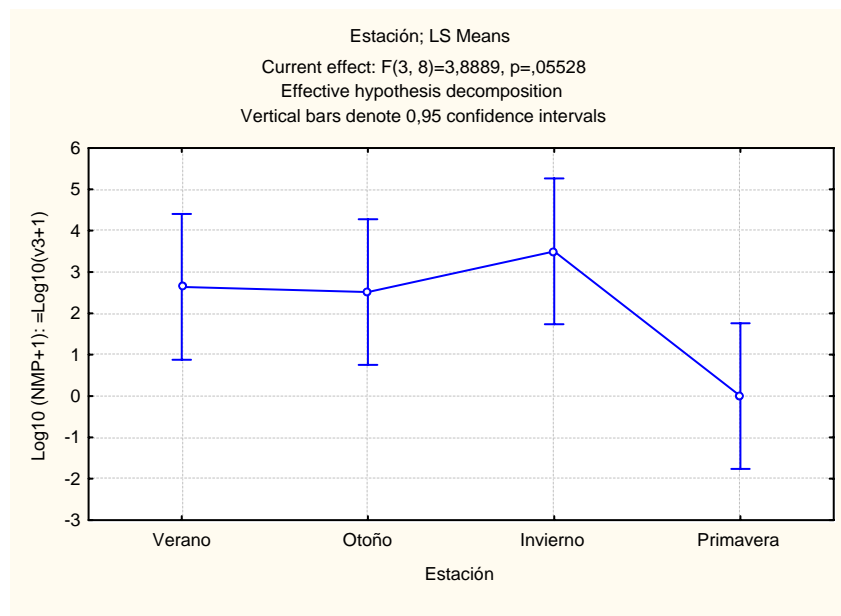


**Figura 18.** Gráfico de población bacteriana ureolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).

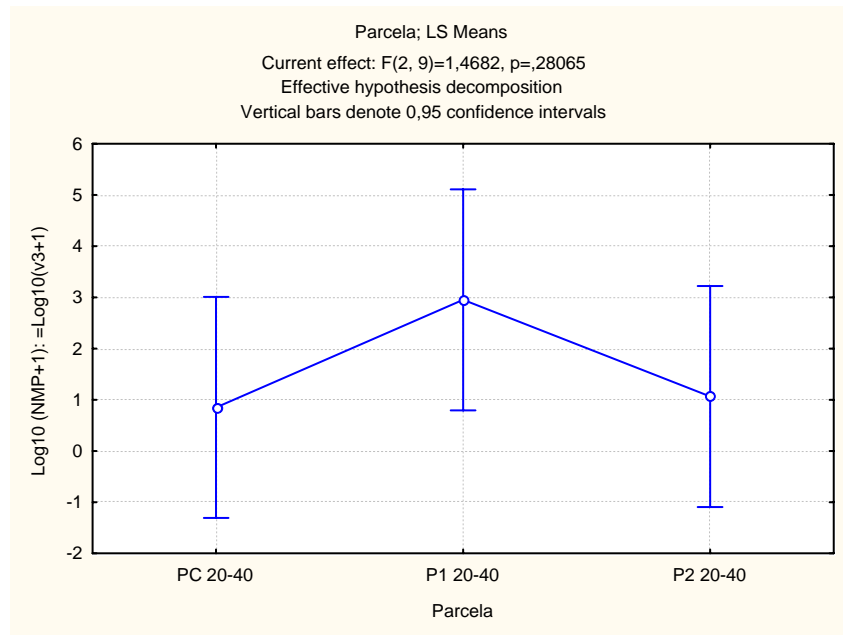




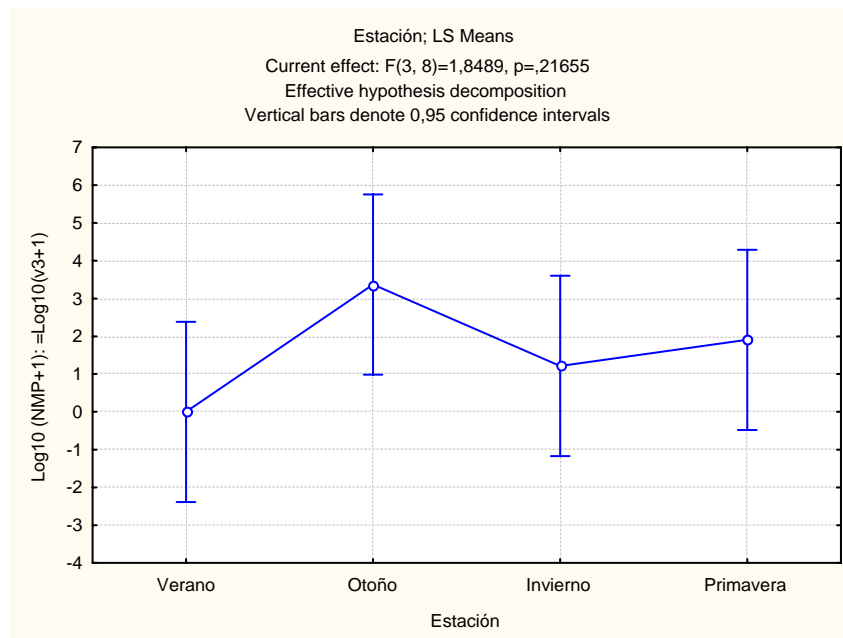
**Figura 19.** Gráfico de población bacteriana desnitrificante a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).



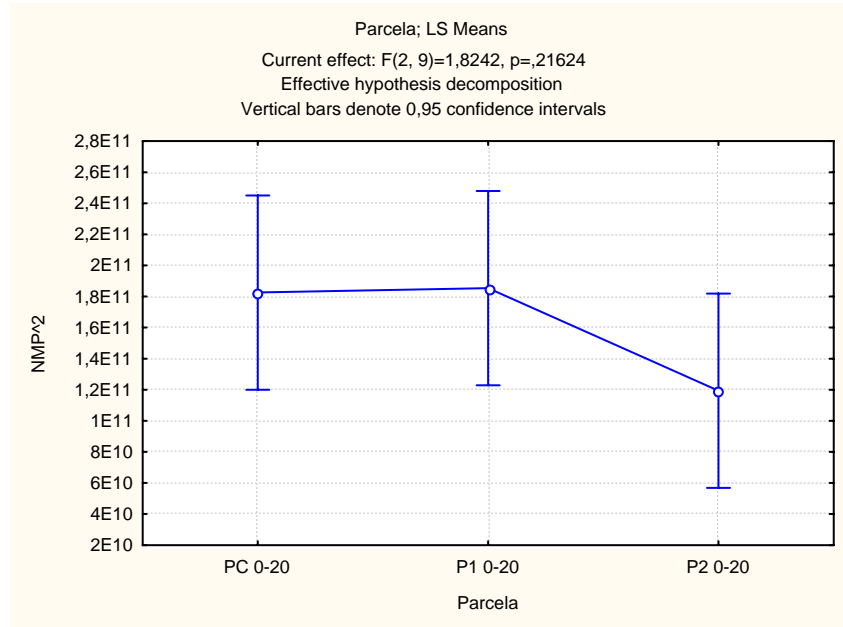
**Figura 20.** Gráfico de población bacteriana desnitrificante a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).



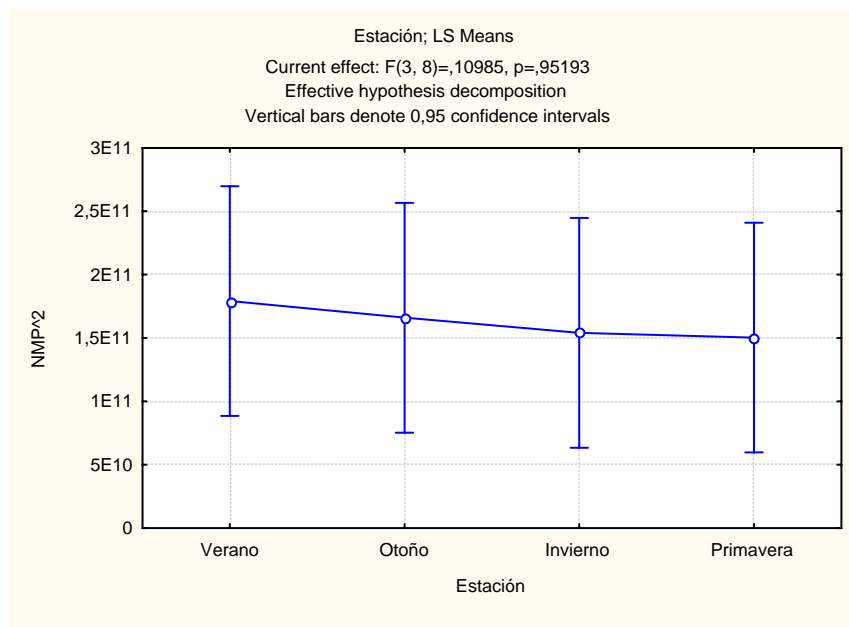
**Figura 21.** Gráfico de población bacteriana desnitrificante a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).



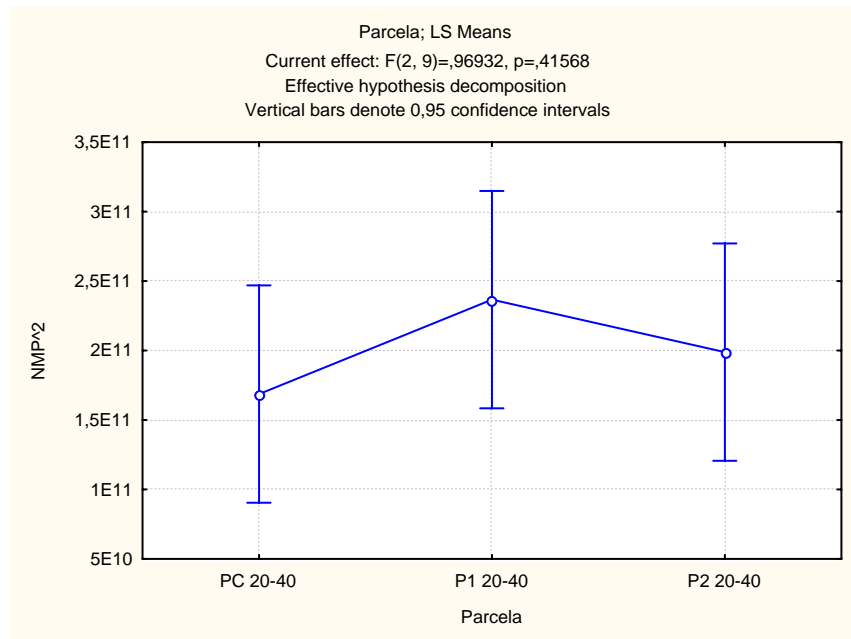
**Figura 22.** Gráfico de población bacteriana desnitrificante a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).



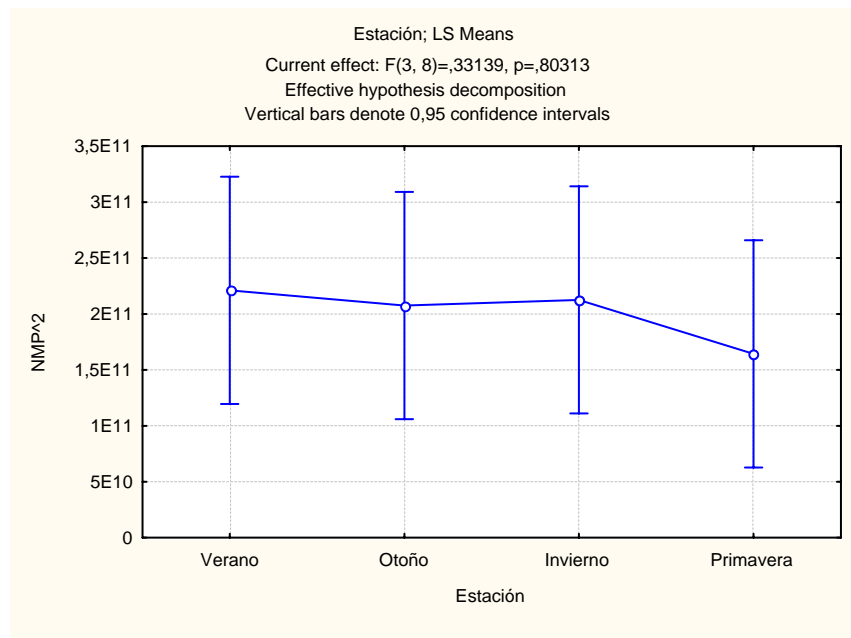
**Figura 23.** Gráfico de población bacteriana amonizante a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).



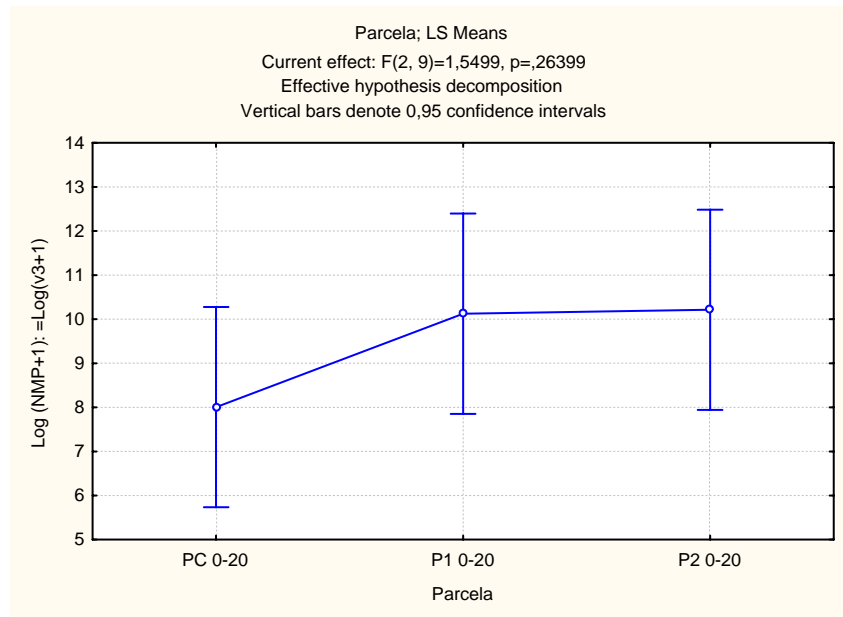
**Figura 24.** Gráfico población bacteriana amonizante a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).



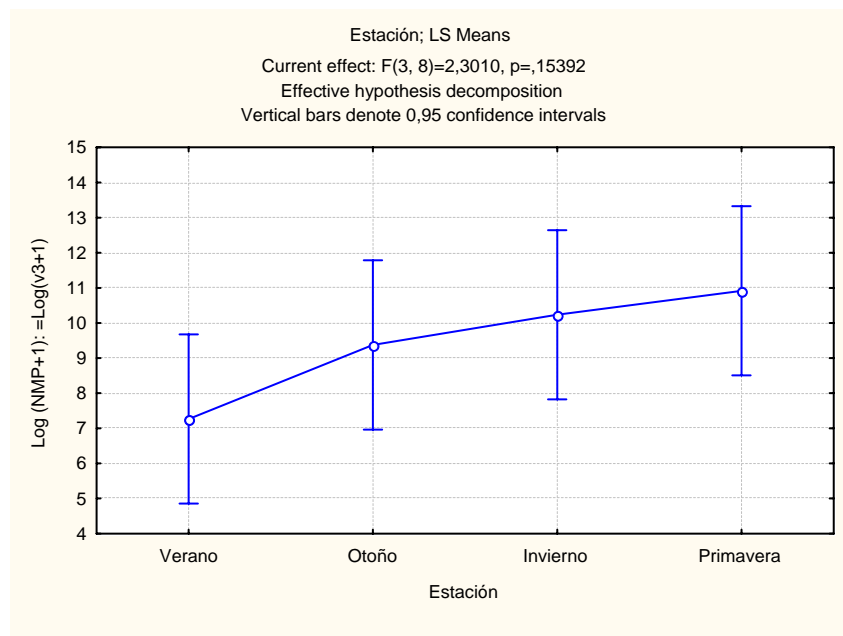
**Figura 25.** Gráfico de población bacteriana amonizante a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).



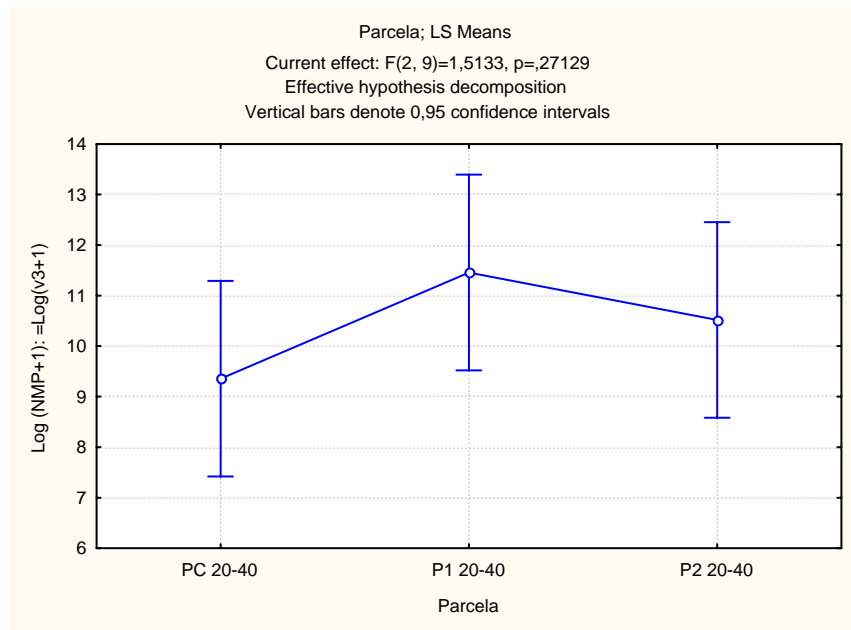
**Figura 26.** Grafico de población bacteriana amonizante a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).



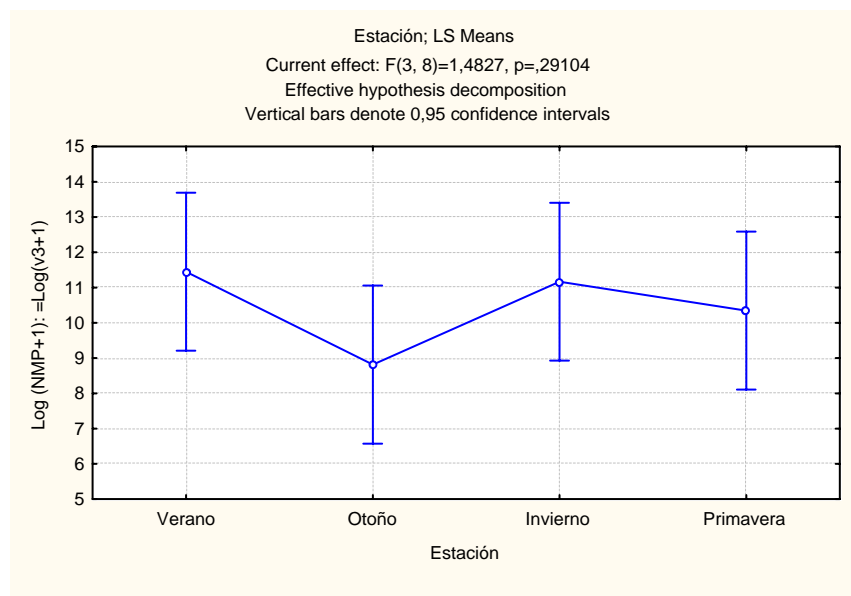
**Figura 27.** Gráfico de población bacteriana amilolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).



**Figura 28.** Gráfico de población bacteriana amilolítica a la profundidad de 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).



**Figura 29.** Gráfico de población bacteriana amilolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (ANOVA).



**Figura 30.** Gráfico de población bacteriana amilolítica a la profundidad de 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera) (ANOVA).

**ANEXO 4.**

Cuadros de Test de Tukey ( $p < 0,05$ ) para las poblaciones bacterianas en relación a las parcelas (PC, P1 y P2) y estaciones climáticas del año (verano, otoño, invierno y primavera), de la profundidad 0-20 y 20-40 cm.

**Cuadro 10.** Población bacteriana proteolítica de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Parcela	{1}	{2}	{3}
1	PC 0-20		0,865631	0,862629
2	P1 0-20	0,865631		0,572976
3	P2 0-20	0,862629	0,572976	

**Cuadro 11.** Población bacteriana proteolítica de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Estación	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Verano		0,010838	0,024566	0,178700
2	Otoño	0,010838		0,923654	0,250599
3	Invierno	0,024566	0,923654		0,520728
4	Primavera	0,178700	0,250599	0,520728	

**Cuadro 12.** Población bacteriana proteolítica de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Parcela	{1}	{2}	{3}
1	PC 20-40		0,997477	0,786190
2	P1 20-40	0,997477		0,823019
3	P2 20-40	0,786190	0,823019	

**Cuadro 13.** Población bacteriana proteolítica de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Estación	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Verano		0,999880	0,996791	0,013310
2	Otoño	0,999880		0,999093	0,012168
3	Invierno	0,996791	0,999093		0,010230
4	Primavera	0,013310	0,012168	0,010230	

**Cuadro 14.** Población bacteriana ureolítica de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Parcela	{1}	{2}	{3}
1	PC 0-20		0,815526	0,179690
2	P1 0-20	0,815526		0,411046
3	P2 0-20	0,179690	0,411046	



**Cuadro 15.** Población bacteriana ureolítica de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Estación	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Verano		0,999042	0,398910	0,990719
2	Otoño	0,999042		0,465932	0,998622
3	Invierno	0,398910	0,465932		0,547424
4	Primavera	0,990719	0,998622	0,547424	

**Cuadro 16.** Población bacteriana ureolítica de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Parcela	{1}	{2}	{3}
1	PC 20-40		0,909106	0,833051
2	P1 20-40	0,909106		0,985465
3	P2 20-40	0,833051	0,985465	

**Cuadro 17.** Población bacteriana ureolítica de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Estaciones	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Verano		0,928817	0,737974	0,103925
2	Otoño	0,928817		0,414994	0,044568
3	Invierno	0,737974	0,414994		0,403958
4	Primavera	0,103925	0,044568	0,403958	

**Cuadro 18.** Población bacteriana desnitrificantes de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Parcela	{1}	{2}	{3}
1	PC 0-20		0,461396	0,884173
2	P1 0-20	0,461396		0,251885
3	P2 0-20	0,884173	0,251885	

**Cuadro 19.** Población bacteriana desnitrificante de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Estaciones	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Verano		0,999410	0,855835	0,145422
2	Otoño	0,999410		0,800225	0,170928
3	Invierno	0,855835	0,800225		0,047736
4	Primavera	0,145422	0,170928	0,047736	

**Cuadro 20.** Población bacteriana desnitrificantes de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Parcela	{1}	{2}	{3}
1	PC 20-40		0,312166	0,986602
2	P1 20-40	0,312166		0,381458
3	P2 20-40	0,986602	0,381458	

**Cuadro 21.** Población bacteriana desnitrificante de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	<b>Estaciones</b>	<b>{1}</b>	<b>{2}</b>	<b>{3}</b>	<b>{4}</b>
<b>1</b>	Verano		0,176149	0,838408	0,586078
<b>2</b>	Otoño	0,176149		0,494284	0,753312
<b>3</b>	Invierno	0,838408	0,494284		0,963307
<b>4</b>	Primavera	0,586078	0,753312	0,963307	

**Cuadro 22.** Población bacteriana amonizante de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	<b>Parcela</b>	<b>{1}</b>	<b>{2}</b>	<b>{3}</b>
<b>1</b>	PC 0-20		0,997148	0,288169
<b>2</b>	P1 0-20	0,997148		0,261140
<b>3</b>	P2 0-20	0,288169	0,261140	

**Cuadro 23.** Población bacteriana amonizante de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	<b>Estaciones</b>	<b>{1}</b>	<b>{2}</b>	<b>{3}</b>	<b>{4}</b>
<b>1</b>	Verano		0,994974	0,967474	0,952297
<b>2</b>	Otoño	0,994974		0,996276	0,991687
<b>3</b>	Invierno	0,967474	0,996276		0,999891
<b>4</b>	Primavera	0,952297	0,991687	0,999891	

**Cuadro 24.** Población bacteriana amonizante de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Parcela	{1}	{2}	{3}
1	PC 20-40		0,386062	0,814770
2	P1 20-40	0,386062		0,728388
3	P2 20-40	0,814770	0,728388	

**Cuadro 25.** Población bacteriana amonizante de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Estaciones	{1}	{2}	{3}	{4}
1	Verano		0,996172	0,999094	0,799728
2	Otoño	0,996172		0,999803	0,896292
3	Invierno	0,999094	0,999803		0,863098
4	Primavera	0,799728	0,896292	0,863098	

**Cuadro 26.** Población bacteriana amilolítica de la profundidad 0-20 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	Parcela	{1}	{2}	{3}
1	PC 0-20		0,339012	0,312762
2	P1 0-20	0,339012		0,997961
3	P2 0-20	0,312762	0,997961	

**Cuadro 27.** Población bacteriana amilolítica de la profundidad 0-20 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	<b>Estaciones</b>	<b>{1}</b>	<b>{2}</b>	<b>{3}</b>	<b>{4}</b>
<b>1</b>	Verano		0,519021	0,261219	0,140379
<b>2</b>	Otoño	0,519021		0,934649	0,730646
<b>3</b>	Invierno	0,261219	0,934649		0,965642
<b>4</b>	Primavera	0,140379	0,730646	0,965642	

**Cuadro 28.** Población bacteriana amilolítica de la profundidad 20-40 cm versus las parcelas PC, P1 y P2 (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	<b>Parcela</b>	<b>{1}</b>	<b>{2}</b>	<b>{3}</b>
<b>1</b>	PC 20-40		0,244748	0,617840
<b>2</b>	P1 20-40	0,244748		0,726830
<b>3</b>	P2 20-40	0,617840	0,726830	

**Cuadro 29.** Población bacteriana amilolítica de la profundidad 20-40 cm versus las estaciones climáticas del año; verano, otoño, invierno y primavera. (Test de Tukey ( $p < 0,05$ )).

	<b>Estaciones</b>	<b>{1}</b>	<b>{2}</b>	<b>{3}</b>	<b>{4}</b>
<b>1</b>	Verano		0,293221	0,996625	0,850740
<b>2</b>	Otoño	0,293221		0,378163	0,691714
<b>3</b>	Invierno	0,996625	0,378163		0,930246
<b>4</b>	Primavera	0,850740	0,691714	0,930246	

**ANEXO 5.**

**Cuadro 30.** Precipitación mensual (mm de agua caída) registrada en los meses de diciembre (2003) y enero a noviembre (2004), en El Parque Nacional Tolhuaca.

Precipitación (milímetros de agua caída)						
	Diciembre(2003)	Enero(2004)	Febrero(2004)	Marzo(2004)	Abril(2004)	Mayo(2004)
Total Mes	171.0	5.5	34.5	169.5	374.0	s.d
Máx. 24 hrs	50.0	5.0	34.5	71.0	80.0	s.d
Máx. 48 hrs	89.0	5.0	34.5	102.0	130.0	s.d
Máx. 72 hrs	89.0	5.0	34.5	104.5	138.0	s.d
	Junio(2004)	Julio(2004)	Agosto(2004)	Septiembre(2004)	Octubre(2004)	Noviembre(2004)
Total Mes	649.0	517.0	150.7	226.0	331.0	186.0
Máx. 24 hrs	66.0	82.0	37.0	67.0	50.0	50.0
Máx. 48 hrs	110.0	128.0	48.0	89.0	98.0	80.0
Máx. 72 hrs	150.0	138.0	50.0	105.0	111.0	96.0

s.d: sin descripción.

**ANEXO 6.**

**Cuadro 31.** Temperatura (°C) mensual máxima y mínima registrada en los meses de diciembre (2003) y enero a noviembre (2004) en el Parque Nacional Tolhuaca.

Temperatura (°C) mensual.										
		Diciembre(2003)			Enero(2004)			Febrero(2004)		
	Máxima	Mínima	Media	Máxima	Mínima	Media	Máxima	Mínima	Media	
Media Extrema	<b>16.2</b>	4.3	10.3	<b>25.1</b>	7.9	16.5	<b>25.1</b>	8.0	16.6	
Máxima Absoluta	25.5			32.2			32.0			
Mínima Absoluta		-1.2			1.2			-2.0		
		Marzo(2004)			Abril(2004)			Mayo(2004)		
	Máxima	Mínima	Media	Máxima	Mínima	Media	Máxima	Mínima	Media	
Media Extrema	<b>19.2</b>	6.3	12.8	<b>12.6</b>	4.1	8.4	<b>11.8</b>	2.3	7.1	
Máxima absoluta	24.1			18.6			17.0			
Mínima Absoluta		1.2			-2.2			-1.5		
		Junio(2004)			Julio(2004)			Agosto(2004)		
	Máxima	Mínima	Media	Máxima	Mínima	Media	Máxima	Mínima	Media	
Media Extrema	<b>7.0</b>	1.1	4.1	<b>5.9</b>	0.8	3.4	<b>9.8</b>	1.2	5.5	
Máxima Absoluta	13.0			11.0			18.0			
Mínima Absoluta		-4.2			-3.4			-2.0		
		Septiembre(2004)			Octubre(2004)			Noviembre(2004)		
	Máxima	Mínima	Media	Máxima	Mínima	Media	Máxima	Mínima	Media	
Media Extrema	s.d		s.d	<b>13.1</b>	s.d	s.d	<b>17.9</b>	s.d	s.d	
Máxima Absoluta	s.d			22.5			25.0			
Mínima Absoluta		s.d			s.d			s.d		

sd: sin descripción