



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

TEMA:

**“DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BIODEGRADADORA DE
HIDROCARBUROS DE BACTERIAS AISLADAS DE SUELOS
CONTAMINADOS CON PETRÓLEO”**

Proyecto de Trabajo de Graduación, modalidad Trabajo Estructurado de Manera Independiente, presentado como requisito previo a la obtención del Título de Ingeniero Bioquímico, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos.

RICARDO ABEL VIZUETE GARCÍA

Ambato – Ecuador

2011

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de Tutor del trabajo de investigación: **“DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BIODEGRADADORA DE HIDROCARBUROS DE BACTERIAS AISLADAS DE SUELOS CONTAMINADOS CON PETRÓLEO”**, realizado por el Egdo. Ricardo Abel Vizuite García, certifico que el trabajo fue realizado por la persona indicada. Considero que dicho informe investigativo reúne los requisitos y méritos suficientes para ser sometidos a la evaluación del Tribunal de Grado, que el Honorable Consejo Directivo designe, para su correspondiente estudio y calificación.

Ambato, Enero del 2011

Dr. Carlos Rodríguez M.; Ph.D
TUTOR DE TESIS

AUTORÍA DE LA INVESTIGACIÓN

La responsabilidad del contenido del Proyecto de Trabajo de Investigación (Graduación), Modalidad: Trabajo Estructurado de Manera Independiente: “DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD BIODEGRADADORA DE HIDROCARBUROS DE BACTERIAS AISLADAS DE SUELOS CONTAMINADOS CON PETRÓLEO.”, es absolutamente original, auténtico y personal, en tal virtud, el contenido, efectos legales y académicos que se desprenden del mismo son de exclusiva responsabilidad del autor.

Ricardo Abel Vizúete García

CI. 180353376-7

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL DE GRADO

UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

Los miembros del tribunal de grado aprueban el presente trabajo de graduación de acuerdo a las disposiciones reglamentarias emitidas por la Universidad Técnica de Ambato.

Ambato, Enero del 2011

Para constancia firman:

Ing. Romel Rivera
Presidente del Tribunal

Ing. María Teresa Pacheco

Ing. Mario Paredes

DEDICATORIA

A Daniel y Leonardo mis hermanos por su lealtad y apoyo, a mi Madre Elizabeth por la constancia, el Amor y la Vida.

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Técnica de Ambato, en la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos carrera de Ingeniería Bioquímica.

Al Doctor Carlos Rodríguez (Tutor), por entregar todos sus conocimientos e impulsar la ciencia y la investigación.

A mis amigos y amigas que directa o indirectamente me apoyaron para lograr esta meta, Jorge Manzano, Luis Avalos, Luis Freire, Pancho Robayo, Javier Salinas, Ricardo Caicedo, Gabriel Curipallo, Inés Córdova, Gabriela López, Gabriela Endara, Mónica Neira, Gabriela Vinueza, Fernanda Ramos, Paola Acosta.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

A. PÁGINAS PRELIMINARES

Tema	i
Aprobación del Tutor	ii
Autoría	iii
Aprobación del Tribunal de Grado	iv
Dedicatoria	v
Agradecimiento	vi
Índice general de contenidos	vii
Índice de tablas, gráficos y figuras	xiv
Resumen	xix

B. TEXTO

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

1.1. Tema de Investigación	1
1.2. Planteamiento del problema	1
1.2.1. Contextualización	2
1.2.1.1. Macro	2
1.2.1.2. Meso	3
1.2.1.3. Micro	3
1.2.2. Análisis Crítico	3
1.2.2.1. Diagrama Causa – Efecto	4

1.2.2.2. Prognosis	4
1.2.2.3. Formulación del problema	4
1.3. Justificación	5
1.4. Objetivos	5
1.4.1. General	5
1.4.2. Específicos	5
CAPÍTULO II	
MARCO TEORICO	
2.1. Antecedentes Investigativos	6
2.1.1. Hechos Históricos acerca del Petróleo.	6
2.1.2. Generalidades.	6
2.1.3. Proceso de Extracción de Petróleo.	7
2.1.4. Refinación de Petróleo.	8
2.1.5. Explotación Petrolera en el Ecuador.	9
2.1.6. Contaminación del Medio Ambiente en el Ecuador.	9
2.1.7. Técnicas de Descontaminación del Medio Ambiente.	11
2.1.8. Bioremediación Aplicada en el Ecuador.	12
2.1.9. Microorganismos útiles en Bioremediación.	13
2.1.10. Aislamiento de Microorganismos biodegradadores de hidrocarburos.	14
2.1.11. Vías metabólicas usadas por bacterias biodegradadoras de petróleo.	15

2.2. Fundamentación Filosófica	18
2.3. Fundamentación Legal	19
2.4. Categorías fundamentales	19
2.5. Hipótesis	21
2.5.1. Hipótesis nula (H_0).	21
2.5.2. Hipótesis alternante (H_1).	21
2.6. Señalamiento de variables de las hipótesis	21
CAPÍTULO III	
METODOLOGÍA	
3.1. Enfoque	22
3.2. Modalidad básica de la investigación	22
3.3. Nivel o tipo de investigación	22
3.4. Población y muestra	22
3.5. Operacionalización de variables	22
3.6. Recolección de Información	22
3.6.1. Recuperación, purificación y almacenamiento de las bacterias.	22
3.6.2. Determinación del uso de KNO_3 como fuente única de nitrógeno.	24
3.6.3. Caracterización macroscópica de los aislamientos.	24
3.6.4. Caracterización microscópica.	25
3.6.4.1. Tinción de Gram.	25

3.6.4.2. Tinción de Endosporas.	25
3.6.4.3. Tinción de Cápsulas.	25
3.6.5. Determinación del crecimiento de la capacidad degradadora de hidrocarburos.	26
3.6.6. Pruebas fisiológicas de crecimiento.	26
3.6.6.1. Rango de crecimiento en función de la Temperatura.	26
3.6.6.2. Rango de crecimiento en Función del pH.	26
3.7. Procesamiento y análisis.	28
3.7.1. Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos.	28
3.7.2. Diseño experimental.	28
3.7.3. Taxonomía Numérica de Datos Fenotípicos.	28

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de los Resultados	29
4.1.1. Recuperación, purificación y almacenamiento de las bacterias.	29
4.1.2. Determinación del uso de KNO ₃ como fuente única de nitrógeno.	29
4.1.3. Caracterización Fenotípica.	29
4.1.3.1. Caracterización Macroscópica.	29
4.1.3.2. Caracterización Microscópica.	30
4.1.4. Determinación del crecimiento de la capacidad degradadora de Hidrocarburos.	30
4.1.5. Pruebas fisiológicas de crecimiento	31
4.1.5.1. Rango de crecimiento en función de la Temperatura.	31

4.1.5.2. Rango de crecimiento en función del pH.	31
4.1.6. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.	32
4.1.7. Análisis Estadístico de las Pruebas de Utilización de Hidrocarburos.	32
4.1.7.1. Diámetro de crecimiento de la colonia a los cinco días de incubación.	32
4.1.7.2. Diámetro de crecimiento de la colonia a los diez días de incubación.	33
4.1.7.3. Diámetro del halo de degradación a los diez días de incubación.	33
4.1.7.4. Diámetro de crecimiento de la colonia a los quince días de incubación.	34
4.1.7.5. Diámetro del halo de degradación a los quince días de incubación.	34
4.1.7.6. Diámetro de crecimiento de la colonia a los veinte días de incubación.	35
4.1.7.7. Diámetro del halo de degradación a los veinte días de incubación.	35
4.1.7.8. Diámetro de crecimiento de la colonia a los veinte y cinco días de incubación.	36
4.1.7.9. Diámetro del halo de degradación a los veinte y cinco días de incubación.	36
4.1.7.10. Diámetro de crecimiento de la colonia a los treinta días de incubación.	37
4.1.7.11. Diámetro del halo de degradación a los treinta días de incubación.	37
4.2. Interpretación de Datos	38
4.2.1. Determinación del uso de KNO_3 como fuente única de nitrógeno.	38
4.2.2. Caracterización Fenotípica y Pruebas Fisiológicas de Crecimiento.	38
4.2.3. Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos.	39
4.2.4. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.	40
4.2.5. Discusión general del trabajo investigativo.	40
4.3. Verificación de Hipótesis.	41
4.3.1. Hipótesis para la determinación de la capacidad biodegradadora	

de hidrocarburos.	42
4.3.1.1. Hipótesis nula (H_0).	42
4.3.1.2. Hipótesis alternante (H_1).	42
CAPÍTULO V	
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	
5.1. Conclusiones	43
5.2. Recomendaciones	43
CAPÍTULO VI	
PROPUESTA	
6.1. Datos Informativos	45
6.1.1. Título	45
6.1.2. Institución Ejecutora	45
6.1.3. Beneficiarios	45
6.1.4. Ubicación	45
6.1.5. Tiempo Estimado para la Ejecución	45
6.1.6. Equipo Técnico Responsable	45
6.2. Antecedentes de la Propuesta	45
6.3. Justificación	46
6.4. Objetivos	46
6.4.1. Objetivo General	46
6.4.2. Objetivos Específicos	46
6.5. Análisis de Factibilidad	46

6.6. Fundamentación	47
6.7. Metodología – Modelo Operativo	47
6.7.1. Caracterización Fenotípica	47
6.7.1.1. Caracterización macroscópica	47
6.7.1.2. Caracterización microscópica	48
6.7.1.3. Rango de crecimiento en función de la Temperatura	48
6.7.1.4. Rango de crecimiento en función del pH	48
6.7.1.5. Análisis de datos Fenotípicos	48
6.7.1.6. Determinación del crecimiento de la capacidad degradadora de hidrocarburos.	48
6.8. Administración	50
6.9. Previsión de la Evaluación	51

C. MATERIALES DE REFERENCIA

Bibliografía	52
Anexos	55

ÍNDICE DE TABLAS

ANEXO A. DATOS EXPERIMENTALES

Tabla A1. Crecimiento en nitrato de potasio (KNO_3).

Tabla A2. Matriz de Datos Fenotípicos.

Tabla A3. Caracterización Microscópica

Tabla A4. Determinación del crecimiento en medio con petróleo.

Tabla A5. Determinación del crecimiento en medio con gasolina.

Tabla A6. Determinación del crecimiento en medio con diesel.

Tabla A7. Determinación del crecimiento en medio con petróleo (Halo de degradación).

Tabla A8. Determinación del crecimiento en medio con gasolina (Halo de degradación).

Tabla A9. Determinación del crecimiento en medio con diesel (Halo de degradación).

Tabla A10. Determinación del crecimiento en agar extracto de suelo arenoso.

Tabla A11. Determinación del crecimiento en agar extracto de suelo arcilloso.

Tabla A12. Determinación del crecimiento en agar extracto de suelo arenoso (Halo de degradación).

Tabla A13. Determinación del crecimiento en agar extracto de suelo arcilloso (Halo de degradación).

Tabla A14. Rango de crecimiento en función de la Temperatura y pH.

Tabla A15. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.

Tabla A16. Codificación de bacterias y medios de cultivo.

Tabla A17. Codificación de bacterias y medios de cultivo para el halo de degradación.

Tabla A18. Matriz de datos para elaboración del dendrograma.

ANEXO B. ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Tabla B1. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 5 días.

Tabla B2. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 5 días, factor A.

Tabla B3. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 5 días, factor B.

Tabla B4. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 5 días, interacción AB.

Tabla B5. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 10 días.

Tabla B6. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 10 días, factor A.

Tabla B7. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 10 días, factor B.

Tabla B8. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 10 días, interacción AB.

Tabla B9. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 10 días.

Tabla B10. Separación de medias para el halo de degradación a los 10 días, factor A.

Tabla B11. Separación de medias para el halo de degradación a los 10 días, factor B.

Tabla B12. Separación de medias para el halo de degradación a los 10 días, interacción AB.

Tabla B13. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 15 días.

Tabla B14. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 15 días, factor A.

Tabla B15. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 15 días, factor B.

Tabla B16. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 15 días, interacción AB.

Tabla B17. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 15 días.

Tabla B18. Separación de medias para el halo de degradación a los 15 días, factor A.

Tabla B19. Separación de medias para el halo de degradación a los 15 días, factor B.

Tabla B20. Separación de medias para el halo de degradación a los 15 días, interacción AB.

Tabla B21. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 20 días.

Tabla B22. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 20 días, factor A.

Tabla B23. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 20 días, factor B.

Tabla B24. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 20 días, interacción AB.

Tabla B25. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 20 días.

Tabla B26. Separación de medias para el halo de degradación a los 20 días, factor A.

Tabla B27. Separación de medias para el halo de degradación a los 20 días, factor B.

Tabla B28. Separación de medias para el halo de degradación a los 20 días, interacción AB.

Tabla B29. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 25 días.

Tabla B30. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 25 días, factor A.

Tabla B31. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 25 días, factor B.

Tabla B32. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 25 días, Interacción AB.

Tabla B33. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 25 días.

Tabla B34. Separación de medias para el halo de degradación a los 25 días, factor A.

Tabla B35. Separación de medias para el halo de degradación a los 25 días, factor B.

Tabla B36. Separación de medias para el halo de degradación a los 25 días, interacción AB.

Tabla B37. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 30 días.

Tabla B38. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 30 días, factor A.

Tabla B39. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 30 días, factor B.

Tabla B40. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 30 días, interacción AB.

Tabla B41. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 30 días.

Tabla B42. Separación de medias para el halo de degradación a los 30 días, factor A.

Tabla B43. Separación de medias para el halo de degradación a los 30 días, factor B.

Tabla B44. Separación de medias para el halo de degradación a los 30 días, interacción AB.

ANEXO C. GRÁFICOS

Figura C1. Caracterización Microscópica. Color de la Colonia.

Figura C2. Forma de la Colonia.

Figura C3. Elevación de la Colonia.

Figura C4. Margen de la Colonia.

Figura C5. Caracterización Microscópica. Forma de la Bacteria.

Figura C6. Tinción de Gram.

Figura C7. Tinción de Capsulas.

Figura C8. Crecimiento en función de la temperatura (2 Días).

Figura C9. Crecimiento en función de la temperatura (4 Días).

Figura C10. Crecimiento en función de la temperatura (7 Días).

Figura C11. Crecimiento en función de pH.

Figura C12. Dendrograma para datos fenotípicos.

ANEXO D. MEDIOS DE CULTIVO Y SOLUCIONES

Medios de Cultivo

Buffers

ANEXO E. TABLA DE COLORES

Tabla de Colores (British Standard Specification for colours for identification, coding and special purposes)

ANEXO F. FOTOGRAFIAS

Fotografía 1. Crecimiento bacteriano medio KNO_3 .

Fotografía 2. Tinción de Gram (bacteria gram negativa).

Fotografía 3. Tinción de Gram (bacteria gram positiva).

Fotografía 4. Tinción de Cápsulas.

Fotografía 5. Crecimiento bacteriano a los cinco días de incubación (medio diesel).

Fotografía 6. Crecimiento de bacterias a los diez días de incubación (medio diesel).

Fotografía 7. Crecimiento de bacterias a los quince días de incubación (extracto de suelo arcilloso).

Fotografía 8. Crecimiento de bacterias a los veinte días de incubación (extracto de suelo arenoso).

Fotografía 9. Crecimiento de bacterias a los veinte y cinco días de incubación (medio gasolina).

Fotografía 10. Crecimiento de bacterias a los treinta días de incubación (medio petróleo).

Fotografía 11. Crecimiento de bacterias a 7.5 de pH.

Fotografía 12. Crecimiento de bacterias a 5.5 de pH.

Fotografía 13. Crecimiento de bacterias a 37°C de temperatura.

RESUMEN

Debido a la falta de leyes encaminadas a proteger el medio ambiente en los inicios de las actividades petroleras del Ecuador, se ha contaminado un gran volumen de suelo en los últimos 40 años, afectando al ambiente de la Amazonía Ecuatoriana. La búsqueda de nuevos tratamientos de bioremediación se ha ido incrementando en los últimos años debido a la necesidad de realizar los trabajos de limpieza más rápidos y con más bajos costos. El presente estudio determinó la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de bacterias nativas aisladas de suelos contaminados con petróleo. Los parámetros medidos fueron el diámetro de crecimiento de la colonia bacteriana y la formación del halo de degradación en los medios de cultivo. Las bacterias estudiadas presentan gran diversidad fenotípica y metabólica, que se manifiesta en la capacidad que todas presentaron para crecer en los medios de cultivo, cuya única fuente de carbono constituyeron diferentes tipos de hidrocarburos y extractos de suelos contaminados con derivados de petróleo. Las bacterias AX67, AX15 y AX87 crecieron de mejor manera en los cinco tipos de medios de cultivos utilizados luego de treinta días de incubación. Así mismo, los mejores medios fueron aquellos preparados con los extractos de suelos con diferentes concentraciones de contaminantes (TPHs). Este estudio preliminar provee una plataforma sólida para continuar con estudios que demuestren la factibilidad de usar un bioproducto basado en bacterias, primero en condiciones de microcosmos en el laboratorio, y luego en pruebas a campo abierto mediante la implementación de programas de bioremediación *in situ* o *ex situ* para la descontaminación de suelos contaminados con hidrocarburos.

CAPITULO I

EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACION

1.1 Tema de Investigación.

Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo.

1.2 Planteamiento del problema.

La explotación petrolera en el Ecuador tiene dos épocas claramente marcadas. La primera corresponde al periodo 1911-1960, en donde la zona de exploración y explotación fue la península de Santa Elena. La segunda etapa se inició en 1970, con el descubrimiento del campo Lago Agrio, en la región amazónica del Aguarico. Esta etapa se extiende hasta el año 2001 con la construcción de un nuevo oleoducto para el transporte de crudos pesados, con inversión privada. En ninguna de las dos épocas, tanto el impacto social como ambiental, fueron considerados durante el proceso de contratación pública, y tampoco en la concesión otorgada a compañías extranjeras para la explotación y transporte de hidrocarburos. El petróleo es uno de los recursos naturales más importantes del país. Debido a la explotación de este recurso, ciertos ambientes del Oriente ecuatoriano han sido contaminados con hidrocarburos (Uppsae, 1993).

La actividad hidrocarburífera implica una alteración de los ecosistemas y las actividades humanas, en graves proporciones. Por ejemplo, en los elementos abióticos se ha notado que las actividades de prospección sísmica y perforación, generan impactos sobre el suelo. Los movimientos de tierra hacen que el suelo pierda las sustancias minerales y orgánicas de la capa superior, por lo que se generan procesos erosivos como los derrumbes. El suelo además es contaminado por la incorrecta disposición de líquidos y desechos industriales como las aguas servidas, lodos de perforación, residuos sólidos y fluidos de perforación. Así mismo es posible identificar las modificaciones topográficas debidas a la construcción de helipuertos y plataformas, provocando un cambio en el uso del suelo y consecuentemente alterando los ecosistemas intervenidos en el área. El agua es otro elemento abiótico afectado por la incorrecta disposición de desechos sólidos y líquidos. Diferentes tipos de hidrocarburos se mantienen durante mucho tiempo en el agua, formando capas de crudo en las profundidades de los ríos, que al ser removidas generan contaminación de otras fuentes cercanas. En el aire, podemos destacar la contaminación por el ruido causado por las turbinas de las plataformas o taladros de perforación.

Además la emisión de gas quemado (se queman más de 30.500 millones de pies cúbicos diarios), cuyos subproductos de la combustión son eliminados directamente a la atmósfera a través de los mecheros, produciendo contaminación directa a poblaciones cercanas, y a aquellas que no estando cerca, se ven afectadas por este material que es llevado por las corrientes de aire (Maldonado y Narvaez, 2003).

Los elementos vivos o bióticos sufren también el impacto. Por ejemplo, en la flora se presenta fuertemente el deterioro y remoción de la capa vegetal debido a la construcción de helipuertos, plataformas, y excavaciones. Además la acumulación de lodos de perforación, lubricantes, basura industrial y otros componentes, deterioran la capa vegetal por lo que la actividad productiva primaria de los ecosistemas naturales se ve reducida al alterar el estado de la vegetación. Se rompe la secuencia de los procesos normales del ecosistema, pues al penetrar maquinaria de perforación y de apertura de trochas, afectan en cierto grado este proceso. En relación a la fauna podemos ver como la actividad hidrocarburífera ocasiona el desplazamiento de especies tanto terrestres como aéreas, pues la construcción de plataformas, apertura de trochas y caminos, y ruidos que estos ocasionan, hacen que las diferentes especies se desplacen de su hábitat. Además es notable que la contaminación provoque enfermedades debido a la mala disposición de los residuos tóxicos, derrames en el transporte del crudo o simplemente stress (Jochnick, 1994).

La bioremediación es el proceso utilizado por el hombre para detoxificar varios contaminantes en los diferentes ambientes como mares, estuarios, lagos, ríos y suelos, usando de forma estratégica microorganismos, plantas o biocompuestos producidos por éstos. Esta técnica es utilizada para disminuir la contaminación por los hidrocarburos de petróleo y sus derivados, metales pesados e insecticidas, tratamiento de aguas domésticas e industriales, aguas procesadas y de consumo humano, aire y gases de desecho. La limpieza por bioremediación tiene diversas ventajas, la más importante es que los microorganismos no producen ninguna sustancia tóxica, mucho menos algún tipo de reacción secundaria en el medio ambiente en el que van a ser aplicados (Maldonado y Narvaez, 2003).

1.2.1 Contextualización.

El Ecuador en sus 40 años aproximadamente de explotación petrolera, mantiene un historial negativo en relación a la afectación de los ecosistemas naturales. El dinero obtenido por la venta del petróleo ha permitido financiar la burocracia y pocos programas sociales, pasando por alto los efectos producidos por la explotación petrolera en el medio ambiente. Los más importantes

han sido el desplazamiento de pueblos, la contaminación del agua y suelo, y la afectación a la salud de las personas (Uppsae, 1993).

Los efectos locales de las actividades petroleras durante los últimos treinta años son desastrosos. La explotación petrolera en la Amazonía ecuatoriana es responsable de la deforestación de 2 millones de hectáreas. Más de 650.000 barriles de crudo han sido derramados en bosques, ríos y esteros. Sustancias tóxicas, producto de la explotación petrolera, como los metales pesados, han contaminado las fuentes de agua y suelos de la región (Jochnick, 1994).

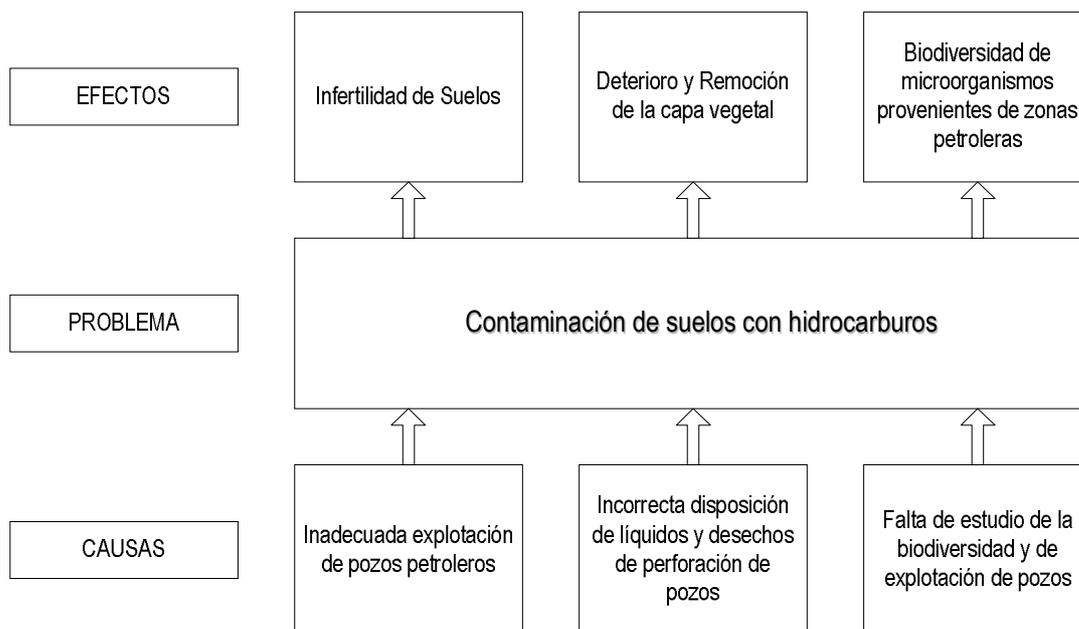
Después de los numerosos derrames petroleros que han ocurrido en el país, varias empresas nacionales empezaron a estudiar tecnologías de bioremediación, con el fin de ser capaces de realizar la limpieza de los sitios afectados por los derrames petroleros de forma más eficiente. Como ejemplos de bioremediación dentro del país podemos citar la limpieza del sector Sacha, en la provincia de Orellana, y de la Laguna de Papallacta, en la provincia de Pichincha, realizados por PEPDA y Ecuavital (Navas, S. *et al.* 2008).

1.2.2 Análisis crítico.

Desde siempre la especie humana ha interactuado con el medio ambiente y lo ha modificado. Los problemas ambientales no son nuevos, sin embargo, lo que hace especialmente preocupante de la situación actual es la aceleración de esas modificaciones, su carácter masivo y la universalidad de sus consecuencias. Los problemas ambientales ya no aparecen como independientes unos de otros sino que constituyen elementos que se relacionan entre sí configurando una realidad diferente a la simple acumulación de todos ellos. Por ello, hoy en día podemos hablar de algo más que de simples problemas ambientales, nos enfrentamos a una auténtica crisis ambiental.

Por ello los resultados de esta investigación permitirán el desarrollo de nuevas alternativas de remediación ambiental de sitios contaminados con hidrocarburos para realizar trabajos de limpieza del medio ambiente que sean efectivos y con bajos costos.

1.2.2.1. Diagrama Causa – Efecto.



1.2.2.2. Prognosis.

La ausencia de técnicas de bioremediación contribuirá al crecimiento de la contaminación ambiental de suelos, mares, estuarios, lagos, ríos, y al aumento de la contaminación por hidrocarburos, derivados de petróleo, metales pesados e insecticidas, aguas domésticas e industriales, aguas procesadas y de consumo humano, aire y gases.

1.2.2.3. Formulación del problema.

En la Amazonía ecuatoriana existen más de cinco mil pasivos ambientales, producto de la explotación petrolera, que necesitan ser recuperados mediante procesos de remediación. El trabajo es largo y combina procesos mecánicos, químicos y biológicos que permiten disminuir los niveles de contaminación con petróleo y sus derivados, a niveles no tóxicos para el ambiente. La etapa final consiste en reforestar las áreas para estimular mecanismos naturales que permitan regenerar la flora y fauna típicas de la región.

Una etapa crucial consiste en usar organismos vivos para disminuir los niveles de contaminantes. Actualmente, muchas compañías que hacen bioremediación importan microbios desde Europa y Estados Unidos, sin realizar estudios de impacto ambiental antes de su utilización. El uso de bacterias nativas es limitado. Además, poco se conoce acerca de la capacidad biodegradadora y diversidad de bacterias aisladas de sitios contaminados con hidrocarburos en sitios de la Amazonía ecuatoriana.

1.3 Justificación.

La contaminación, la destrucción y fragmentación de hábitats es el problema ambiental más grave en el Ecuador, por eso es considerado la mayor amenaza para la conservación de la biodiversidad y la principal causa de extinción de las especies. Quizá la consecuencia más grave es que sus impactos sean irreversibles a corto, mediano y largo plazo. La contaminación en el Ecuador por la explotación de petróleo y sus derivados, ha llegado a causar gran destrucción de amplias áreas en la Amazonia, la formación de pasivos ambientales o piscinas de crudo han contaminado de manera casi irremediable los suelos y agua de la región, a través del tiempo se han ido desarrollando técnicas de bioremediación de suelos que exigen un adecuado estudio y caracterización de los microorganismos nativos, originarios de suelos contaminados con hidrocarburos.

La búsqueda de nuevos tratamientos de remediación se ha ido incrementando en los últimos años debido a la necesidad de realizar los trabajos de limpieza más rápidos y con costos más bajos. El presente estudio está enfocado a dar una alternativa para la recuperación de ambientes contaminados, reduciendo eficientemente la toxicidad producida por el crudo y sus derivados presentes en suelos, mediante la identificación de bacterias altamente eficientes en la transformación de hidrocarburos en compuestos menos tóxicos. Este será un estudio preliminar que permitirá en años posteriores desarrollar un bioproducto para la descontaminación de sitios contaminados con hidrocarburos.

1.4 Objetivos.

1.4.1 General

- Determinar la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo.

1.4.2 Específicos

- Determinar la pureza de bacterias aisladas de suelos contaminados con hidrocarburos, almacenadas como suspensiones de glicerol.
- Caracterizar fenotípicamente las cepas puras.
- Determinar la capacidad de degradación de petróleo, gasolina, diesel, y extractos de suelos contaminados con hidrocarburos.

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes Investigativos.

2.1.1. Hechos históricos acerca del Petróleo.

Si bien algunos yacimientos petrolíferos fueron explotados desde la antigüedad, podemos considerar que el verdadero punto de partida de la industria del crudo fue la perforación de un pozo, realizada en Titusville (Pennsylvania) en 1859. En 1880, la producción mundial, localizada casi por completo en EE.UU. era inferior al millón de toneladas, y sólo se utilizaba el queroseno, desaprovechándose los demás productos de la destilación (Meléndez, 1980).

Entre 1885 y 1900 se fueron sustituyendo los aceites vegetales por los del petróleo en calidad de lubricantes. A fines de dicho período, la producción mundial era de 20 millones de toneladas. En 1929 la producción siguió incrementándose hasta los 200 millones de toneladas, por nuevos descubrimientos en México, Venezuela y Medio Oriente. Pero no es hasta la Segunda Guerra Mundial que el petróleo comienza a ser realmente imprescindible en la economía mundial, por el aumento de las necesidades energéticas derivado de una casi constante expansión económica, la importancia del sector automovilístico, y años más tarde del sector petroquímico. Así el petróleo cubría en 1958 el 38% de las necesidades energéticas mundiales, y el 45% en 1976 (Meléndez. 1980). El petróleo o crudo es una sustancia aceitosa, generalmente de color oscuro, se lo denomina también como hidrocarburo. El descubrimiento del petróleo cambió la historia a la humanidad, ya que es una fuente de energía que hoy mueve al mundo (Sánchez, *et al.* 1989).

2.1.2. Generalidades.

El petróleo es una sustancia combustible, viscosa y líquida, a temperatura y presión normales. Su origen está en la descomposición de sustancias orgánicas por la acción de microorganismos anaerobios, por períodos largos de tiempo. Está también asociada al desarrollo de rocas sedimentarias, depositadas en ambientes marinos o bosques subtropicales. La acumulación de capas geológicas sobre los depósitos generó condiciones de alta presión y temperatura, promoviendo reacciones de los componentes residuales de los organismos originales, que llevaron a la formación del petróleo. Es una mezcla de hidrocarburos que se encuentran en fase sólida, líquida y gaseosa. Recibe ese nombre porque sus componentes están constituidos

principalmente por átomos de carbono e hidrógeno. Su color varía entre ámbar y negro (Rosini, 1960).

El petróleo está conformado por átomos de carbono tetravalentes e hidrógenos monovalentes. También contiene oxígeno, azufre, nitrógeno, formando sulfuros de hidrógeno, mercaptanos, disulfuros, polisulfuros, ácidos nafténicos, entre otros. El petróleo y el gas natural son las principales fuentes de obtención de productos orgánicos. De ellos se obtienen siete productos que constituyen el fundamento de la química orgánica industrial. Estos son el etileno, propileno, butilenos, benceno, tolueno, xilenos y metano. Las olefinas como el etileno, propileno y los butilenos, se obtienen tanto del petróleo como del gas natural. Los compuestos aromáticos como el benceno, tolueno y xileno, se obtienen a partir del petróleo, y en cantidades mucho menores del carbón. El metano proviene mayoritariamente del gas natural (Fernández, *et al.* 1992).

2.1.3. Proceso de extracción de Petróleo.

Las exploraciones petroleras iniciaron hace más de cien años, cuando las perforaciones se efectuaban cerca de filtraciones de petróleo, las cuales indicaban que el petróleo se encontraba bajo la superficie. Hoy en los procesos de perforación y extracción de petróleo se utilizan técnicas sofisticadas como mediciones sísmicas, e imágenes de satélite. Potentes computadoras asisten a los geólogos para interpretar sus descubrimientos. Pero, finalmente, sólo la perforadora puede determinar si existe o no petróleo bajo la superficie. El petróleo se encuentra en el subsuelo inmerso en los poros de las rocas sedimentarias en lo que se conoce como yacimiento de hidrocarburos, que es la porción de una trampa geológica que los contiene, la cual se comporta como un sistema intercomunicado hidráulicamente. Los hidrocarburos ocupan los poros de la roca almacenante, quedan confinados por una roca impermeable en la parte superior y se encuentran a alta presión y temperatura, debido a la profundidad del yacimiento y a su propia generación de gas hidrocarburo conocido como gas asociado. Así mismo, por la naturaleza de su origen se encuentra mezclado con agua salina en forma de emulsión. Generalmente se encuentra encerrado en los espacios que hay entre los granos de arena que forman las rocas llamadas areniscas, que pueden ser de origen marino, fluvial o lacustre. Cuando estas areniscas son "petrolíferas", el petróleo se encuentra ocupando los poros de éstas al igual que el agua en una esponja (Avellaneda, 1998).

También es posible encontrar petróleo en grietas y cavidades y en otras rocas sedimentarias como las calizas y dolomitas. Debido a los intensos movimientos telúricos ocurridos en el pasado

geológico, las rocas sufrieron deformaciones que produjeron, en algunos casos, "trampas". Estas son condiciones estructurales o estratigráficas más favorables para una mayor acumulación de petróleo dentro de la roca contenedora, dando origen a un yacimiento o acumulación comercial de hidrocarburo. Hoy en día, la técnica más utilizada para extraer el petróleo de los pozos es mediante la perforación rotatoria. Este método emplea tubos cilíndricos de acero (barras de perforación) acoplados a un tambor o mesa rotatoria mediante la cual se les imprime una rápida rotación. Un pozo que ha sido perforado y entubado hasta llegar a la zona donde se encuentra el petróleo, está listo para empezar a producir. Desde los separadores, por medio de cañerías, el crudo es enviado a los aparatos especiales donde se separan de él el gas y el agua. A través de otras cañerías, conocidas como gasoductos se conduce el gas a diferentes sitios para su empleo como combustible, para ser simplemente quemado en chimeneas, o para tratamiento posterior. Mientras en otras cañerías (oleoductos) se conduce el petróleo a los estanques de almacenamiento, desde donde se les envía a su destino (UICN y E&P Forum, 1991).

2.1.4. Refinación de Petróleo.

En los primeros tiempos, la refinación se contentaba con separar los productos preexistentes en el crudo, sirviéndose de su diferencia de volatilidad, es decir, del grosor de una molécula. Fue entonces cuando se aprendió a romperlas en partes más pequeñas llamadas "de cracking", para aumentar el rendimiento en esencia, advirtiéndose que ellas y los gases subproductos de su fabricación tenían propiedades "reactivas". El principio básico en la refinación del crudo radica en los procesos de destilación y de conversión, donde se calienta el petróleo en hornos y se hace pasar por torres de separación o fraccionamiento y plantas de conversión, el petróleo crudo empieza a vaporizarse a una temperatura algo menor que la necesaria para hervir el agua. Los hidrocarburos con menor masa molecular son los que se vaporizan a temperaturas más bajas, y a medida que aumenta la temperatura se van evaporando las moléculas más grandes. El primer material destilado a partir del crudo es la fracción de gasolina, seguida por la nafta y finalmente el queroseno. En las antiguas destilerías, el residuo que quedaba en la caldera se trataba con ácido sulfúrico y a continuación se destilaba con vapor de agua. Las zonas superiores del aparato de destilación proporcionaban lubricantes y aceites pesados, mientras que las zonas inferiores suministraban ceras y asfalto. A finales del siglo XIX, las fracciones de gasolina y nafta se consideraban un estorbo porque no existía una gran necesidad de las mismas; la demanda de queroseno también comenzó a disminuir al crecer la producción de electricidad y el empleo de luz eléctrica. Sin embargo, la introducción del automóvil hizo que se disparara la demanda de gasolina, con el consiguiente aumento de la necesidad de crudo (Vian, 1993).

2.1.5. Explotación Petrolera en el Ecuador.

La explotación petrolera en el Ecuador comenzó en el periodo de 1911-1960, como primera etapa, en la zona de exploración y explotación de la península de Santa Elena. La segunda etapa petrolera se inició en 1970, con el descubrimiento del campo Lago Agrio en la región amazónica del Aguarico, etapa que se extiende hasta el año 2001 con la construcción de un nuevo oleoducto: el oleoducto de crudos pesados con inversión privada (Uppsae, 1993). En ninguna de las dos épocas el impacto social como ambiental fue considerado en la contratación pública y tampoco en la concesión otorgada a compañías extranjeras (Bustamante, 1999).

En el año 1964 el consorcio Texaco-Gulf descubrió grandes reservas de petróleo en lo que hoy son las provincias de Sucumbíos, Napo, Pastaza y Orellana. Desde entonces las compañías petroleras internacionales, junto a la compañía nacional Petroecuador han extraído miles de millones de barriles de crudo en la Amazonía Ecuatoriana. En este proceso millones de galones de petróleo y desechos tóxicos han sido eliminados directamente al medio ambiente (Hurting-Sebastián, 1998).

2.1.6. Contaminación del medio ambiente en el Ecuador.

Tan solo en el período comprendido desde 1970 hasta 1993, más de 30 mil millones de galones (114 mil millones de litros) de desechos tóxicos y petróleo sin refinar fueron descargados hacia las tierras y vías fluviales de la Amazonia ecuatoriana. Texaco, que se fusionó con Chevron en el año 2001 para formar ChevronTexaco, operó en el país entre los años 1970 y 1992. Esta industria extranjera ha provocado gran cantidad de contaminación al medio ambiente en la Amazonia ecuatoriana. Grandes extensiones de suelos y aguas fueron contaminadas con la explotación petrolera, y muchas de ellas, hasta el día de hoy no han podido ser remediadas. La empresa petrolera admite que durante este tiempo vertió 18 billones de galones de “aguas de formación”, un subproducto peligroso del proceso de extracción, en piscinas no forradas llamadas pasivos ambientales. Petroecuador, la empresa petrolera nacional de Ecuador, estima que estos desechos contienen 16.4 millones de galones de petróleo crudo (Maest, *et al.*, 2006).

A nivel internacional la canalización de aguas de formación en pozos cerrados bajo tierra, era un estándar de los procesos ambientales décadas antes de que empezara la extracción en nuestro país. En el Ecuador ChevronTexaco las depositó en piscinas no forradas, de las cuales hoy en día existen 627 en 339 pozos petroleros. En el año de 1990, cuando esta empresa terminó sus operaciones en el Ecuador, Petroecuador asumió el manejo de sus pozos en la región

Amazónica y tuvo control completo desde el año 1992 dándose cuenta que la tecnología y los procesos utilizados en la explotación de petróleo no cumplían con los requerimientos estándares de control de contaminación. En el año de 1995 la empresa Chevron Texaco firmó un contrato de remediación del medio ambiente con el gobierno ecuatoriano que la liberó de la contaminación causada en el país, el cual no ha sido cumplido (Maest, *et al.*, 2006). Cada pozo de exploración que se perfora produce una media de 4000 metros cúbicos de desechos de perforación. Estos son depositados en huecos excavados en la tierra denominados piscinas o pasivos ambientales. En algunas ocasiones, por filtración, sobreflujo o directamente, los desechos son movilizados al medio ambiente (Maldonado, *et al.*, 2003).

Otro claro ejemplo de contaminación del medio ambiente en el Ecuador ocurrió el 8 de abril del 2003, una rotura del SOTE (sistema del oleoducto transecuatoriano) generó un derrame de crudo en la reserva Cayambe Coca, el cual bajó a la laguna de Papallacta donde cubrió cerca de la mitad de su superficie. El agua que abastece a la sexta parte de la población de Quito proviene de esta laguna y aunque no corre un peligro inminente, existe un real riesgo de una futura contaminación del agua por bioacumulación de residuos hidrocarbúricos, las acciones conjugadas del viento, de las corrientes acuáticas y de la bioacumulación de los hidrocarburos en vegetales acuáticos y sedimentos pueden producir la contaminación de las rocas que jamás podrán ser remediadas. Por otra parte, la total ineficiencia del plan de contingencia y la falta de medidas de mitigación demuestran que el paso de dos oleoductos, el SOTE y el OCP, a ambos lados de la laguna de Papallacta, es totalmente irresponsable. El plan de contingencia utilizado para enfrentar el derrame ocurrido en esta área de importancia estratégica para Quito fue ineficiente, ya que luego de varias horas de ocurrido el derrame nada se hizo en el lugar de la rotura para detener el flujo de crudo que descendía por los ríos Sucos y Tambo hasta la laguna de Papallacta; la colocación de boyas en ella empezó más de 9 horas después de producirse el derrame, y sólo se contó con dos equipos de succión para la extracción del crudo (Weemaels N., 2003).

Estos hechos demuestran que por alta que sea la tecnología en la explotación petrolera, los riesgos de contaminación superan por mucho las expectativas esperadas. Los desastres naturales y aquellos provocados por el hombre, en nuestro país, tienen alta incidencia en el equilibrio del ecosistema. Los riesgos se incrementan aún más, debido a la manera irresponsable con que las compañías petroleras han realizado la explotación petrolera en la Amazonia (Vickers, W., 1989).

2.1.7. Técnicas de descontaminación del medio ambiente.

La biodegradación de hidrocarburos es una alternativa de descontaminación de suelos. Estos suelos contaminados pueden ser mejorados mediante la inoculación de bacterias autóctonas aisladas del mismo suelo. Las especies utilizadas para la recuperación de suelos desarrollan su metabolismo con el petróleo. En inicio, no están presentes en el suelo contaminado sino en una cantidad mínima. A través de nutrientes y condiciones físico-químicas propicias, los organismos se reproducen en grandes cantidades. El resultado final de un tratamiento de biodegradación depende en gran medida de la toxicidad y la concentración inicial de los contaminantes, su biodegradabilidad, las propiedades del suelo contaminado y el sistema de tratamiento seleccionado. Los contaminantes tratados habitualmente por estos métodos son compuestos orgánicos volátiles y semivolátiles no halogenados, y los derivados del petróleo como gasolina, diesel, etc. Cuando la contaminación incluye altas concentraciones de metales, compuestos orgánicos con alta proporción de cloro o sales inorgánicas, la eficacia del tratamiento se reduce debido a la toxicidad microbiológica de estos compuestos. La recuperación de un ambiente contaminado con hidrocarburos por medio de la bioremediación exige un adecuado estudio y caracterización de los microorganismos presentes (Olivera *et.al* 1997; Pucci, *et.al* 2000).

El fundamento bioquímico de la bioremediación se basa en la cadena respiratoria o transportadora de electrones de las células de los microorganismos. En ella se producen una serie de reacciones de óxido-reducción donde se libera energía suficiente para la formación de ATP. La cadena la inicia un sustrato orgánico, que en el caso de los microbios que hacen bioremediación, pertenecen a diferentes tipos de hidrocarburos, externo a la célula, y que actúa como donador de electrones. La actividad metabólica de la célula acaba degradando y consumiendo la sustancia orgánica, y por consiguiente, disminuye los niveles de hidrocarburos en el medio (Vickers, W., 1989).

Los aceptores de electrones más comunes y utilizados por los microorganismos son el oxígeno, los nitratos, el hierro, los sulfatos y el dióxido de carbono. Cuando el oxígeno es utilizado como aceptor de electrones la respiración microbiana se produce en condiciones aerobias, y los procesos de biodegradación serán de tipo aerobio. En cambio si utiliza los sulfatos o el dióxido de carbono, las condiciones son reductoras, y los procesos de biodegradación serán de tipo anaerobio (Alvarez y Pucci, 1993).

2.1.8. Bioremediación aplicada en el Ecuador.

Las petroleras ecuatorianas han empezado a preocuparse por la contaminación producida por explotación o también por derrames de petróleo que han ocurrido en el país. Las empresas estatales empezaron a estudiar tecnologías de bioremediación, con el fin de ser capaces de realizar la limpieza de los sitios afectados, de forma más eficiente. Como ejemplos de bioremediación dentro del país podemos citar la limpieza del sector Sacha realizado por el Proyecto PEPDA (Proyecto de Eliminación de Piscinas Contaminadas en el Distrito Amazónico) y Ecuavital, en la provincia de Orellana, y de la Laguna de Papallacta, en la provincia de Pichincha, respectivamente (Navas, *et al.*, 2008).

En el Campo Sacha, debido a la colonización que ha sufrido la amazonia ecuatoriana, todas estas piscinas se encuentran cerca de centros poblados, zonas agrícolas y ganaderas, propiedades privadas, etc., causando problemas ambientales mayores tales como contaminación del agua para consumo humano y de uso agropecuario, malos olores, infertilidad del suelo, afectación al paisaje por impacto visual negativo, pérdida de animales de granja, enfermedades de la piel, trastornos gástricos, cefaleas severas, aumento en la probabilidad del desarrollo de enfermedades cancerígenas, entre otras (Navas, *et al.*, 2008).

La metodología desarrollada por el PEPDA para la eliminación de Piscinas Contaminadas en el Distrito Amazónico consta de ocho etapas, con actividades específicas en cada una de ellas.

1. Recolección de desechos sólidos y tratamiento de agua
2. Succión y transporte de fluidos
3. Tratamiento y recuperación de crudo
4. Limpieza de suelo contaminado
5. Monitoreo de la descontaminación
6. Taponamiento y reconfiguración
7. Revegetación del área afectada
8. Certificación de eliminación de piscinas y documentación del proyecto

A partir de la cuarta etapa se empieza a realizar el trabajo en el laboratorio donde se busca disminuir la concentración de hidrocarburos totales de petróleo (TPH) mediante la utilización de técnicas biológicas en base a la acción de microorganismos para alcanzar los límites permisibles por la Reglamentación Ambiental Ecuatoriana (Navas, *et al.*, 2008).

Por otro lado la empresa Ecuavital remedió un área afectada aproximada de 7,2 hectáreas por un derrame con 22000 barriles de petróleo en la laguna de Papallacta, producto de la rotura del oleoducto transecuatoriano. Se descontaminaron riberas, sedimento, agua de ríos y de la laguna de Papallacta. Los hidrocarburos presentes en el agua fueron extraídos por skimming, adsorción, absorción y filtrado. Los sedimentos contaminados del fondo de la laguna, fueron extraídos por succión, deshidratados y transportados a estaciones de landfarming para su bioremediación utilizando microorganismos endémicos.

La limpieza y remediación incluyó el lecho de los ríos, rocas, riberas de la laguna de Papallacta, material vegetal y agua contaminada y redujo los niveles de hidrocarburos de petróleo en los suelos a menos de 1000 mg/L, en sedimentos de la laguna por debajo de 500 mg/L y en el agua de la laguna por debajo de 0,5 mg/L. Todos estos valores son los establecidos como límites permisibles para ecosistemas sensibles y agua para consumo humano. La remediación se realizó sin utilizar productos químicos o biológicos en los procesos de limpieza en el área del derrame en la laguna (Navas, *et al.*, 2008).

2.1.9. Microorganismos útiles en Bioremediación.

Existen más de 100 especies distribuidas en 30 géneros microbianos que son capaces de usar hidrocarburos. Los géneros de microorganismos más conocidos con capacidad biodegradadora son: *Achromobacter*, *Acinetobacter*, *Alcaligenes*, *Arthrobacter*, *Aspergillus*, *Bacillus*, *Brevibacterium*, *Candida*, *Corynebacterium*, *Flavobacterium*, *Fusarium*, *Micrococcus*, *Mucor*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Penicillium*, *Pseudomonas*, *Rhodococcus*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Stenotrophomonas*, *Vibrio* (Pucci, *et.al*, 1998; Peressutti, 2000).

A nivel de microcosmos en condiciones de laboratorio se han realizado ensayos en diferentes escalas, 0.25 Kg en frascos, microcosmos de 3 Kg en bandejas, y parcelas de 50 Kg de suelo, todos expuestos a las condiciones de contaminación por hidrocarburos. Para ello las muestras de suelo contaminado se toman de la capa superficial, hasta los 20 cm de profundidad. Los ensayos de contaminación aguda se han realizado utilizando suelos de las mismas áreas y contaminándolos con diferentes hidrocarburos puros o mezclas complejas según el objetivo de

cada ensayo. En los sistemas con biomagnificación, se utilizan como inóculo, cepas y consorcios bacterianos aislados de suelos con historia de contaminación con hidrocarburos, en ensayos realizados se han usado cepas como *Rhodococcus*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Stenotrophomonas* y *Pseudomonas*. Estas cepas y consorcios tienen capacidad para utilizar distintos hidrocarburos alifáticos y aromáticos como única fuente de carbono y energía (Margesin y Schinner, 1997).

2.1.10. Aislamiento de microorganismos biodegradadores de hidrocarburos.

Los microorganismos que hacen bioremediación necesitan medios de cultivo específicos que permitan su aislamiento a partir de muestras medioambientales contaminadas con hidrocarburos. Dentro de ellos se puede mencionar la necesidad de nutrientes, en donde debido al metabolismo de los microorganismos, se necesita proveer nitrógeno y fósforo, en una proporción 100:10:1, en relación al carbono (C:N:P). El pH es otro factor importante a considerar. Para favorecer un mayor crecimiento de microorganismos, el pH estimado debe estar situado en un intervalo de 6-8. El pH afecta la solubilidad del fósforo y el transporte de los metales pesados. Finalmente, la temperatura de crecimiento de estos microorganismos debe encontrarse en un rango entre los 15 a 40°C. Temperaturas superiores a los 45 °C disminuyen la biodegradación debido a la desnaturalización de las enzimas dentro de la célula, mientras que temperaturas inferiores a 10°C, inhiben la acción de las enzimas al disminuir la velocidad de reacción de las mismas (Plaza, 2001).

Estudios realizados por Beloso y Carrario en Argentina (1999), comprobaron que las colonias que crecían en medio sólido con hidrocarburo (n-hexadecano), también podían crecer con un extracto etéreo obtenido de suelo contaminado. Tomaron al azar 12 colonias de las obtenidas y las sembraron en 12 tubos conteniendo Caldo Bushnell – Haas con indicador resazurina y con el extracto de suelo como única fuente de carbono. Sembraron paralelamente tubos testigos que contenían la cepa aislada en Bushnell - Haas con el indicador sin fuente de carbono. Incubaron los tubos durante cinco días a 30°C, en 7 de los 12 tubos observaron el viraje del indicador, mientras que en los 12 tubos testigo no detectaron cambio alguno del indicador. De los 7 tubos positivos se aisló nuevamente en Agar Bushnell - Haas con el extracto de suelo como única fuente de carbono. Al cabo de 7 días de incubación a 30°C aparecieron las colonias en las 7 placas. Mediante un Kit de identificación (API 20E) observaron solo una de las siete cepas aisladas, la cual correspondió a *Pseudomonas aeruginosa*. Las seis cepas restantes las estudiaron mediante 38 reacciones bioquímicas, no pudiéndose lograr finalmente su

identificación. Aproximadamente un 60% de las cepas aisladas que crecen con n-hexadecano como única fuente de carbono también lo hacen con el extracto de suelo, dichas bacterias podrían utilizarse para degradar hidrocarburos en suelos una vez propagadas en laboratorio y luego inoculadas (Belloso y Carrario, 2000).

2.1.11. Vías metabólicas usadas por bacterias biodegradadoras de petróleo.

El proceso de metabolismo microbiano consiste en la transferencia de electrones desde un sustrato donador hacia un sustrato receptor. Para la bacteria, el donador de electrones primarios será uno de entre varios compuestos orgánicos contaminantes y los receptores de electrones primarios normalmente son O_2 , NO_3^- , NO_2^- ó CO_2 . Así, la cadena inicia con un sustrato orgánico que es externo a la célula y que actúa como dador de electrones (Figura 1), de modo que la actividad metabólica de la célula acaba degradando y consumiendo dicha sustancia (Montenegro, 2007).

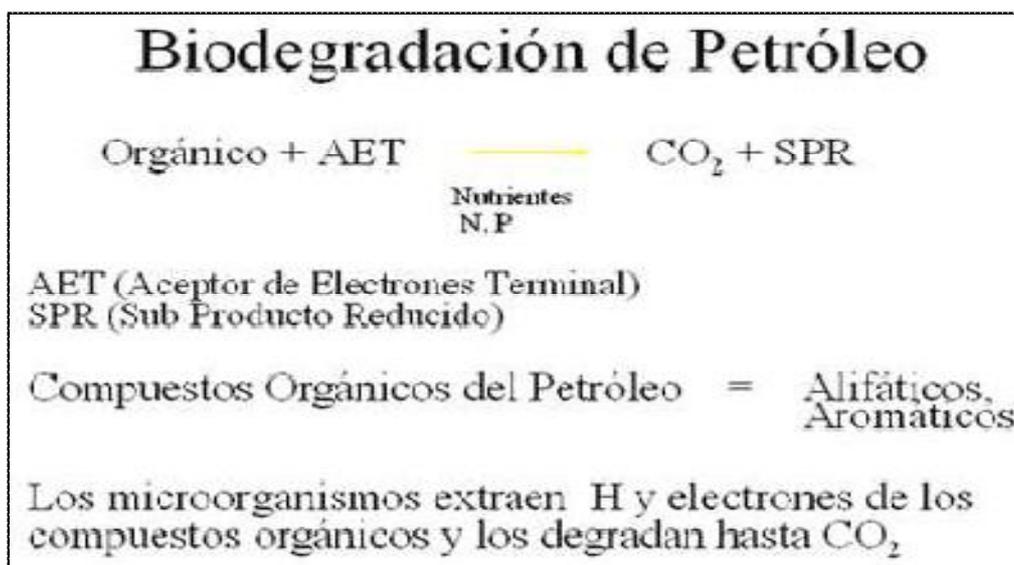


Figura 1. Acción metabólica de las bacterias biodegradadoras de petróleo (Montenegro, 2007).

El metabolismo microbiano está orientado a la reproducción de los organismos, para lo cual se requieren nutrientes químicos disponibles para su asimilación y síntesis; siendo indispensables el fósforo y el nitrógeno, por lo general el suelo provee de estos elementos, en la concentración necesaria para la proliferación bacteriana; sin embargo, si estos no se encontrasen en niveles óptimos se debe adicionar mayor cantidad al medio (Montenegro, 2007).

Los microorganismos quimioorganotróficos son los encargados de utilizar compuestos naturales y xenobióticos (órgano-contaminantes) como fuente de carbono y donadores de electrones para la generación de energía. Si bien muchas bacterias son capaces de degradar compuestos

orgánicos, muy pocas son las que pueden degradar todo o la mayoría del compuesto. Sin embargo, las asociaciones microbianas presentan un mayor poder biodegradativo ya que es necesario más de un microorganismo y la intervención de una gran variedad de enzimas extracelulares para degradar la mezcla del contaminante hidrocarbúfero de un área (Verdezoto y Soria, 2008).

Los microorganismos que intervienen en la bioremediación poseen enzimas como: peroxidasas y oxigenasas, que permiten la oxidación del petróleo la misma que cambia las propiedades de los compuestos haciéndolos susceptibles a ataques secundarios (Figura 2), facilitando su conversión a dióxido de carbono y agua (Montenegro, 2007).

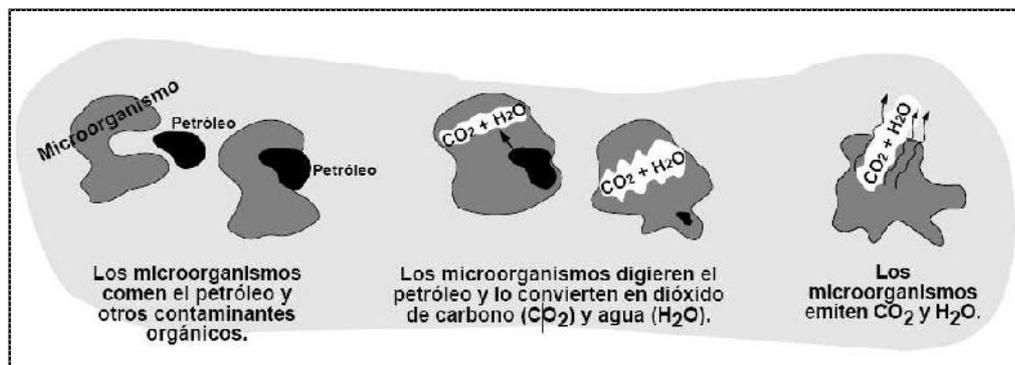


Figura.2 Acción de las bacterias como degradadoras de petróleo en compuestos más simples (Montenegro, 2007)

La degradación de hidrocarburos por acción bacteriana se basa en una serie de reacciones de oxido-reducción cuyo fin es la obtención de energía, a través de la cadena respiratoria o transportadora de electrones (Montenegro, 2007).

La degradación, altera la estructura molecular de los compuestos orgánicos lo que determina si se ha producido biotransformación o mineralización. El término biotransformación implica la descomposición de un compuesto orgánico en otro similar, en tanto que la mineralización (Figura 3), involucra una transformación total de las moléculas orgánicas en dióxido de carbono, agua, y residuos inorgánicos inertes (Montenegro, 2007).



Figura 3. Principios de la mineralización (Montenegro, 2007).

Si bien la degradación de aquellos compuestos orgánicos que actúan como entes contaminadores puede darse tanto bajo condiciones aerobias como anaerobias, la más rápida y completa degradación se logra bajo condiciones aerobias. La biodegradación de compuestos orgánicos bajo condiciones aeróbicas (Figura 4), ocurre cuando la bacteria cataliza la ruptura de moléculas en un ambiente oxigenado, obteniendo de esta manera energía química, absolutamente necesaria para los procesos metabólicos de la célula (Verdezoto y Soria, 2008).

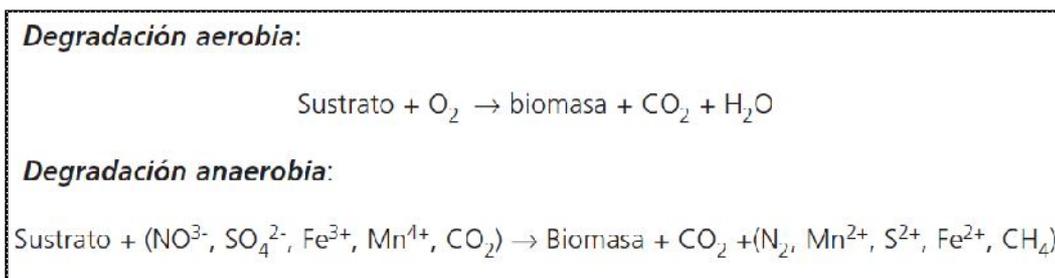


Figura 4. Reacciones de degradación en medio aerobio y medio anaerobio (Verdezoto y Soria, 2008).

Para que se produzca la degradación del sustrato, este tiene que entrar en contacto con la parte externa de la célula bacteriana. Acción que desencadena una serie de procesos metabólicos involucrados en la degradación de los residuos orgánicos. Tras el contacto de la bacteria con el sustrato, las enzimas extracelulares se encargan de formar complejos con las moléculas del sustrato. Estos complejos son los que permiten al sustrato atravesar la pared celular. Una vez en el interior de la célula, son las enzimas intracelulares las que formaran complejos con el sustrato para catalizar otras reacciones encaminadas a la obtención de energía y producción de nuevo material celular (Verdezoto & Soria, 2008).

Para que los microorganismos puedan degradar los alcanos (Figura 5), primero deben oxidar el último carbono de la molécula gracias a un complejo multienzimático que no hace más que incorporar una molécula de oxígeno (Montenegro, 2007). Frecuentemente este ataque inicial se realiza sobre un grupo metil terminal, formando un alcohol secundario que, a su vez, se oxida posteriormente a un aldehído y finalmente a un ácido graso. Así, este ataque de los alcanos lo realizan monooxigenasas y dioxigenasas, las cuales presentan una necesidad estricta de oxígeno molecular. En el primer caso, vale decir para la monooxigenasa, un átomo de O_2 se incorpora al alcano, produciendo un alcohol primario. El otro se reduce a H_2O , y la forma reducida del fosfato, el (NADPH_2) actúa como donador de electrones. Para el caso de la dioxigenasa, los dos átomos de oxígeno se integran en la molécula de alcano, produciendo un intermediario hidroperóxido inestable, que se reduce a continuación mediante el NADPH_2 a un

alcohol y H₂O. Así se obtiene un hidrocarburo con un grupo alcohol, convirtiéndose en una molécula más reactiva. Mediante otras enzimas, este grupo alcohol se oxida aun más hasta la formación de un grupo aldehído y finalmente carboxilo. Así se obtiene finalmente una molécula similar a un ácido graso y puede ser degradado a acetil-CoA por beta oxidación. Este proceso de oxidación, también puede darse en carbonos no terminales dando lugar a dos ácidos grasos que se procesaran por beta oxidación (Verdezoto & Soria, 2008).

Mediante rutas metabólicas periféricas de degradación, el contaminante orgánico es convertido paso a paso en compuestos intermedios (metabolismo intermedio) necesarios para la biosíntesis de células o biomasa (Montenegro, 2007).

Para el caso del ácido graso formado como producto final, el catabolismo de la molécula continua mediante la secuencia de la β-oxidación. Reacción que reduce la longitud del ácido graso en dos átomos de carbono; las unidades de AcetilCoA se convierten en CO₂ a través del ciclo tricarboxílico. De esta forma, los productos finales de la degradación de los hidrocarburos son CO₂ y H₂O (Verdezoto & Soria, 2008)

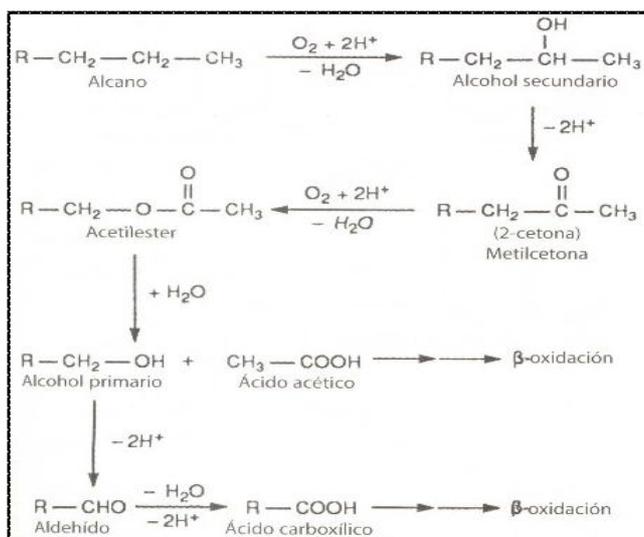


Figura 5. Reacciones metabólicas (Montenegro, 2007).

2.2. Fundamentación Filosófica.

El presente trabajo tiene un sustento filosófico en la Dialéctica, por ser un tema eminentemente científico.

Es análisis porque permite desglosar las partes del tema investigativo y someterlo al crisol de la ciencia. Es sintético por cuanto se abstrae el conocimiento para poder llegar a generalizaciones.

Es inductivo porque vamos de lo particular a lo general en el proceso de investigación; y por último es deductivo por cuanto en algunas etapas de la investigación hemos iniciado de lo general a lo particular (Olivera *et.al* 1997).

2.3. Fundamentación Legal

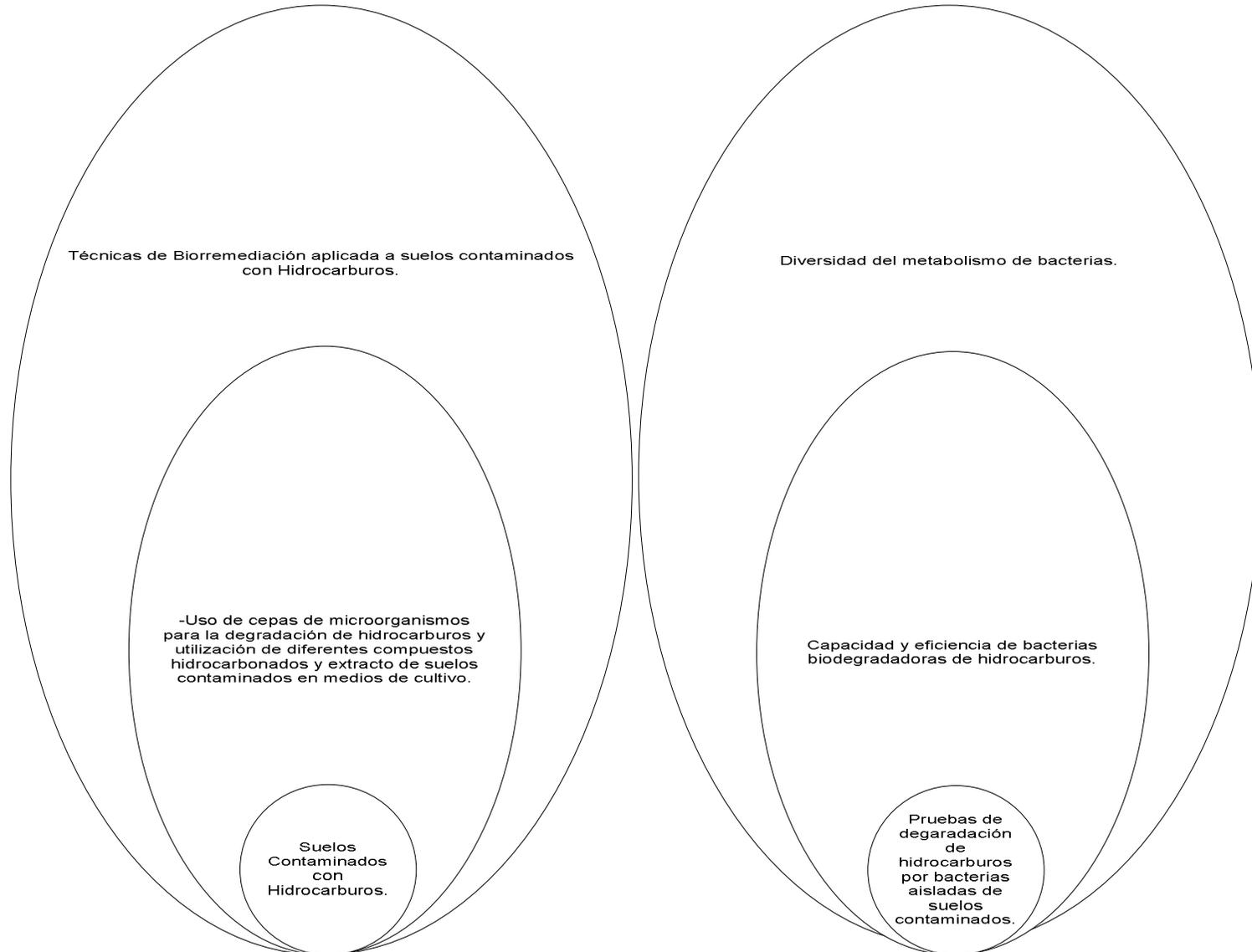
Ley para la conservación y uso sustentable de la biodiversidad

Del objeto de la ley: Art.1. La Ley para la Conservación y Uso Sustentable de la Biodiversidad tiene por objeto proteger, conservar, restaurar la biodiversidad y regular e impulsar su utilización sustentable; establece los principios generales y normas para la conservación y uso sustentable de la biodiversidad y sus servicios, el acceso a los recursos genéticos, la bioseguridad, la rehabilitación y restauración de ecosistemas degradados y la recuperación de especies amenazadas de extinción, y los mecanismos de protección de los derechos sobre la biodiversidad en materia administrativa, civil y penal.

2.4. Categorías fundamentales

(Ver página siguiente)

Categorías Fundamentales



2.5 Hipótesis

2.5.1. Hipótesis nula

- Bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo no tienen capacidad biodegradadora de hidrocarburos.

2.5.2. Hipótesis alternante

- Algunas bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo tienen capacidad biodegradadora de hidrocarburos.

2.6 Señalamiento de variables de las hipótesis

- Purificación de cepas de bacterias aisladas de sitios contaminados con petróleo.
- Caracterización macroscópica y microscópica de los aislamientos.
- Pruebas de degradación de hidrocarburos en medios de cultivo enriquecidos con: petróleo, gasolina, diesel.
- Pruebas de degradación de hidrocarburos en medios de cultivo enriquecidos con suelos contaminados con TPHs.
- Pruebas de crecimiento relacionado a temperatura.
- Pruebas de crecimiento relacionado a pH.

CAPITULO III

METODOLOGIA

3.1. Enfoque

La investigación tendrá un enfoque predominantemente cuantitativo.

3.2. Modalidad básica de la investigación

Experimental

3.3. Nivel o tipo de investigación

Básica exploratoria

3.4. Población y muestra

En el presente estudio se utilizaron 81 bacterias aisladas a partir de suelos contaminados con petróleo. Los cultivos fueron recibidos en forma de suspensiones de células en glicerol, de la Colección de Cultivos del Departamento de Ciencias Biológicas de la ESPOCH.

3.5. Operacionalización de variables

(Ver Página siguiente).

3.6. Recolección de Información

3.6.1. Recuperación, purificación y almacenamiento de las bacterias.

Noventa cepas de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo fueron recibidas como suspensiones de células en glicerol al 20% (w/v). Posteriormente, 20 uL de cada una fueron inoculados en cajas tetrapetri que contenían agar nutritivo, y cultivados mediante estría simple. Los platos fueron incubados a 28°C por 5 días. Una vez comprobado el crecimiento de cada bacteria se realizó un repique en cajas Petri que contenían agar nutritivo, mediante estría compuesta. Los platos sembrados fueron incubados a 28°C por 5 días. Aquellos que luego del período de incubación presentaron características de cultivo puro, fueron etiquetados y posteriormente almacenados en tubos plásticos que contenían 1 mililitro de glicerol al 20% (w/v) y almacenados a -10°C en un congelador, para su preservación a largo plazo. Al mismo tiempo se preparó un stock de células en tubos plásticos con 700 microlitros de agua de llave estéril, los cuales fueron almacenados a 4°C en un refrigerador. Estos últimos fueron usados para los diferentes experimentos desarrollados en el presente estudio. Aquellos que se encontraron contaminados, fueron repicados las veces necesarias hasta obtener cultivo puro.

Operacionalización de Variables

HIPOTESIS	VARIABLE	CONCEPTO	INDICADORES	INDICES	INSTRUMENTOS
Algunas bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo tienen capacidad biodegradadora de hidrocarburos.	Dependiente	Metabolismo degradador de cada una de las bacterias aisladas.	Identificación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos	Número de bacterias con capacidad biodegradadora	Microsoft Excel, software estadístico
	Independientes	Características fenotípicas como producto de la expresión visible de los genes de cada individuo.	Características macroscópicas	Coloración del reverso de la colonia, micelio aéreo y cualquier producción de pigmento difusible	Tabla de colores Microsoft Excel.
			Características microscópicas	Tipo de morfología de las estructuras reproductivas Posible género de hongo	Microscopio
		Crecimiento en las distintas fuentes de carbono (hidrocarburos)	Rango de crecimiento de acuerdo a temperatura y pH Presencia de crecimiento y utilización evidente de hidrocarburos para el crecimiento	Valores de pH y materia orgánica Diámetro de la zona de inhibición en milímetros	Balanza analítica pHmetro Incubadores Regla. Software estadístico.

3.6.2. Determinación del uso de KNO_3 como fuente única de nitrógeno.

Se preparó un medio de cultivo basal, compuesto por glucosa (4 g/l), solución de sales traza (100 mg/ml), (Anexo D), fosfato ácido de potasio (K_2HPO_4 , 4 g/l), agar (15 g/l) y nitrato de potasio (KNO_3 , 2 g/l). Posteriormente se inocularon 5 μl de las suspensiones de células previamente preparadas, sobre la superficie del medio. Los platos inoculados fueron incubados a una temperatura de 28°C durante 5 días. Transcurrido el tiempo de incubación se evaluaron las cajas para observar la presencia de crecimiento, el que fue evaluado mediante código binario. La presencia de crecimiento, fue evaluado como 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0. El objetivo fue comprobar si las bacterias usaron el nitrógeno del KNO_3 para su crecimiento, ya que los medios de cultivo para la determinación de la biodegradación fueron suplementados con KNO_3 como única fuente de nitrógeno. Por ello, las bacterias que no crecieron fueron excluidas de las pruebas de degradación con hidrocarburos y extractos de suelos contaminados con TPHs.

3.6.3. Caracterización macroscópica de los aislamientos.

Los cultivos puros obtenidos se agruparon de acuerdo a la coloración y morfología de las colonias. Para la determinación del color de la colonia se utilizó una tabla estándar de colores del British Standard Specification for colours for identification coding and special purposes (Anexo E). Las características generales fueron descritas de acuerdo a las características que se muestran en la Figura 6, relacionadas a la forma, elevación y margen de las colonias que cada bacteria presentó en medio basal con KNO_3 .

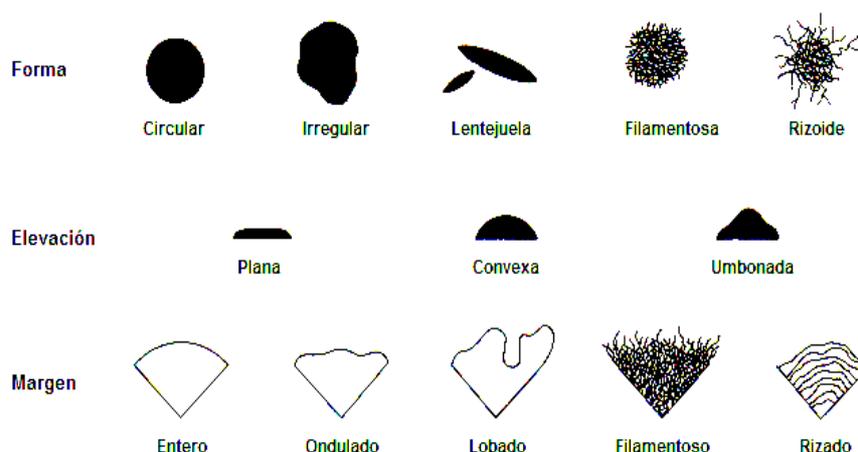


Figura 6. Descripción morfológica de colonias bacterianas de acuerdo a la forma, elevación y margen.

3.6.4. Caracterización microscópica.

Los cultivos puros de las bacterias fueron usados para preparar frotis que fueron observados bajo el microscopio. Se realizó la preparación del frotis tomando 1 gota de agua destilada en el centro del portaobjetos, luego con el asa de transferencia estéril se tomó una pequeña cantidad de muestra y se la mezcló con la gota de agua, teniendo cuidado de no tomar muestra en exceso, el portaobjetos se secó a temperatura ambiente por 5 minutos antes de realizar la fijación con calor con la ayuda de un mechero.

3.6.4.1 Tinción de Gram.

El frotis de cada microbio fue teñido por 1 minuto con violeta de cristal, para luego proceder a lavar con agua destilada. Posteriormente, se cubrió con una solución de lugol durante 1 minuto y nuevamente se lavó con agua destilada. Luego con alcohol al 95% se cubrió el frotis por 10 segundos, para finalmente colocar safranina durante 20 segundos. El exceso de colorante fue lavado con agua destilada. Todos los portaobjetos teñidos fueron secados a temperatura ambiente, antes de la observación bajo el microscopio usando el lente de mayor aumento. Células teñidas de morado fueron identificadas como gram positivas, en cambio, aquellas teñidas de rojo se las consideró como gram negativas.

3.6.4.2 Tinción de Endosporas.

Se preparó el frotis con cada una de las bacterias y se fijó sobre la llama del mechero, se colocó el portaobjetos sobre una rejilla con agua hirviendo, todos los portaobjetos fueron teñidos con verde malaquita sin que se evapore el colorante durante 10 minutos, luego se lavó con agua destilada para dar contraste con safranina durante 30 minutos, luego se lavó con agua destilada y se secó a temperatura ambiente, cada placa se observó al microscopio con el lente de mayor aumento. La presencia de endosporas se determinó al notar esporas en el centro de la célula bacteriana o en partes cerca del extremo de la misma.

3.6.4.3 Tinción de Cápsulas.

Se preparó el frotis, fue teñido con cristal violeta por 2 minutos para luego proceder a lavar el exceso de colorante con una solución de sulfato de cobre al 20% (p/v), y agua destilada. Cada placa preparada se secó al medio ambiente antes de observar al microscopio con el lente de

inmersión. La presencia de cápsula se determinó mediante la observación de una capa transparente rodeando la célula bacteriana teñida de púrpura.

3.6.5. Determinación del crecimiento de la capacidad degradadora de hidrocarburos.

Para la determinación de la capacidad degradadora se preparó un medio de cultivo enriquecido con petróleo, gasolina, y diesel. La descripción detallada para la preparación de cada uno de los medios se presenta en el Anexo D. Además se usaron dos medios cuya composición fue solamente extracto de suelo, sales traza y agar. Los suelos usados para la preparación del extracto contenían diferentes valores de TPHs. Los valores determinados por LABSU (Laboratorio de Suelos Aguas y Plantas, Coca-Orellana-Ecuador), fueron de 31000 ppm TPH para suelo arcilloso y 46000 ppm TPH para suelo arenoso. Las dos muestras reportan los valores en relación a base seca. Una vez preparadas las cajas petri que contenían los diferentes medios de cultivo, se procedió a inocular 5 µl de las suspensiones de células previamente preparadas. Los platos inoculados fueron incubados a una temperatura de 28°C durante un mes, y se realizaron evaluaciones periódicas cada cinco días. Se observó la presencia de crecimiento el que fue evaluado mediante código binario. Si presentó crecimiento, se asignó 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0. También se midió el diámetro polar y ecuatorial de la colonia, en milímetros, y el diámetro de degradación, en milímetros, en caso de presentarse.

3.6.6. Pruebas fisiológicas de crecimiento.

Solamente se seleccionaron al azar, veinte y cuatro cultivos bacterianos, los que fueron usados para la realización de las pruebas fisiológicas de crecimiento en relación a diferentes condiciones de pH y temperatura.

3.6.6.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura.

Se inocularon 5 µl de las suspensiones de células previamente preparadas, sobre la superficie agar nutritivo. Los platos inoculados fueron incubados a una temperatura de 50°C, 37°C y 4°C durante 2, 4 y 7 días, respectivamente. Transcurrido el tiempo de incubación se observó el crecimiento el que fue evaluado mediante código binario. Presencia de crecimiento, fue asignado como 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0.

3.6.6.2. Rango de crecimiento en función del pH.

Se inocularon 5 µl de las suspensiones de células previamente preparadas, sobre la superficie de agar nutritivo, a pH 3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 8.5, y 9.5. El pH fue ajustado con la ayuda de sistemas de búferes para así evitar cambios en el pH debido al metabolismo de los microorganismos (Anexo D). Las cajas se incubaron a 28°C durante 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación se observó su crecimiento, evaluándose mediante código binario.

Presencia de crecimiento, fue asignado como 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0.

3.7. Procesamiento y análisis.

3.7.1. Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos.

Se midió el diámetro polar y ecuatorial de la colonia, en milímetros. También se procedió a determinar el diámetro de degradación, en casos en donde éste sea evidente.

3.7.2. Diseño experimental.

Se realizó un diseño experimental AxB con dos repeticiones. El factor A estuvo relacionado a las diferentes cepas bacterianas, mientras que el factor B constituyó los diferentes hidrocarburos usados en los medios de cultivo, y los medios con los dos extractos de suelo. El número final de tratamientos se determinó solamente con aquellas bacterias que crecieron sobre los diferentes medios. Los parámetros evaluados fueron la presencia de crecimiento, el diámetro de la colonia, y el diámetro del halo de utilización, en caso de existir.

Factor A.

Setenta y un cultivos bacterianos aislados de suelos contaminados con petróleo.

Factor B.

B1 = Petróleo

B2 = Gasolina

B3 = Diesel

B4 = Extracto de Suelo Arenoso

B5 = Extracto de Suelo Arcilloso

El número final de tratamientos se determinó solamente con aquellas bacterias que crecieron sobre los diferentes medios, y se reportan en la Tabla A16 (Anexo A).

Los datos fueron analizados con, el programa estadístico MSTATC en el cual se determinó el análisis de varianza cuyo esquema se reporta en la Tabla 1. En los casos en que el análisis de varianza mostró diferencias significativas, se realizó la separación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia.

Tabla 1. Esquema del análisis de varianza

Fuente de variación	Grados de libertad
Factor A	$a - 1$
Factor B	$b - 1$
Interacción AB	$(a - 1)(b - 1)$
Error	$ab(r - 1)$
Total	$ab r - 1$

Factor A = El número de tratamientos se decidirá en función del número de bacterias que presenten actividad biodegradadora.

Factor B = El número de tratamientos serán los medios de cultivo enriquecidos con hidrocarburos.

3.7.3. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.

Con los resultados de la Tabla A18 (Anexo A), de las pruebas fenotípicas relacionada a las características macroscópicas y microscópicas, crecimiento en diferentes valores de pH y temperatura, y los niveles observados luego de realizar la prueba de Tukey, con la medias del crecimiento bacteriano a los 30 días, de los veinte cuatro cultivos bacterianos escogidos al azar, se construyó una base de datos, en código binario, con el número de pruebas o características estudiadas. La información fue procesada con el software estadístico NTSys, en el que primeramente se calcularon los porcentajes de similaridad entre las bacterias estudiadas, usando el coeficiente de simple coincidencia (S_{SM}). Finalmente los porcentajes fueron utilizados para construir un dendrograma mediante el uso del algoritmo UPGMA (Unweighted Pair Group Method with Arithmetic Means) del mismo programa. Una vez obtenido éste gráfico, se identificó los grupos especie basados en un coeficiente de similaridad mayor al 85%.

CAPITULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

4.1. Análisis de los Resultados.

4.1.1. Recuperación, purificación y almacenamiento de las bacterias.

De los noventa cultivos recibidos, solamente ochenta y un bacterias fueron recuperadas, purificadas y almacenadas. Solo nueve cepas fueron excluidas del estudio porque no se logro recuperarlas desde los stocks recibidos.

4.1.2. Determinación del uso de KNO_3 como fuente única de nitrógeno.

A partir de la recuperación, purificación y almacenamiento de ochenta y un bacterias, en la Tabla A1 (Anexo A), se muestra los resultados de crecimiento sobre el medio con nitrato de potasio (KNO_3) como única fuente de nitrógeno. Se obtuvieron setenta y un bacterias con resultados positivos para ser sometidas tanto a pruebas de caracterización fenotípica como a pruebas de degradación. Solamente diez bacterias de las ochenta y uno del stock inicial no presentaron crecimiento por lo cual fueron descartadas del presente estudio. El crecimiento fue evaluado mediante código binario.

4.1.3. Caracterización fenotípica.

4.1.3.1. Caracterización macroscópica.

En la Tabla A2 (Anexo A), se muestra la caracterización macroscópica de las setenta y un bacterias utilizadas en el estudio. Se obtuvieron tres colores diferentes en las colonias formadas, el color crema (deep cream 353) fue el predominante con cuarenta y dos bacterias, veinte bacterias color amarillo (golden yellow 356) y nueve bacterias color blanco (white), Figura C1 (Anexo C), para realizar esta determinación se utilizó la tabla de colores (Anexo F). En cuanto a la descripción morfológica de las colonias bacterianas según su forma se obtuvo cincuenta y seis bacterias con forma circular de la colonia, y quince bacterias con forma irregular como se muestra en la Figura C2 (Anexo C). De acuerdo a la elevación de la colonia se registraron, cuarenta y dos bacterias con elevación plana y veinte y nueve bacterias con elevación convexa

como muestra la Figura C3 (Anexo C). Según el margen de la colonia se encuentran cincuenta y un bacterias con margen entero, seis bacterias con margen lobado y catorce bacterias con margen ondulado como se aprecia en la Figura C4 (Anexo C). Para realizar esta descripción se utilizo la tabla de características morfológicas de colonias bacterianas.

4.1.3.2. Caracterización microscópica.

La Figura C5 (Anexo C), muestra los resultados de la caracterización microscópica para las setenta y un bacterias utilizadas en el estudio, obteniendo sesenta y nueve bacterias en forma de bacilos y dos bacterias en forma de cocos observadas bajo el microscopio. En la Figura C6 (Anexo C) se observan los resultados de las tinciones, cinco bacterias Gram positivas, sesenta y seis bacterias Gram negativas, la Figura C7 (Anexo C) muestra los resultados de diez y nueve bacterias con presencia de capsula y cincuenta y dos bacterias con ausencia de capsula. Las cinco bacterias con resultado positivo en la tinción de Gram (Código AX: 03-64-65-80-86) fueron sometidas a tinción de endosporas sin lograr resultados positivos. El resultado positivo o negativo de estas pruebas fue evaluado mediante código binario como se muestra en la Tabla A3 (Anexo A).

4.1.4. Determinación del crecimiento de la capacidad degradadora de hidrocarburos.

En la determinación del crecimiento de la capacidad degradadora de hidrocarburos se muestra los recuentos periódicos realizados cada cinco días durante un mes de incubación a 28°C de temperatura de las setenta y un bacterias biodegradadoras en cada uno de los medios enriquecidos con hidrocarburos utilizados en la investigación. En la Tabla A4 (Anexo A), se presentan los diámetros de crecimiento con su repetición expresadas en milímetros de las bacterias inoculadas en los diferentes medios de cultivo enriquecidos con petróleo. En la Tabla A5 (Anexo A) se muestran los diámetros en medio enriquecido con gasolina, y en la Tabla A6 (Anexo A) los resultados en medio diesel.

La Tabla A7 (Anexo A), muestra los diámetros de crecimiento en medio con petróleo de los halos de degradación de trece bacterias del total de microorganismos utilizados que presentaron esta característica. La Tabla A8 (Anexo A) muestra los resultados de los diámetros en medio con gasolina de los halos de degradación, la Tabla A9 (Anexo A) muestra los resultados obtenidos en medio enriquecido con diesel.

La Tabla A10 (Anexo A), muestra los promedios en milímetros de los diámetros de crecimiento de las setenta y un bacterias incubadas a 28°C en los medios con extracto de suelo arenoso. La Tabla A11 (Anexo A) muestra los diámetros en el medio agar extracto de suelo arcilloso, datos obtenidos tras el recuento periódico tomado cada cinco días durante un mes.

La Tabla A12 (Anexo A), muestra los diámetros en milímetros obtenidos luego de la medición de los halos de degradación formados por las trece de las setenta y un bacterias inoculadas en el medio de extracto de suelo arenoso. En la Tabla A13 (Anexo A), se encuentran los diámetros de los halos de degradación en el agar extracto de suelo arcilloso, cabe recalcar que la formación de halos de degradación tanto en los medios con hidrocarburos y medios con extracto de suelos fueron observados y medidos a partir de los diez días de incubación.

4.1.5. Pruebas fisiológicas de crecimiento

4.1.5.1. Rango de crecimiento en función de la temperatura.

La Tabla A14 (Anexo A), muestra los resultados del rango de crecimiento en función de la temperatura de veinte y cuatro bacterias de los setenta y un microorganismos utilizados en el estudio, se debe anotar que las veinte y cuatro bacterias usadas en pruebas de temperatura fueron escogidas como representantes por tener mejor crecimiento y formar halos de degradación. En la Figura C8 (Anexo C), se observa el rango de crecimiento de las bacterias a los dos días de incubación en agar nutritivo a diferentes temperaturas, los veinte y cuatro cultivos crecieron a 37°C, mientras que doce bacterias lo hicieron a 50°C, y solamente tres crecieron a 4°C de temperatura. La Figura C9 (Anexo C), muestra el rango de crecimiento bacteriano luego de cuatro días de incubación, donde los veinte y cuatro cultivos crecen a los 37 °C de temperatura, catorce bacterias crecen a 50°C, mientras que siete microorganismos lo hacen a 4°C de temperatura. En la Figura C10 (Anexo C), se muestra el rango de crecimiento de los organismos a los siete días de incubación a las diferentes temperaturas, obteniendo como resultado, veinte y cuatro cultivos a 37°C, quince bacterias a 50°C y doce microorganismos crecieron a 4°C de temperatura.

4.1.5.2. Rango de crecimiento en función del pH.

De acuerdo a los resultados que se muestran en la Tabla A14 (Anexo A), se determinó que las veinte y cuatro bacterias presentan un rango de pH para su crecimiento entre 5,5 - 6,5 hasta 7,5.

Solamente cuatro bacterias no crecen a pH 4,5 como se muestra en la Figura C11 (Anexo C). No se observó crecimiento a los valores de pH 3,5 – 8,5 y 9,5, debido a que los suelos destinados a bioremediación no se encuentran a rangos de pH muy ácidos y básicos.

4.1.6. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.

El dendrograma basado en la similaridad entre los microorganismos se muestra en la Figura C12 (Anexo C). Las veinte y cuatro bacterias estudiadas formaron 18 grupos especie, de los cuales, cuatro presentaron más de un miembro. El grupo 15 es el más numeroso con cuatro miembros Tabla 15 (Anexo A). El resto de grupos están formados por un solo miembro. Es importante notar que los grupos 8, 9, 10, 11, 12, 17 y 18 representan a las bacterias con los mejores diámetros de crecimiento a los 30 días.

4.1.7. Análisis estadístico de las pruebas de utilización de hidrocarburos.

Todas las setenta y un bacterias mostraron crecimiento en los diferentes medios de cultivo enriquecidos con hidrocarburos como petróleo, gasolina, diesel, de igual manera en los medios con extracto de suelo contaminado con TPHs, por lo tanto todas fueron tomadas para el análisis estadístico de los resultados. La codificación usada en el análisis estadístico se muestra en la Tabla A16 (Anexo A). Por otro lado, trece bacterias de setenta y uno utilizadas en el estudio formaron halos de degradación. Los códigos usados en el análisis estadístico se muestran en la Tabla A17 (Anexo A).

4.1.7.1. Diámetro de crecimiento de la colonia a los cinco días de incubación.

El análisis de varianza de la Tabla B1 (Anexo B), mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos A y B, y para la interacción AB a los cinco días de incubación. La separación de medias por la prueba de Tukey al 5%, dividió a los tratamientos del factor A (bacterias) en 12 niveles Tabla B2 (Anexo B). Los tratamientos 34 (AX 43), 32 (AX 41) del factor A obtuvieron mejor crecimiento a los cinco días de incubación con 5.25 mm de diámetro, el tratamiento 38 (AX 48) produjo el menor diámetro de crecimiento con 3.75 mm.

La separación de medias por Tukey para el factor B (medios de cultivo), lo divide en 5 niveles Tabla B3 (Anexo B), el tratamiento 4 (agar extracto de suelo arenoso) se considera el mejor medio de incubación con 6.53873 mm, el tratamiento 1 (medio petróleo) es considerado como deficiente con 3.38 mm.

Para la interacción AB Tabla B4 (Anexo B), el tratamiento (a52b4), que corresponde a la bacteria AX 67, crecida en el medio agar extracto de suelo arenoso presentó el mejor crecimiento con 9.25 mm de diámetro y la interacción a68b2 (AX 85 medio gasolina) solo mostró 2 mm de diámetro.

4.1.7.2. Diámetro de crecimiento de la colonia a los diez días de incubación.

El análisis de varianza en la Tabla B5 (Anexo B), mostró diferencias altamente significativas entre los factores A y B y para la interacción AB. La separación de medias por la prueba de Tukey al 5%, dividió a los tratamientos del factor A en 20 niveles (Tabla B6; Anexo B), el tratamiento 68 (AX 85), tiene el mejor crecimiento con 6.7 mm de diámetro, en cambio el tratamiento 38 (AX 48), produjo el menor diámetro de crecimiento con 4.3 mm.

La Tabla B7 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para el factor B dividiéndolo en cuatro niveles, el tratamiento 4 (agar extracto de suelo arenoso) se consideró como eficiente con 7.87 mm de diámetro, en cambio el tratamiento 1 (medio petróleo) se consideró como medio de cultivo deficiente con 4.24 mm.

La Tabla B8 (Anexo B), muestra los diámetros promedio de la interacción AB, considerando como mejor tratamiento a la interacción a52b4 (AX 67; agar extracto de suelo arenoso) con 11,75 mm de diámetro de crecimiento, y la interacción a38b1 (AX 48: medio petróleo) se determinó como tratamiento deficiente con 2.75 mm.

4.1.7.3. Diámetro del halo de degradación a los diez días de incubación.

Trece de las setenta y un bacterias formaron halo de degradación en los diferentes medios de cultivo, el análisis de varianza Tabla B9 (Anexo B) muestra diferencias altamente significativas entre los factores A, B y para la interacción AB.

La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para el halo de degradación dividió al factor A en dos niveles como se muestra en la Tabla B10 (Anexo B). El tratamiento 12 (AX 80) produjo la zona de crecimiento más grande con 8.1 mm de diámetro, sin embargo, los tratamientos 11 (AX 78), 6 (AX 43), 2 (AX 43), 9 (AX 52), y 4 (AX 40), se ubicaron en el mismo nivel de significancia estadística que el tratamiento 12. El tratamiento 8 (AX 48) produjo la zona más pequeña con 5.1 mm.

La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para el halo de degradación dividió al factor B en 5 niveles como muestra la Tabla B11 (Anexo B). El tratamiento 4 (agar extracto de

suelo arenoso) se consideró el mejor medio a los diez días de incubación con 9.404 mm de diámetro, el tratamiento 1 (medio petróleo) se consideró deficiente con 4.519 mm.

La Tabla B12 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para el halo de degradación dividiendo a la interacción AB en 16 niveles. La interacción a6b4 (AX 43; agar extracto de suelo arenoso), se consideró el mejor tratamiento con 12.75 mm, la interacción a8b1 (AX 48; medio petróleo) fue considerada como deficiente con 2.75 mm.

4.1.7.4. Diámetro de crecimiento de la colonia a los quince días de incubación.

La Tabla B13 (Anexo B), muestra el análisis de varianza de las setenta y un bacterias a los quince días de incubación, en el cual muestra diferencias altamente significativas entre los factores A y B, y en la interacción AB. La Tabla B14 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para el factor A dividiéndolo en 20 niveles, el tratamiento 52 (AX 67) muestra la zona con mayor crecimiento con 8.150 mm de diámetro, en cambio el tratamiento 38 (AX 48) tiene la zona más pequeña de crecimiento con 5.200 mm. La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para el factor B (Tabla B15; Anexo B) lo dividió en 5 niveles, el medio 4 (agar extracto de suelo arenoso) es considerado como eficiente con 8.91197 mm, el medio de cultivo 1 (medio petróleo) se consideró como deficiente a los quince días de incubación con 5.12676 mm.

La Tabla B16 (Anexo B), muestra los promedios de la interacción AB tomando como mejor tratamiento a la interacción a52b4 (AX 67; agar extracto de suelo arenoso) con 12.75 mm de diámetro de crecimiento, la interacción a37b1 (AX 47; medio petróleo) fue considerado como tratamiento deficiente con 3.25 mm de diámetro.

4.1.7.5. Diámetro del halo de degradación a los quince días de incubación.

La Tabla B17 (Anexo B), muestra el análisis de varianza para los factores A, B y la interacción AB de las bacterias que forman halo de degradación sobre los diferentes medios de cultivo, donde existen diferencias altamente significativas entre los factores de estudio.

La Tabla B18 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% del factor A dividiéndolo en 2 niveles. El tratamiento 12 (AX 80), presentó el valor mayor de halo de degradación con 11.40 mm de diámetro. Los tratamientos 6 (AX 43), 11 (AX 78), 2 (AX 78), 5 (AX 42), 3 (AX 31), 1 (AX 7), 7 (AX 44), y 4 (AX 40), se ubicaron en el mismo nivel de significancia estadística que el tratamiento 12. El tratamiento 8 (AX 48) produjo el halo más

pequeño con 6.20 mm. La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividió al factor B en cinco niveles (Tabla B19; Anexo B). El tratamiento 4 (extracto de suelo arenoso) fue considerado como medio eficiente con 11.88 mm, el tratamiento 1 (medio petróleo) se consideró como deficiente con 6.827 mm.

La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividió a la interacción AB en 20 niveles Tabla B20 (Anexo B), tomando a la interacción a5b5 (AX 42; agar extracto de suelo arcilloso) como el mejor tratamiento con 15.50 mm de diámetro, la interacción a8b1 (AX 48) (medio petróleo) fue considerado el peor tratamiento con 3.5 mm de diámetro.

4.1.7.6. Diámetro de crecimiento de la colonia a los veinte días de incubación.

La Tabla B21 (Anexo B) muestra el análisis de varianza para los factores A, B y la interacción AB. Existieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos. La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividió al factor A en 10 niveles. El tratamiento 32 (AX 41) muestra la colonia con más crecimiento con 9.350 mm de diámetro. El tratamiento 38 (AX 48) presenta la zona más pequeña con 5.800 mm. La Tabla B23 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividiendo al factor B en 5 niveles, tomando al tratamiento 4 (extracto de suelo arenoso) como medio de cultivo eficiente con 9.84 mm de diámetro, en cambio se consideró como medio de cultivo deficiente al tratamiento 1 (medio petróleo) con 5.65 mm. La Tabla B24 (Anexo B) muestra los promedios de los diámetros de la interacción AB, tomando como mejor tratamiento a la interacción a59b3 (AX 76; medio diesel) con 15.25 mm de diámetro de crecimiento, la interacción a38b1 (AX 48; medio petróleo) se consideró como tratamiento deficiente con 3.25 mm de diámetro.

4.1.7.7. Diámetro del halo de degradación a los veinte días de incubación.

El análisis de varianza Tabla B25 (Anexo B), muestra diferencias altamente significativas entre los tratamientos de los factores A, B y para la interacción AB de las trece bacterias que forman halo de degradación en los diferentes medios de cultivo. La Tabla B26 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividiendo al factor A en 3 niveles, el tratamiento 6 (AX 43) produjo el halo de degradación más grande con 14.35 mm de crecimiento. El tratamiento 8 (AX 48) produjo la zona pequeña con 7.80 mm. La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividió al factor B en 3 niveles (Tabla B27; Anexo B), el tratamiento 4 (extracto de suelo arenoso) se consideró como mejor medio de cultivo con 13.69 mm de

diámetro. El tratamiento 1 (medio petróleo) se consideró como medio de cultivo deficiente con 7.96 mm.

La Tabla B28 (Anexo B), muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% de la interacción AB de los halos de degradación, dividiéndolo en 22 niveles, tomando a la interacción a5b5 (AX 42; extracto de suelo arcilloso) como mejor tratamiento con 18.50 mm de diámetro de crecimiento. La interacción a8b1 (AX 48; medio petróleo) fue considerado como tratamiento deficiente con 3.250 mm.

4.1.7.8. Diámetro de crecimiento de la colonia a los veinte y cinco días de incubación.

El análisis de varianza para la determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de setenta y un bacterias utilizadas en el estudio, muestra diferencias altamente significativas entre los factores A, B y la interacción AB (Tabla B29; Anexo B). La Tabla B30 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para el factor A dividiéndolo en 15 niveles. El tratamiento 52 (AX 67) fue considerado como el mejor crecimiento con 11.75 mm de diámetro, en cambio el tratamiento 38 (AX 48) obtuvo la colonia más pequeña de crecimiento con 6.90 mm de diámetro. La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividió al factor B (medios de cultivo) en 5 niveles Tabla B31 (Anexo B), el tratamiento 4 (extracto de suelo arenoso) se consideró como mejor medio de cultivo con 10.75 mm de diámetro. El tratamiento 1 (medio petróleo) obtuvo 6.380 mm de diámetro por lo que se lo consideró como medio de cultivo deficiente.

La Tabla B32 (Anexo B), muestra los diámetros promedio de la colonia para la interacción. La interacción a9b3 (AX 12; medio diesel) se consideró como mejor tratamiento con 18 mm de diámetro. La interacción a38b1 (AX 48; medio petróleo) obtuvo el menor diámetro de crecimiento con 4 mm de diámetro.

4.1.7.9. Diámetro del halo de degradación a los veinte y cinco días de incubación.

El análisis de varianza para la formación de halos de degradación de trece bacterias que presentaron esta característica, muestra diferencias altamente significativas entre los tratamientos y la interacción AB (Tabla B33; Anexo B). La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para halos de degradación, dividió al factor A en 5 niveles Tabla B34 (Anexo B), el tratamiento 6 (AX 43) muestra un diámetro de halo de degradación de 17.15 mm, considerándolo como el mejor crecimiento. El tratamiento 8 (AX 48) muestra un diámetro de halo de degradación

de 9.10. La Tabla B35 (Anexo B) muestra los resultados de la separación de medias para el factor B dividiéndolo en 2 niveles, en donde se consideró como mejor medio de cultivo al tratamiento 5 (extracto de suelo arcilloso) con 16.23 mm de diámetro y al tratamiento 1 (medio petróleo) como medio de cultivo deficiente con 10.00 mm.

La Tabla B36 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% para la interacción AB dividiéndolo en 21 niveles. Las interacciones a5b5 (AX 42; extracto de suelo arcilloso) y a6b5 (AX 43; extracto de suelo arcilloso) se consideraron como mejor tratamiento con 21.25 mm de diámetro de crecimiento del halo de degradación. Las interacciones a8b1 (AX 48; medio petróleo) y a8b3 (AX 48; medio diesel) obtuvieron el menor diámetro de crecimiento del halo de degradación con 5.00 mm y 5.750 mm respectivamente.

4.1.7.10. Diámetro de crecimiento de la colonia a los treinta días de incubación.

La Tabla B37 (Anexo B) muestra el análisis de varianza para los factores A, B y la interacción AB, de los diámetros de las setenta y un bacterias sobre los cinco medios de cultivo, en la que existe diferencia altamente significativa entre los factores y tratamientos. La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividió al factor A en 17 niveles Tabla B38 (Anexo B). El tratamiento 52 (AX 67) tuvo un diámetro de 13.95 mm, considerándolo como el mejor crecimiento, el tratamiento 1 (AX 1) obtuvo la zona más pequeña de crecimiento con 7.850 mm de diámetro, se lo consideró como deficiente. La Tabla B39 (Anexo B) muestra la separación de medias por Tukey al 5% dividiendo al factor B en 5 niveles. El tratamiento 4 (extracto de suelo arenoso) se consideró el mejor medio de cultivo con 11.97 mm de diámetro, el tratamiento 1 (medio petróleo) obtuvo 7.44 mm por lo que se lo consideró como el medio de cultivo menos eficiente.

La Tabla B40 (Anexo B) muestra el promedio de los diámetros de las setenta y un bacterias en los cinco diferentes medios de cultivo, como resultado se obtuvo que la interacción a13b3 (AX18; medio diesel) presenta el mejor tratamiento con 21.75 mm de diámetro de crecimiento. La interacción a36b1 (AX 46; medio petróleo) obtuvo un diámetro de 4.25 mm por lo que se lo considero como tratamiento deficiente.

4.1.7.11. Diámetro del halo de degradación a los treinta días de incubación.

El análisis de varianza para la formación de halos de degradación Tabla B41 (Anexo B) muestra diferencias altamente significativas entre el factor A, B y para la interacción AB. La Tabla B42

(Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividiendo al factor A en 5 niveles. El tratamiento 6 (AX 43) forma un halo de degradación de 20.75 mm considerándolo como el mejor crecimiento. El tratamiento 8 (AX48) tuvo un diámetro de halo de degradación de 12.35 mm considerándolo como un crecimiento deficiente.

La separación de medias por la prueba de Tukey al 5% dividió al factor B en 3 niveles, tomando al tratamiento 5 (extracto de suelo arcilloso) como el mejor medio de cultivo con 21.15 mm de diámetro. El tratamiento 1 (medio petróleo) fue considerado como medio de cultivo deficiente con 12.42 mm de diámetro.

La Tabla B44 (Anexo B) muestra la separación de medias por la prueba de Tukey al 5%, dividiendo a la interacción del halo de degradación en 26 niveles. La interacción a4b2 (AX 40) (medio gasolina) fue considerada como el mejor tratamiento con 24.75 mm de diámetro de halo de degradación. La interacción a8b1 (AX 48) (medio petróleo) obtuvo el menor diámetro de crecimiento de halo de degradación por lo que se lo considero deficiente con 6.50 mm.

4.2. Interpretación de Datos

4.2.1. Determinación del uso de KNO_3 como fuente única de nitrógeno.

Fue necesario realizar esta prueba debido a que los medios de cultivo usados en la degradación de hidrocarburos, fueron preparados con KNO_3 como única fuente de nitrógeno. La mayoría de las bacterias dieron resultado positivo en el uso de KNO_3 como única fuente de nitrógeno. Navas *et al.*, (2008), reportan que la mayoría de bacterias asimilan estos elementos en forma inorgánica y oxidada. El nitrógeno es un elemento fundamental en el metabolismo de los microorganismos ya que es incorporado en las células bacterianas para producir aminoácidos y proteínas. Los suelos ricos en este nutriente tienen una marcada actividad metabólica y la capacidad de desarrollar biomasa. Además, en el presente estudio no fue posible usar las fuentes comunes de nitrógeno como extracto de carne, peptona, extracto de levadura o caseína, porque todos estos compuestos tienen carbono en su composición. Si éstos hubiesen sido usados, no habría sido posible determinar la utilización de los diferentes tipos de hidrocarburos y extractos de suelo, como únicas fuentes de carbono para la síntesis de nueva materia viva.

4.2.2. Caracterización fenotípica y pruebas fisiológicas de crecimiento.

La mayoría de las bacterias según su morfología y caracterización microscópica, mostraron pertenecer al mismo grupo de microorganismos, mientras que aquellos organismos diferentes

fueron minoría. Fue interesante observar que la gran mayoría de bacterias son gram negativas, lo que podría indicar que éstas están adaptadas de mejor manera a sitios en donde han ocurrido derrames y están contaminados con residuos de petróleo. Es necesario recordar que todas las bacterias utilizadas en la presente investigación fueron aisladas de suelos contaminados con residuos de petróleo. Así mismo, los resultados obtenidos en las pruebas fisiológicas relacionadas a temperatura son un indicativo de las características del lugar de donde provienen las bacterias. Como se indicó anteriormente, el suelo de dónde se aislaron, fue recolectado del campo Sacha, ubicado en la región Amazónica ecuatoriana. Por ello, fue posible encontrar bacterias que soportaron temperaturas de 37°C e incluso algunas con características termofílicas, que soportaron temperaturas de 50°C por siete días. Estas bacterias podrían ser las que potencialmente puedan ser usadas en las condiciones presentes en otros lugares en donde existen sitios para bioremediación en la región amazónica. Pero un resultado aún de mayor significancia es el que doce bacterias presentaron, al crecer en temperatura de 4°C. Estas bacterias podrían ser usadas en derrames de petróleo que puedan ocurrir en la Sierra ecuatoriana. Uno de los limitantes para usar microorganismos en bioremediación de sitios contaminados con petróleo en la sierra, constituyen las bajas temperaturas que en muchos lugares por donde cruza el oleoducto transecuatoriano hacia los puertos de la Costa, es posible encontrar. Así mismo, el rango de crecimiento de pH de la gran mayoría de bacterias se encuentran desde pHs ligeramente ácidos a neutros, lo que permitiría que estos microbios sean usados dentro de éstos rangos, que son los más comunes en donde existen sitios para bioremediación.

4.2.3. Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos.

Los resultados demuestran que las bacterias usadas en el presente trabajo de investigación son altamente eficientes para utilizar como fuente de carbono los hidrocarburos diesel, gasolina y petróleo, y que además crecen bien en suelos con altos niveles de contaminación con contaminantes a base de derivados de petróleo. Todos los 71 cultivos bacterianos crecieron en los cinco medios de cultivo estudiados. Esto es un indicativo de la gran importancia que tiene aislar microbios de sitios contaminados con petróleo, para luego usarlos en bioremediación. Todas las bacterias fueron aisladas de una muestra de suelo contaminada con petróleo, del campo Sacha, en la Amazonia ecuatoriana. Si bien es cierto que se encontraron bacterias más eficientes que otras para el proceso de bioremediación, esto es normal, ya que la variabilidad fenotípica que es posible encontrar en éste tipo de hábitats, garantiza precisamente una diversidad metabólica entre las bacterias, que se manifiesta con los diferentes niveles de

utilización de los hidrocarburos y extracto de suelos, como fuentes de carbono para el metabolismo.

También es muy importante notar que los mejores resultados se obtuvieron con los medios de cultivo que se prepararon con extracto de suelo, ya sea arcilloso o arenoso. Esto es posible debido a que el extracto no solamente contiene los contaminantes, sino que también otro tipo de nutrientes que son extraídos y forman parte del medio. Esto también podría llevar hacia la posibilidad de haber encontrado bacterias que ya se encuentran adaptadas a ese tipo de suelos contaminados, facilitando el proceso de estilización de las mismas en bioremediación. Por otro lado, hay cepas como la AX 67, la que repetidamente mostró ser la que presentó los mejores diámetros de crecimiento en los cinco medios de cultivo. Ésta cepa presenta un potencial muy grande para ser usada en procesos de bioremediación, ya sean estos *in situ* o *ex situ*. La literatura reporta que estas técnicas de descontaminación se basan en la digestión de las sustancias orgánicas por los microorganismos, de la cual obtienen la fuente de carbono necesaria para el crecimiento de sus células y una fuente de energía para llevar a cabo todas las funciones metabólicas que necesitan sus células para su crecimiento (Olivera *et.al* 1997; Pucci, *et.al* 2000). De la evidencia obtenida en el presente estudio, existen las condiciones metabólicas que permitirían que muchas de las bacterias usadas, sean llevadas hacia suelos contaminados para que realicen el proceso de bioremediación de los mismos.

4.2.4. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.

Los 18 grupos formados a partir de las 24 bacterias seleccionadas al azar, demuestran que existe una diversidad fenotípica muy grande. Es muy probable que varios de éstos grupos especie correspondan a nuevas especies de bacterias biodegradadoras. Se necesitarán estudios moleculares complementarios para demostrar si éstas bacterias son nuevas o no, principalmente el secuenciamiento del gen del ARNr 16S, de la subunidad pequeña del ribosoma 70S de los procariotes. Ese será un resultado concluyente acerca de lo que posiblemente se ha encontrado en el presente estudio, en términos de la diversidad fenotípica que podrá ser correlacionada con la diversidad genética de las especies identificadas o clasificadas, según el caso.

4.2.5. Discusión general del trabajo investigativo.

En el presente trabajo de investigación se trató de determinar la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo, para lo cual se

realizaron diversas pruebas para determinar la capacidad biodegradadora de hidrocarburos. Los parámetros medidos fueron el diámetro de crecimiento de la colonia bacteriana y la formación del halo de degradación en los medios de cultivo. Los resultados alcanzados demuestran que las bacterias estudiadas presentan una gran diversidad fenotípica y metabólica, que se manifiesta en la capacidad que todas presentaron para crecer en los medios de cultivo, cuya única fuente de carbono constituyeron diferentes tipos de hidrocarburos y extractos de suelos contaminados con derivados de petróleo. De hecho se nota claramente que existe un grupo de varias bacterias, entre las cuales podemos mencionar a la AX67, AX15 y AX87 que mostraron que luego de treinta días de incubación, ser las que crecieron de mejor manera en los cinco tipos diferentes de medios de cultivos usados. Así mismo, los mejores medios fueron aquellos preparados con los extractos de suelos con diferentes concentraciones de contaminantes (TPHs). Esto provee una plataforma sólida para continuar con estudios que demuestren la factibilidad de usar un bioproducto basado con las bacterias antes mencionadas, primero en condiciones de microcosmos en el laboratorio, y luego en pruebas a campo abierto mediante la implementación de programas de bioremediación *in situ* o *ex situ*.

El presente estudio es pionero en demostrar la eficiencia de cepas nativas de la región Amazónica ecuatoriana, para la degradación a nivel de laboratorio, de derivados del petróleo o extracto de suelo contaminado con TPHs. Esto a largo tiempo podría significar una disminución en la importación de productos del extranjero, que contienen bacterias que no son nativas y que actualmente están siendo usadas sin demostrar su eficiencia en las condiciones específicas locales que el Ecuador tiene.

Así mismo, la posibilidad de encontrar nuevas especies de bacterias biodegradadora es bastante alta, tal como lo demuestra la taxonomía de datos fenotípicos. Si se considerase que solamente el 10% de los grupos corresponde a especies que no se han descubierto, significaría que al menos dos especies bacterianas eficientes han sido descubiertas en el presente estudio. De cualquier manera, más investigaciones son necesarias para corroborar esto. Finalmente es necesario recalcar la importancia de la información básica obtenida, ya que varias investigaciones van a derivarse de los resultados obtenidos. Todos estos estudios serán necesarios para que se pueda llegar a desarrollar un bioproducto basado en bacterias biodegradadoras de derivados de petróleo.

4.3. Verificación de Hipótesis.

4.3.1. Hipótesis para la determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos.

4.3.1.1. Hipótesis nula (H_0).

Bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo no tienen capacidad biodegradadora de hidrocarburos.

4.3.1.2. Hipótesis alternante (H_1).

Algunas bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo tienen capacidad biodegradadora de hidrocarburos.

Luego de analizar los resultados de la determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de setenta y un bacterias utilizadas en el presente estudio, “se acepta la hipótesis alternante (H_1)” afirmando que existen bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo que tienen capacidad biodegradadora de hidrocarburos luego del análisis individual de los datos.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones.

- Solamente setenta y un bacterias de ochenta y ocho del stock inicial mostraron crecimiento en el medio de cultivo con KNO_3 , las que fueron usadas en la determinación de la capacidad biodegradadora.
- La gran mayoría de bacterias presenta características mesofílicas de acuerdo a los requerimientos de temperatura, y con un rango de crecimiento en relación al pH entre 5.5 hasta 7.5.
- A los treinta días de incubación, las bacterias AX67, AX15 y AX87 mostraron ser las que mejor crecieron en los cinco medios de cultivo usados en el presente estudio. Todas son bacilos gram negativos, sin cápsulas.
- El mejor crecimiento se obtuvo en los medios preparados con extracto de suelo contaminados con diferentes niveles de TPHs.
- Todas las setenta y un bacterias usan como fuente de carbono para su metabolismo al diesel, gasolina y petróleo.
- Se identificaron 18 grupos especie usando la taxonomía numérica de datos fenotípicos. Cuatro están constituidos por más de un miembro, mientras que los grupos restantes constan de un solo miembro.

5.2. Recomendaciones.

- Realizar la caracterización genotípica de las bacterias para encontrar su diversidad genética y establecer si existen especies nuevas de bacterias biodegradadoras de derivados de petróleo.

- Determinar la eficiencia de bioremediación de suelos contaminados con TPHs usando microcosmos en condiciones de laboratorio.
- Determinar las curvas y demás parámetros de crecimiento para establecer las condiciones óptimas de las bacterias que presentaron mejores resultados, con fines de producción a gran escala de un bioproducto basado en las mismas.

CAPÍTULO VI

PROPUESTA

6.1. Datos Informativos

6.1.1. Título.

Determinación de la eficiencia de derivados de petróleo por microorganismos como fuente única de carbono para su crecimiento.

6.1.2. Instituciones ejecutoras.

Universidad Técnica de Ambato (UTA).

6.1.3. Beneficiarios.

Investigadores y estudiantes de Universidades del país. Centros de Investigaciones en Biotecnología. Empresas privadas relacionadas a Hidrocarburos

6.1.4. Ubicación.

UTA. Colombia S/N y Chile. Ciudadela Ingahurco.

Ambato - Ecuador.

6.1.5. Tiempo estimado para la ejecución.

Ocho meses.

6.1.6. Equipo técnico responsable.

Docentes, investigadores y estudiantes trabajando en experimentos de aislamientos selectivo para la búsqueda de microorganismos útiles en biotecnología y bioremediación.

6.2. Antecedentes de la propuesta.

La contaminación de suelos por hidrocarburos tiene un pronunciado efecto sobre las propiedades de los mismos afectando la calidad de vida de los organismos que lo habilitan, entre

otras cosas es la causante de procesos de salinización, toxicidad sobre los microorganismos, mortandad de la vegetación. La biodegradación efectuada por microorganismos y la investigación “*Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo*” representan un avance significativo hacia la recuperación de suelos contaminados. Con las técnicas desarrolladas en la investigación es posible identificar rápidamente bacterias con un alto potencial para la biodegradación de derivados de petróleo.

6.3. Justificación

El estudio “*Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo*”, demostró que diferentes grupos de bacterias tienen capacidad biodegradadora. Los datos obtenidos en esta investigación podrán ser el punto de partida para que posteriormente se pueda desarrollar un producto para la recuperación de suelos contaminados con hidrocarburos. La aplicación de esta metodología permitirá el desarrollo de diversas estrategias que pueden ser utilizadas con el fin de restaurar el suelo y la calidad ambiental, de acuerdo con las necesidades y dimensiones del problema a solucionar.

6.4. Objetivos

6.4.1. Objetivo General

- Identificar bacterias altamente eficientes en la degradación de compuestos contaminantes derivados de petróleo.

6.4.2. Objetivos Específicos

- Determinar las características fenotípicas de las cepas bacterianas.
- Identificar los patrones de utilización de diferentes derivados de petróleo como fuente única de carbono para su metabolismo.

6.5. Análisis de factibilidad

La viabilidad de la propuesta “*Determinación de la eficiencia de derivados de petróleo por microorganismos como fuente única de carbono para su crecimiento*” se asegura con los resultados obtenidos en la investigación “*Determinación de la capacidad biodegradadora de*

hidrocarburos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo”. Además, el cumplimiento adecuado de los objetivos específicos planteados en ésta propuesta garantizará el cumplimiento del objetivo general. Por otro lado, los resultados de la investigación en la que se basa la presente propuesta, permitirán que los resultados sean alcanzados sin ningún inconveniente.

6.6. Fundamentación.

La investigación “*Determinación de la capacidad biodegradadora de hidrocarburos de bacterias aisladas de suelos contaminados con petróleo*”, es la base científica que permite la formulación de la presente propuesta.

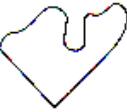
6.7. Metodología – Modelo Operativo.

6.7.1. Caracterización Fenotípica.

6.7.1.1. Caracterización macroscópica.

Los microorganismos que crecerán en el medio de preselección serán sometidos a pruebas fenotípicas, los colores de las colonias serán determinadas usando una tabla estándar de colores (British Standard Specification for colours for identification coding and special purposes). Las características generales serán descritas de acuerdo a las características de la Tabla 1.

Tabla 1. Descripción morfológica de colonias bacterianas de acuerdo a la forma, elevación y margen.

Forma	 Circular	 Irregular	 Lentejuela	 Filamentosa	 Rizoide
Elevación	 Plana	 Convexa	 Umbonada		
Margen	 Entero	 Ondulado	 Lobado	 Filamentoso	 Rizado

6.7.1.2. Caracterización microscópica.

Los cultivos puros de las bacterias serán usados para preparar muestras que serán observadas bajo el microscopio. Para las bacterias se determinarán tinción de Gram, presencia de esporas y cápsulas y forma de la bacteria.

6.7.1.3. Rango de Crecimiento en Función de la Temperatura.

Se inocularán 5 µl de las suspensiones de células previamente preparadas, sobre la superficie agar nutritivo. Los platos inoculados serán incubados a una temperatura de 50°C, 37°C y 4°C durante 2, 4 y 7 días, respectivamente. Transcurrido el tiempo de incubación se observará el crecimiento el que será evaluado mediante código binario. Si presenta crecimiento, se asignará 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0.

6.7.1.4. Rango de Crecimiento en Función del pH.

Se inocularán 5 µl de las suspensiones de células previamente preparadas, sobre la superficie de agar nutritivo, se ajustará a los pHs 3.5, 4.5, 5.5, 6.5, 7.5, 8.5, y 9.5. El pH será ajustado con la ayuda de sistemas de búferes para así evitar cambios en el pH debido al metabolismo de los microorganismos. Las cajas se incubarán a 26°C durante 7 días. Transcurrido el tiempo de incubación se observará su crecimiento, las cuales serán evaluadas mediante código binario. Si presenta crecimiento, se asignará 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0.

6.7.1.5 Análisis de datos Fenotípicos.

Con los resultados de las pruebas fenotípicas se construirá una base de datos, en código binario, con el número de pruebas o características estudiadas. Posteriormente la información será procesada en el software estadístico NTSys, en el que primeramente se calcularán los porcentajes de similaridad entre los actinomicetes estudiados. Finalmente, con la ayuda del mismo programa se procederá a obtener un dendrograma basado en la similaridad entre los microorganismos. Una vez obtenido éste gráfico, se procederá a identificar los grupos especie basados en un coeficiente de similaridad mayor al 85%.

6.7.1.6. Determinación del crecimiento de la capacidad degradadora de hidrocarburos.

Para la determinación de la capacidad degradadora se preparará un medio de cultivo enriquecido con petróleo, gasolina, o diesel. Una vez preparadas las cajas petri que contengan los diferentes medios de cultivo, se procederá a inocular 5 µl de las suspensiones de células previamente preparadas. Los platos inoculados serán incubados a una temperatura de 28°C

durante un mes, y se realizarán evaluaciones periódicas cada cinco días. Se observará la presencia de crecimiento el que será evaluado mediante código binario. Si presenta crecimiento, se asignará 1, en caso contrario, es decir, ausencia de crecimiento, 0. Los resultados serán analizados mediante análisis de varianza, y en caso de existir diferencias significativas entre los tratamientos, se realizará la separación de medias mediante la prueba de Tukey al 5% de significancia.

6.8. Administración

INDICADORES A MEJORAR	SITUACIÓN ACTUAL	RESULTADOS ESPERADOS	ACTIVIDADES	RESPONSABLES
Búsqueda de bacterias degradadoras de hidrocarburos.	Pocas bacterias nativas son usadas en la bioremediación de sitios contaminados con derivados de petróleo.	Descontaminación de suelos con hidrocarburos utilizando bacterias nativas. Ahorro de tiempo y recursos económicos al utilizar cepas de bacterias degradadoras de hidrocarburos.	Caracterización macroscópica de las cepas de bacterias aisladas. Caracterización microscópica de las cepas bacterianas que realicen degradación. Análisis de datos fenotípicos. Determinación de la capacidad bioremediadora de las bacterias	Docente Investigador Estudiante

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

6.9. Previsión de la Evaluación

PREGUNTAS BÁSICAS	EXPLICACIÓN
¿Quiénes solicitan evaluar?	Docentes Investigador
¿Por qué evaluar?	Proporciona información del Tratamiento biológico de suelos contaminados con hidrocarburos mediante el empleo de cepas bacterianas.
¿Para qué evaluar?	Para determinar la capacidad degradadora de hidrocarburos de bacterias sobre suelos contaminados.
¿Qué evaluar?	Diámetros de crecimiento de las colonias en los medios con los diferentes derivados de petróleo
¿Quién evalúa?	Docente
¿Cuándo evaluar?	Al finalizar las pruebas de utilización.
¿Cómo evaluar?	Revisando los datos obtenidos previo a la realización de una matriz en código binario.
¿Con qué evaluar?	Programa NTSys. Análisis estadístico con MSTATC.

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

BIBLIOGRAFÍA

- ALVAREZ, H. M. & PUCCI, O. H. 1993.** "Biodegradación de hidrocarburos en condiciones de baja temperatura". *Petrotecnia*, 342, 3 1-34.
- AVELLANEDA, A., 1998,** "Petróleo, Colonización y Medio Ambiente", Ecoe ediciones, Bogotá. ÍCONOS 21, 11-17.
- BELLOSO, C. & CARRARIO, J., 2000.** "Biodegradación de Hidrocarburos contenidos en Terrarios." XXVI Congreso Intramericano de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. San Lorenzo.
- BUSTAMANTE, T., 1999,** "Los conflictos socio-ambientales: una perspectiva anacrónica", Comunidades y conflictos socio ambientales. Experiencias y desafíos en América Latina. Quito: Abya-Yala, 257-271.
- FERNÁNDEZ, P., GRIFOLL, M., SOLANAS, A. M., BAYONA J. M., & ALBAIGÉS, J., 1992.** "Bioassay-directed chemical analysis of genotoxic components in coastal sediments". *Environ. Sci. Technol. Journal* 26:817-829.
- HURTIG Anna-Karin & SAN SEBASTIÁN, Miguel, 1998,** *Cáncer en la Amazonia del Ecuador.* Instituto de Epidemiología y Salud Comunitaria "Miguel Amunárriz "2ª Edición. Medicus Mundi. Gipuzkoa-España. 28-40.
- JOCHNICK, C., 1994.** "Violaciones de derechos en la Amazonía Ecuatoriana. Las consecuencias humanas del Desarrollo Petrolero". Edil. CERS. Quito. Ecuador. 56-58.
- MAEST, A., QUARLES, M. & POWERS, W., 2006,** "How Chevron Sampling & Analysis Methods Minimize Evidence of Contamination". *Journal of Chem*, 3: 5-19.
- MALDONADO, A & NARVAEZ. A., 2003.** "Ecuador ni es, ni será ya, país amazónico". Inventario de impactos petroleros -1. Edil. Acción Ecológica. Quito. Ecuador. 15-23.
- MALDONADO, A., & NARVAEZ. A., 2003.** *Ecuador ni es, ni será ya, país amazónico.* Inventario de impactos petroleros -1. Edil. Acción Ecológica. Quito. Ecuador. 10-16.
- MARGESIN, & SCHINNER. 1997.** " *Manual of Soil Analysis*" Monitoring and Assessing Soil Bioremediation. Edition Springer Berlin Heidelberg. New York. 40.
- MELÉNDEZ, F, 1980.** " *Aspectos del Origen del Petróleo* " Primera Edición. Editorial COL-PA, España. 5-7.
- MONTENEGRO, Gloria. 2007.** "Actividad Metabólica de Bacterias." 5° XV Congreso Chileno de Biología y Tecnología, Santiago, Chile. *Química Nova* 390: 848-851.
- NAVAS, S.; HIDALGO, D.; ESTRELLA, B. & SERRANO, P., 2008,** "Tratamiento biológico de suelos contaminados con hidrocarburos procedentes del campo Sacha mediante el empleo de cepas bacterianas nativas". III Congreso de Ciencia y Tecnología ESPE. Laboratorio de Ciencias

Biotecnológicas (LACIB), Proyecto Eliminación de Piscinas y limpieza de derrames en el Distrito Amazónico (PEPDA) de PETROPRODUCCIÓN, Joya de los Sachas, Orellana, Ecuador. 32-40.

OLIVERA, N., ESTEVES, J. & COMMENDATORE, M. 1997. *Alkane Biodegradation by a Microbial Community from Contaminated Sediments in Patagonia, Argentina.* International Biodeterioration and Biodegradation, 40, 75-79.

PLAZA, G., 2001. "Biorremediación en Suelos Contaminados con Hidrocarburos". Avances en Energías Renovables y Medio Ambiente. Vol. 5. 146-151.

PUCCI, O.; BACK, M.; PERESSUTTI, S.; KLEIN, I.; HARTIG, C.; ALVAREZ H. & WUNSCH L., 2000. *Influence of crude oil contamination on the bacterial community of semiarid soils of Patagonia (Argentina).* Journal Acta Biotechnol. 30:129-146.

ROSINI, F.; VOJTASZAK, I. 1960 "Hydrocarbons in petroleum". *Journal of Chem.Educ.* 39:554-561.

SÁNCHEZ J. & ZÁRATE A. 1989, "Las materias primas. Fuentes de energía", El mundo en que vivimos, Madrid, SM,. 186 -191.

UICN, E & FORUM, P, 1991, "Pautas de Operación de la Industria Petrolera para las Selvas Tropicales". Informe No. 2,49/170. Proyecto DIVA. Quito. 56-61

UPPSAE, 1993. "Culturas bañadas en petróleo. Diagnóstico de salud realizado por promotores". (Unión de Promotores Populares de Salud de la Amazonía Ecuatoriana). Edil. Abya Yala. Lago Agrio. Ecuador. 29-33.

VERDEZOTO, & SORIA, 2007. "Biotratamiento de Residuos Tóxicos y Peligrosos." Selección de Microorganismos y Aplicación. Edición Plenum Press. New York. 225.

VIAN, A, 1993, "Introducción a la química industrial, Refinación de Petróleo". Editorial Reverte. Abril. 3-10.

VICKERS, W, 1989. "Los Sionas y Secoyas, su adaptación al ambiente amazónico." Quito: Abya Yala-MLAL,374-377.

WEEMAELS, Nathalie, 2003. "Impactos de la construcción del Oleoducto de Crudos Pesados." Acción Ecológica, Quito. 36-38.

ANEXO A

DATOS EXPERIMENTALES

Tabla A1. Crecimiento en nitrato de potasio (KNO₃).

Código AX	Stock	KNO3	Código AX	Stock	KNO3
1	802-5	1	47	767-7	1
2	802-6	0	48	767-6	1
3	806-1	1	49	765-4	1
4	806-2	1	50	765-5	1
5	806-3	1	51	765-6	1
6	806-4	0	52	765-7	1
7	806-5	1	53	765-8	1
8	806-6	1	54	765-9	1
9	806-7	1	55	765-10	0
11	786-22	1	56	765-11	1
12	786-23	1	57	765-12	0
13	786-24	1	58	765-13	1
14	786-25	1	59	758-21	1
15	806-8	1	60	758-22	1
17	802-2	0	62	758-24	1
18	802-3	1	64	758-26	1
19	802-4	1	65	767-8	1
21	786-11	1	66	765-2	0
22	786-12	1	67	765-1	1
23	786-13	1	68	765-3	0
24	786-14	1	69	758-11	0
25	786-15	1	70	758-12	1
26	786-16	1	71	758-13	1
27	786-17	0	72	758-14	1
29	786-19	1	73	758-15	1
30	786-1	1	74	758-16	1
31	786-2	1	75	758-17	1
32	786-3	1	76	758-18	1
33	786-4	1	77	758-19	1
35	786-6	1	78	758-20	1
36	786-7	1	79	758-1	1
37	786-8	1	80	758-10	1
38	786-9	1	81	758-2	1
39	786-10	1	82	758-3	1
40	765-14	1	83	758-4	1
41	767-1	1	84	758-5	1
42	767-2	1	85	758-6	1
43	767-3	1	86	758-7	1
44	767-5	1	87	758-8	1
45	767-4	0	88	758-9	1
46	806-9	1			

Elaborado por: Ricardo Vizuite G. 2010.

Tabla A2. Matriz de Datos Fenotípicos.

AX	Color de la Colonia			Forma de la Colonia		Elevación de la Colonia		Margen de la Colonia		
	Deep cream 353	Golden yellow 356	White	Circular	Irregular	Plana	Convexa	Entero	Lobado	Ondulado
1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
3	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
4	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
5	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
7	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
8	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
9	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
11	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
12	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
13	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0
14	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
15	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1
18	0	0	1	1	0	0	1	1	0	0
19	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
21	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
22	0	0	1	0	1	1	0	0	1	0
23	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
24	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
25	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
26	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
29	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
30	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
31	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1
32	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
33	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
35	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
36	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
37	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
38	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
39	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
40	0	1	0	0	1	1	0	0	0	1
41	1	0	0	0	1	0	1	0	0	1
42	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
43	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
44	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
46	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0
47	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
48	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
49	0	1	0	1	0	0	1	0	0	1

Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

Tabla A2. Continuación...

AX	Color de la Colonia			Forma de la Colonia		Elevación de la Colonia		Margen de la Colonia		
	Deep cream 353	Golden yellow 356	White	Circular	Irregular	Plana	Convexa	Entero	Lobado	Ondulado
50	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
51	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
52	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
53	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
54	1	0	0	0	1	0	1	0	1	0
56	1	0	0	0	1	1	0	0	0	1
58	0	1	0	0	1	0	1	0	0	1
59	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
60	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0
62	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
64	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0
65	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
67	1	0	0	1	0	1	0	0	0	1
70	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
71	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
72	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
73	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1
74	0	0	1	1	0	1	0	1	0	0
75	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
76	0	1	0	1	0	0	1	1	0	0
77	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
78	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0
79	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
80	0	1	0	0	1	1	0	0	1	0
81	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
82	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
83	0	0	1	0	1	0	1	0	0	1
84	1	0	0	1	0	0	1	1	0	0
85	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
86	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0
87	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0
88	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla A3. Caracterización Microscópica

<i>Código AX</i>	<i>Gram</i>	<i>Capsulas</i>	<i>Código AX</i>	<i>Gram</i>	<i>Capsulas</i>
1	-	-	47	-	+
3	+	-	48	-	+
4	-	-	49	-	-
5	-	+	50	-	-
7	-	-	51	-	-
8	-	-	52	-	+
9	-	-	53	-	-
11	-	+	54	-	-
12	-	-	56	-	+
13	-	+	58	-	-
14	-	+	59	-	-
15	-	+	60	-	-
18	-	-	62	-	-
19	-	-	64	+	+
21	-	-	65	+	-
22	-	-	67	-	-
23	-	-	70	-	-
24	-	-	71	-	+
25	-	-	72	-	-
26	-	-	73	-	-
29	-	-	74	-	-
30	-	-	75	-	-
31	-	+	76	-	+
32	-	-	77	-	-
33	-	-	78	-	-
35	-	-	79	-	-
36	-	-	80	+	-
37	-	-	81	-	-
38	-	-	82	-	+
39	-	+	83	-	-
40	-	+	84	-	-
41	-	-	85	-	-
42	-	-	86	+	+
43	-	-	87	-	-
44	-	+	88	-	-
46	-	+			

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A3. Continuación...

AX	Forma de la Bacteria		Tinción Gram		Tinción Cápsulas	
	Bacilo	Coco	Gram +	Gram -	(+)	(-)
1	1	0	0	1	0	1
3	1	0	1	0	0	1
4	1	0	0	1	0	1
5	1	0	0	1	1	0
7	1	0	0	1	0	1
8	1	0	0	1	0	1
9	1	0	0	1	0	1
11	1	0	0	1	1	0
12	1	0	0	1	0	1
13	1	0	0	1	1	0
14	0	1	0	1	1	0
15	1	0	0	1	1	0
18	1	0	0	1	0	1
19	1	0	0	1	0	1
21	1	0	0	1	0	1
22	1	0	0	1	0	1
23	1	0	0	1	0	1
24	1	0	0	1	0	1
25	1	0	0	1	0	1
26	1	0	0	1	0	1
29	1	0	0	1	0	1
30	1	0	0	1	0	1
31	1	0	0	1	1	0
32	1	0	0	1	0	1
33	1	0	0	1	0	1
35	1	0	0	1	0	1
36	1	0	0	1	0	1
37	1	0	0	1	0	1
38	1	0	0	1	0	1
39	1	0	0	1	1	0
40	1	0	0	1	1	0
41	1	0	0	1	0	1
42	1	0	0	1	0	1
43	1	0	0	1	0	1
44	1	0	0	1	1	0
46	1	0	0	1	1	0
47	1	0	0	1	1	0
48	1	0	0	1	1	0

Elaborado por: Ricardo Vizuite G. 2010.

Tabla A3. Continuación...

AX	Forma de la Bacteria		Tinción Gram		Tinción Cápsulas	
	Bacilo	Coco	Gram +	Gram -	(+)	(-)
49	1	0	0	1	0	1
50	1	0	0	1	0	1
51	1	0	0	1	0	1
52	1	0	0	1	1	0
53	1	0	0	1	0	1
54	0	1	0	1	0	1
56	1	0	0	1	1	0
58	1	0	0	1	0	1
59	1	0	0	1	0	1
60	1	0	0	1	0	1
62	1	0	0	1	0	1
64	1	0	1	0	1	0
65	1	0	1	0	0	1
67	1	0	0	1	0	1
70	1	0	0	1	0	1
71	1	0	0	1	1	0
72	1	0	0	1	0	1
73	1	0	0	1	0	1
74	1	0	0	1	0	1
75	1	0	0	1	0	1
76	1	0	0	1	1	0
77	1	0	0	1	0	1
78	1	0	0	1	0	1
79	1	0	0	1	0	1
80	1	0	1	0	0	1
81	1	0	0	1	0	1
82	1	0	0	1	1	0
83	1	0	0	1	0	1
84	1	0	0	1	0	1
85	1	0	0	1	0	1
86	1	0	1	0	1	0
87	1	0	0	1	0	1
88	1	0	0	1	0	1

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla A4. Determinación del crecimiento en medio con petróleo.

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	3.5	3	4.5	4	5.5	5.5	6	6	6.5	6	7	6
3	4	3	4.5	4	5	4.5	5.5	5.5	6	5.5	6	6
4	3.5	3	4	3.5	4.5	4.5	6	6	6.5	6	7	6
5	3	3.5	4.5	4.5	5	4.5	5.5	5.5	6	6	7	6.5
7	4	3.5	5	4.5	5.5	5	6	5	7.5	8	8	8.5
8	3.5	2.5	4.5	4.5	5.5	5	6	5.5	6	6	7	6.5
9	4	3	4.5	3.5	4.5	4.5	6	6	6	6.5	7	6.5
11	3.5	3.5	4.5	4.5	5	5	6.5	5.5	6.5	6	7	7
12	4	4.5	4.5	5	5.5	5.5	5.5	5.5	6.5	7	7.5	7
13	3.5	4	4	4.5	4.5	4.5	6	5.5	6.5	6.5	7	6.5
14	3.5	3	4.5	4.5	5.5	4.5	7	6	7.5	7	8	7.5
15	3	3.5	4.5	4.5	4.5	5	5.5	5	6	6	6.5	7
18	3.5	3.5	4	4.5	5	4.5	5.5	5.5	6.5	6	7	6.5
19	3	3	5	4	5.5	4.5	6	5	6	6.5	6.5	7
21	3.5	3.5	5	5	6	5	6	5.5	7.5	7.5	8	8
22	3.5	3.5	5	4	5.5	4.5	6	5	6	5.5	7	6
23	4	3.5	4.5	4	5.5	4.5	6.5	5.5	7	6.5	7	7
24	3.5	3	5	4.5	6	5	6.5	5.5	7	6	7	6.5
25	3	3.5	4.5	4.5	5.5	4.5	5.5	5.5	6	6	7.5	7
26	3.5	3.5	4.5	4.5	5.5	4.5	6	5	6	6.5	7	7
29	3	4	5	4	5.5	5	7	7	8.5	8	9	8.5
30	3	3.5	4.5	4	5.5	6	5.5	5.5	6	6	7.5	7
31	4.5	3	4.5	4.5	6	4.5	6	6	7	7.5	8	7.5
32	5	3.5	5	4	5.5	4.5	5.5	5	7.5	7	8	7.5
33	3.5	3.5	4.5	4.5	6	5	6	5.5	6	6	7	6.5
35	4	3.5	5	4	6.5	6	7	6.5	6.5	6	7	6.5
36	3.5	4	4	4	5	5	5.5	6	6	6	7	7
37	3.5	3.5	4	4.5	5.5	5	6	5	7	7.5	7.5	8
38	2.5	2.5	4	4	4.5	4.5	6	5	6.5	6	7.5	7
39	4	3.5	4.5	4	5	5	6	5.5	6	6	7	7
40	3	3	4.5	4	5.5	4.5	5.5	5	6	7	7	7
41	4.5	4.5	4.5	4.5	5.5	5	6	6	7.5	8	8	8
42	3.5	4	4.5	4	5.5	5	6	5	6.5	7	7.5	7.5
43	4	3.5	4.5	4.5	6	5.5	6	6	7	7	8	7
44	3.5	3.5	4	4	5.5	5	6.5	7	7.5	7.5	8	8

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A4. Continuación...

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
46	3	3	3	3	3.5	3.5	3.5	4	4	4	4.5	4
47	2.5	3	2.5	3	3.5	3	3.5	3	5	4.5	5	5
48	2.5	3	2.5	3	3.5	3.5	3.5	3	4	4	4.5	4.5
49	3	3.5	4	4.5	5.5	4.5	6	5.5	6.5	6.5	7	7
50	3.5	3	4.5	4	5.5	5	6.5	6.5	7.5	8	8	8
51	3.5	4	5	4	6	5	6	6	6.5	7	7.5	7.5
52	3	3	4	5	5.5	5.5	6	5.5	6	6	7	7.5
53	3.5	3.5	4.5	4.5	6	6	6.5	6.5	7	8	8	8
54	3.5	3.5	4.5	4	5.5	5.5	6.5	5.5	6.5	6.5	7	7.5
56	3.5	3	4.5	4	5.5	4.5	6	5.5	6.5	6.5	7.5	8
58	4	4.5	4.5	4.5	5	5.5	5.5	6	7	6.5	8.5	8
59	2.5	3	4	4	5.5	5.5	5.5	6	6	6	7.5	7.5
60	3.5	3.5	4.5	4	5.5	4.5	5.5	5.5	6	6	7	7.5
62	3.5	3	4.5	4	5.5	5	6	5	7.5	7.5	8.5	8.5
64	3.5	3	4	3	4	4	4	3	5	4.5	5.5	5.5
65	4	3.5	4.5	4	5.5	5	6	5	7	8	8.5	9
67	3.5	3	4	4	5.5	5	6	6	6	7	7.5	8.5
70	3.5	4	4.5	4.5	5.5	5	5.5	5.5	6.5	7	8	7.5
71	4	3.5	4.5	4	5	6	6.5	6	7	6	8.5	8.5
72	3.5	3.5	4	3.5	6	5.5	6	6	6.5	6	8	8.5
73	3.5	3	4.5	4	5.5	6	6	5.5	6	6	7.5	7.5
74	3	3	4	4	5.5	4.5	5.5	5	5.5	5.5	7.5	8
75	3.5	3.5	4	4.5	5.5	5.5	6	6	6.5	6.5	8	8
76	2.5	3	4.5	4.5	5.5	5.5	6	5.5	6	6	7.5	8
77	3	3.5	4.5	4	5.5	4.5	6	5.5	6	6.5	7.5	7.5
78	3.5	3	4.5	4	5	5	5.5	5.5	6	5.5	7.5	7
79	3	2.5	4	4	6	5	6	5.5	7	7	8.5	8
80	3.5	3.5	4.5	4.5	5	5	6	5	6	5.5	8.5	8.5
81	3.5	3	4.5	4.5	5.5	5	5.5	5.5	6	5.5	8.5	9
82	3.5	3.5	4	4.5	6	5.5	6	5.5	6	6	8.5	8.5
83	3	3.5	4	4	5.5	5	6	5	5.5	5.5	9	7.5
84	4	3.5	4	4	6	5.5	6	6	7	6	8.5	9
85	3.5	3.5	5	4.5	5	5	5.5	5.5	6	6	9	9
86	3	2.5	4.5	4	5	4	5.5	5.5	6	5.5	7.5	8
87	3.5	3	4	4	6	5.5	6	6	8	8	10.5	10.5
88	2.5	2	4	3.5	5.5	5	6	5.5	6	5.5	8.5	8.5

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A5. Determinación del crecimiento en medio con gasolina.

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	3.5	3.5	4	4.5	4.5	4.5	5.5	5.5	6.5	6	7	6.5
3	4	4	4.5	4	5	4.5	5.5	5.5	6.5	6	7	8
4	2.5	3	4	4.5	4.5	4.5	5.5	5.5	6	6.5	7.5	7
5	3.5	4	4	4.5	5	5.5	5.5	6	7.5	7.5	9.5	10.5
7	3.5	3.5	4	4.5	5.5	5.5	6.5	6.5	7.5	8	14.5	14
8	4	3	4.5	4.5	5.5	5.5	7	6.5	8.5	9	15.5	14.5
9	3	3	4	4	5	5.5	6	5.5	8	7	9	9.5
11	4	3.5	4.5	4.5	5.5	5	6.5	6	8	7.5	9	10.5
12	4	4	5	4	6	5.5	7.5	7	10	10.5	16	17.5
13	4.5	5	5	6	6.5	7	8.5	9.5	14.5	15	21	20
14	3.5	3.5	4.5	4.5	5.5	5.5	7	6.5	9.5	10	16.5	14.5
15	4.5	4	5	4.5	6.5	6.5	7.5	7.5	12	12	17.5	18.5
18	4	5	4.5	5	5.5	5.5	6.5	6.5	10.5	11.5	14	14.5
19	4.5	4.5	5	4.5	5.5	5.5	6.5	6.5	8.5	9	12	10.5
21	3.5	3	4	4	5.5	5	6	6	7.5	7	8	8
22	3	3	4	3.5	5	5.5	6.5	6	7.5	7	9	8.5
23	4	4.5	4.5	5	6	5.5	7	7	9.5	10	13.5	13.5
24	4.5	4	5	4	5	5	6	6.5	7	7.5	10.5	8.5
25	4.5	4.5	4.5	5	7	6	9.5	10	11.5	12	15	15
26	3	3	4	4	4.5	4.5	5.5	5.5	6	6.5	6.5	6.5
29	4	5	5	5	5.5	5.5	6.5	6	7.5	7.5	9.5	10
30	3.5	3	4	4	5.5	5	6.5	6.5	7.5	7	9	9
31	4	3.5	4.5	4	5.5	6	7.5	7	10.5	11.5	15.5	16.5
32	5	4.5	5	5	6	5	7	6.5	8.5	9.5	12.5	11.5
33	3	3.5	4.5	4	5	5.5	5.5	6	6.5	6	7	6.5
35	4	4	4.5	4.5	5.5	5.5	6.5	6	8	8.5	8.5	10
36	3	3.5	4	4.5	5.5	5	6.5	6.5	8.5	8	9	10
37	4	4	5	4	5.5	5	6	6.5	8	8.5	10	10
38	4.5	4	4.5	4.5	6	5.5	7.5	7	8.5	8.5	11.5	12.5
39	3.5	3	4	4.5	4.5	4.5	5.5	6	7.5	7	8.5	8
40	4	4	4.5	4.5	6	5.5	7.5	7	9.5	10.5	17.5	16
41	3.5	4	4	4.5	6	6	7.5	7.5	11.5	12	17.5	16.5
42	3	3	4	4	6.5	6	8	7.5	13.5	13	17	18.5
43	4	3.5	4.5	4	6	5.5	7	6	10	10	13	13.5
44	3.5	3	4	5	5.5	5.5	7	6	9.5	9.5	11	11
46	2.5	2.5	3.5	3	4	4	5.5	5	6	5.5	6	6

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla A5. Continuación...

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
47	3	4	4	4.5	5.5	5.5	7.5	7	10	10	11.5	12.5
48	3.5	4	4.5	4	5.5	5.5	7.5	7	10	11	15.5	14
49	3	3	4	4	5.5	6	6.5	6.5	8.5	9	9.5	10
50	3.5	4	4.5	4.5	6.5	6.5	7.5	7.5	11.5	13	14	17.5
51	2.5	3	3	3.5	4.5	4.5	5.5	5.5	7.5	7	8.5	8.5
52	3.5	3.5	4.5	4.5	5.5	5	6.5	6	9.5	9.5	12	11
53	3	4	4.5	4	5.5	6	7.5	7.5	10.5	9.5	14.5	12
54	3.5	4	4	4.5	5.5	5	8	7	11.5	12	15.5	14.5
56	4	4	5	4	7	6.5	8.5	8	12.5	12.5	19	17.5
58	3.5	3.5	4	4.5	5.5	6	7	7.5	11.5	11	15.5	13.5
59	3	3	4	4	5	5.5	6.5	6.5	9	8.5	10.5	10
60	3.5	3	4.5	4	5	5	5.5	5.5	8.5	7.5	8.5	9
62	3.5	3.5	5	4.5	5.5	5.5	6.5	6	10	10.5	12	11
64	4	4	4.5	4.5	6	6.5	7	7.5	12	12	15.5	13.5
65	3.5	4	4.5	4.5	6.5	6.5	7.5	7.5	12	12	16	13
67	3	3	4	3.5	7	6.5	7.5	8	13.5	13.5	18	19
70	3.5	4	4.5	4.5	5.5	5	6.5	7	9	10	10	12
71	3	3	4	3.5	5.5	5.5	7	6	10	9.5	11.5	11.5
72	4	3.5	4.5	4.5	6	6.5	7.5	7.5	13.5	15	18.5	17
73	3	3	4	4.5	5.5	6	6.5	6.5	8	7	9	9
74	3.5	3	4.5	4	5.5	5	6	6	8	6	9	7.5
75	2.5	3	4	4	5	5.5	6	5.5	6.5	7	7	7.5
76	3.5	3.5	4.5	4.5	5.5	5.5	6.5	6.5	8	9.5	9	11
77	3.5	3	4.5	4	5.5	5.5	7.5	7.5	12	13	15.5	16
78	3.5	3.5	4.5	4	6.5	6.5	7.5	7.5	15.5	13	17.5	15.5
79	3	3.5	4	4	5.5	5	6.5	6	9.5	9	11	10
80	3.5	3	5	4	7	6.5	7.5	7.5	12	10.5	15	12
81	3	3	4	4	6	5.5	6.5	6.5	8.5	7.5	10	9
82	3.5	4	4.5	4	6	6.5	7.5	7.5	11.5	11	16	14
83	2.5	2	3.5	3.5	4.5	4	5	5.5	5.5	6	7.5	6
84	3	3.5	4.5	5	5.5	5.5	7	6	8	9	9	10
85	2	2	4	4	5	5.5	5.5	5.5	6	5.5	7	6
86	3	3	4	3.5	5.5	5	6.5	6	7	6.5	8	7
87	3.5	3.5	4.5	4	6.5	5.5	7.5	8	12	11	16.5	16
88	3.5	4	4.5	4.5	6.5	6.5	7	7.5	13	12	16.5	14.5

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla A6. Determinación del crecimiento en medio con diesel.

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	4	4.5	5	5.5	7	7.5	7	8	7.5	8	8	8.5
3	4.5	5	6	6.5	9	8.5	9	9	9.5	9	9.5	9.5
4	4.5	4	5.5	5.5	8.5	8	9	9	9	9.5	9.5	10
5	2.5	2.5	3.5	3	5	6	6	6.5	6.5	7.5	7.5	8.5
7	3	3.5	4.5	4	7	7	7.5	7.5	8	7.5	8.5	8
8	3.5	3.5	5	4	6.5	7	7.5	9	8.5	9	9	9
9	4.5	4	5.5	5	7	7.5	9	9.5	10.5	11.5	12	12.5
11	4	4	4.5	5	7.5	9	14.5	13.5	18.5	17.5	20	18.5
12	3.5	3.5	4.5	4	7	7.5	8.5	9	10	9.5	12	11
13	4.5	4.5	6.5	6	8	8.5	10	11	11.5	11	13	12.5
14	3	4	4	5	6.5	7	8	8.5	10	9	10.5	9.5
15	5	4.5	6.5	6.5	10.5	9.5	13.5	13	17.5	16.5	21	19.5
18	4.5	5	7	5.5	11.5	12.5	14.5	15	17	18	22.5	21
19	3.5	4	4	4	7	6.5	14.5	13	18.5	15.5	19	16
21	4	3.5	5	4.5	8.5	9	9	9	9	9.5	9.5	9.5
22	3.5	3.5	4	5	6.5	8	7.5	8	9	9.5	10	10
23	3.5	3.5	4	4	7	6.5	8	8	8.5	8.5	9.5	9
24	3.5	3.5	4.5	4	8	7.5	8	8	8.5	9	9	9
25	4	4.5	5.5	5	7.5	7.5	10	9.5	10.5	10	12	11.5
26	2.5	2.5	3.5	3	6	5.5	7	6.5	8.5	8	10	9
29	4.5	4	5	4.5	6.5	6	8	9	10	9.5	12	12.5
30	3	3	4.5	4	6	6	6	7	7	7	7.5	7.5
31	3	3.5	4.5	4	6.5	7	8.5	8	10	9.5	11	10
32	4	3.5	5.5	4.5	6	7	7	7	8	8	9	8.5
33	2.5	2	3	4	4	4	5	5	5	6	6	6
35	3.5	3.5	4.5	4	5.5	5	8	7.5	8	9	9	9
36	4.5	4.5	6.5	6	7.5	6.5	11	12	15.5	14.5	18.5	19.5
37	3.5	4	6.5	6	7.5	7	9.5	9	14.5	13.5	17	15.5
38	3.5	3	4.5	4	6	6	7	6.5	7.5	8	8	8.5
39	2.5	2.5	4	4	5	5	6	6	6	7	7	7
40	3.5	3.5	6.5	8	9	8.5	10.5	11	11	11.5	12	13
41	4	3.5	7	7.5	8.5	8	11	11.5	12	11.5	12.5	12.5
42	3.5	3.5	4.5	5.5	5.5	5.5	7.5	7.5	8	8.5	8.5	9
43	3.5	3	6.5	6	7	7.5	7.5	8	10	8.5	10	11
44	3	3.5	7	6.5	7.5	7.5	9	8	9.5	10	11	10.5

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A6. Continuación...

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
46	3.5	3.5	5	5.5	7.5	7	8.5	8	11	9.5	11.5	10.5
47	2.5	2	4	4.5	5	4.5	5.5	5	6	6	6.5	6
48	3	3	4	4	4.5	4.5	5.5	5.5	6	5.5	6	6
49	2.5	2.5	4.5	4	5	4.5	6	5.5	6	6	7	6
50	3.5	3.5	5	4	6	7	9	8	9	9	11	9.5
51	2.5	3	3.5	3.5	4.5	4	5.5	5	7	6	7	7
52	3	3	4.5	5	5	5.5	5.5	6	7	6.5	7.5	7
53	3.5	3.5	5	5.5	8	7.5	10	9.5	10	10	11	10
54	3.5	3.5	6.5	7	7.5	8.5	9	8.5	9.5	10	9.5	10.5
56	3.5	3.5	4	6	5	6	6	6.5	8	7	9	8
58	4	4	6	6.5	7	7	8	8	8.5	8.5	10	9
59	3.5	3	4.5	4	5.5	5.5	6	6.5	9	7.5	9	9.5
60	5	4	6	5	7.5	6	8	8.5	9.5	9.5	12	10.5
62	3.5	3.5	4.5	4.5	6.5	7	8	7.5	10	9	10.5	10
64	4.5	4.5	5.5	5.5	7	7.5	9.5	9	12	11.5	13.5	13
65	4.5	4.5	6.5	6	8	8.5	9	9	11.5	11	13.5	13.5
67	4.5	4.5	6	7.5	8	9	8.5	9.5	11.5	12.5	12.5	12.5
70	4.5	4	5.5	6	7	8.5	9	8.5	11.5	10.5	12	11
71	3.5	3.5	4	5	6	6.5	7.5	6.5	8	8.5	9	9
72	4.5	4.5	5	6	6.5	6.5	8	9	9	9	9	10
73	4.5	4	5	6.5	7	6.5	8.5	8	9.5	9	10.5	10
74	3.5	3.5	6	5.5	8	6.5	9	8.5	10.5	9.5	12.5	11
75	3	3	4.5	4	5	5	6	5.5	7	6	7	7
76	7	7.5	8.5	8	11.5	12.5	15.5	15	17.5	18	20.5	19.5
77	4	3.5	5.5	6	7	6.5	7.5	7.5	9	8	9	9
78	4.5	4	7	7.5	8	8	11	10.5	13.5	13	14	13.5
79	3.5	4	6	7	7.5	7	9.5	10	11	10.5	11.5	11
80	4.5	4	6.5	7	8	7	9	10.5	11.5	12	12	12
81	3.5	3.5	5	6	7	6.5	10	9	12	12	13	12.5
82	4.5	4.5	6.5	6	7.5	7	9	9.5	12	13	15	14
83	4.5	4	6	6.5	7.5	8	8.5	9	10	11	10.5	11
84	4	4	6.5	6.5	8	9	10	10.5	11	11	12	11
85	4.5	4	6	6.5	8	8.5	9	9	9	10	10	10.5
86	4	3	7	7.5	8	8.5	9.5	8.5	10	10.5	10.5	11
87	4	3.5	6	6	8	7.5	8.5	8.5	9	9.5	10	11
88	3.5	3.5	4.5	6	7	8	9.5	9	10	9.5	10.5	10

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla A7. Determinación del crecimiento en medio con petróleo (Halo de degradación).

Código AX	10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
7	5	4.5	7.5	7	8	7	11.5	12	12	12.5
23	4.5	4	7.5	6.5	10.5	9.5	11	10.5	13	13
31	4.5	4.5	8	8.5	8	10	9	9.5	12	11.5
40	4.5	4	5.5	4.5	7.5	7	10	11	13	11
42	4.5	4	7.5	7	8	7	10.5	11	11.5	11.5
43	4.5	4.5	10	9.5	10	10	11	11	14	13
44	4	4	5.5	5	8.5	9	11.5	11.5	12	14
48	2.5	3	3.5	3.5	3.5	3	6	4	6.5	6.5
52	4	5	5.5	5.5	8	7.5	8	8	11	11.5
72	4	3.5	6	5.5	6	6	6.5	6	10	10.5
78	6.5	6	9	7	9.5	7.5	12	11.5	15.5	15
80	6.5	6.5	9	9	12	11.5	13	13	16.5	16.5
81	4.5	4.5	7.5	7	7.5	9.5	12	11.5	14.5	15

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A8. Determinación del crecimiento en medio con gasolina (Halo de degradación).

Código AX	10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
7	6	6.5	9.5	9.5	12.5	12.5	15.5	16	22.5	22
23	6.5	9	10	9.5	11	11	15.5	16	21.5	21.5
31	6.5	6	7.5	10	11.5	11	14.5	15.5	21.5	24.5
40	4.5	4.5	8	7.5	11.5	11	15.5	14.5	25.5	24
42	6	6	8.5	8	10	11.5	17.5	17	23	24.5
43	4.5	4	8	7.5	11	10	14	14	21	21.5
44	4	5	7.5	7.5	9	8	13.5	13.5	17	17
48	6.5	6	9.5	7.5	13.5	13	16	17	23.5	22
52	4.5	4.5	7.5	7	8.5	10	13.5	13.5	16	17
72	4.5	4.5	8	8.5	9.5	9.5	17.5	19	24.5	23
78	4.5	4	8.5	8.5	11.5	9.5	21.5	19	23.5	23.5
80	5	4	11	10.5	11.5	11.5	18	16.5	21	18
81	4	4	8	7.5	8.5	8.5	12.5	13.5	16	15

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A9. Determinación del crecimiento en medio con diesel (Halo de degradación).

Código AX	10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
7	6.5	6	9	11	13.5	13.5	14	13.5	18.5	18
23	6	8	11	10.5	12	14	14.5	14.5	19.5	19
31	6.5	6	8.5	9	12.5	12	16	15.5	19	20
40	8.5	10	11	10.5	14.5	15	17	17.5	18	21
42	4.5	5.5	9.5	9.5	13.5	13.5	16	14.5	18.5	19
43	8.5	8	11	11.5	15.5	16	22	18.5	24	23
44	7	6.5	9.5	9.5	13	14	13.5	16	17	18.5
48	4	4	4.5	4.5	5.5	5.5	6	5.5	8	8
52	8.5	9	9	9.5	11.5	12	13	12.5	17.5	17
72	7	8	10.5	10.5	12	13	15	13	17	16
78	9	9.5	12	12	15	14.5	19.5	21	22	21.5
80	8.5	9	12	11	13	16.5	17.5	18	22	22
81	7	8	9	8.5	14	13	18	18	21	20.5

Elaborado por: Ricardo Vizuite G. 2010.

Tabla A10. Determinación del crecimiento en agar extracto de suelo arenoso.

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	5.5	5	7	7	7.5	7.5	8	8	9	8.5	10	9.5
3	6	6.5	7	6.5	7.5	7	8	7.5	8	8	9	8.5
4	6	5.5	7	6.5	7	8	8	8.5	8	9	9	9.5
5	6	5.5	7	7	7.5	7	8	7.5	8	8.5	10	10
7	5	6	7	7.5	8	7.5	8	9	9	9	10.5	10.5
8	7	6.5	7.5	6.5	9	8.5	9.5	10	10	10.5	10.5	11
9	6.5	6	8.5	8	10.5	10	11	11	11.5	11.5	12	12
11	6	6	6	7	8	8.5	9	9.5	9.5	10	10	11
12	6	6.5	7	7	7.5	7	8.5	9	9	9.5	9.5	9.5
13	6	5	7	6	7.5	8	8	8.5	9	9	10	10
14	5	5	7.5	7	10	9	12	11.5	15.5	15	17.5	16.5
15	6	5.5	7	7	11	10.5	12.5	12	15.5	14.5	15.5	15.5
18	6	5.5	8	7.5	8.5	9	10	9	10	10	11	10.5
19	7.5	7	9	8	9.5	9	9.5	10	10	11	11	12
21	6	6	8.5	8	10	9.5	10.5	10	11.5	11	13	12
22	6	5.5	6	7	8	7.5	8.5	9	10	10	11.5	11
23	5	6	6.5	7	8	8.5	9	9.5	9.5	9.5	10.5	10.5
24	7	6.5	7	8	8	9	9	9.5	10	10	11	12
25	6	6.5	8	8.5	8.5	8.5	9	10	10.5	11	11	11.5
26	6	6	6	7	7	7	8.5	8	10	9.5	11	10
29	7	6.5	8	7	8	8.5	10	10.5	10.5	11	11	11.5
30	7.5	8	9	8.5	11	10.5	11.5	11.5	14.5	14	15	14.5
31	5	6	7	7	7	8	9.5	10	10.5	11	11	11.5
32	5	5	6	6	6.5	7.5	10	10.5	10	11	11	11.5
33	7	7.5	8	9	9.5	10	10.5	11	11	11.5	12	13
35	6.5	7	7	7.5	9	8	9	9	10	10.5	11	11
36	6	6.5	7	7.5	8	8.5	9	9	9	10	10	10.5
37	6.5	6	8	7.5	8.5	9	10	10.5	10	11	11	11.5
38	6.5	6	8	7.5	9.5	8.5	10	9.5	10.5	10	11	11
39	6	6.5	7.5	8	8.5	9.5	9	10.5	10	11	11	12
40	7.5	7	8.5	8	10.5	9.5	11.5	11	13	12	13	13
41	6	6.5	8	7.5	9.5	9	12	11.5	12.5	12.5	13.5	14
42	6	7	8	7	8.5	8	10	9	10	10	11	10.5
43	8	8	10	9.5	10.5	10	10.5	11	11.5	11	12.5	12
44	7	8	8	8	9.5	10.5	10	12	12.5	13	14	14

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla A10. Continuación...

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
46	8	8	10	9	10	10.5	10.5	11	11.5	13	12.5	13
47	7	5.5	7.5	6.5	8	7.5	9	10.5	10.5	11	11	11.5
48	4	4.5	5	4.5	5.5	6	6	6	7	7	7.5	7.5
49	7	7	8	7	9	8	9	8.5	9.5	9	10	10
50	6	6.5	8	7.5	10	9.5	10.5	11	11.5	11.5	12	12
51	6	6	8	7.5	9.5	9	10	11	11	12	12	12.5
52	7	6.5	9	8	9	9	10	9	10	10	11	11.5
53	5	6.5	7	6.5	7	7.5	8	8.5	8.5	9	10	10
54	6	7	8	8	9	8.5	9.5	9	10.5	10	11	11
56	7.5	7	10	9	10	9.5	10.5	11	11	11	12	12
58	6	6	8	8	10	8.5	10	10	10.5	11	12	12
59	6	5.5	8	7.5	9.5	9	10.5	11	11	11.5	12	13
60	7	6.5	8.5	9	9	9.5	9.5	10	10.5	11	11.5	12
62	6	7	8	8	9	8.5	9.5	9	10.5	10	12	12
64	6.5	7	10	9	11	10	11	10.5	12	11	12.5	12
65	7	7	8	7	8	8.5	9	9	12	11.5	13	12
67	9	9.5	11	12.5	12	13.5	14.5	14	15	14.5	16.5	15.5
70	7.5	7	9	9	10	9	10	9.5	10.5	10.5	11.5	11.5
71	7	6.5	9	8	9	9	10	9	10	10	11	11.5
72	7	6	8.5	7	9	8	9	9	10	9.5	10	10
73	6.5	6	7	7	9	8.5	9.5	9	10	10	11.5	11.5
74	7	8	8.5	9	9	9.5	9	10	9.5	10.5	11	11.5
75	7	7	7	8	8	8	9	8	9.5	9	10	10
76	6	6	8	7	8	9	9	9.5	10	10	10.5	10.5
77	6.5	7.5	8	9	8.5	9	9.5	10	10.5	10	11	10.5
78	7.5	7	9	8.5	10	9.5	10	10	11	11.5	11.5	12
79	7.5	7	8	8	10.5	9.5	11	10	11	10.5	12	12
80	7	6.5	10	9.5	10	10.5	10	11	12	12.5	12.5	12.5
81	6	6	7	7.5	9	9.5	10	10	10.5	11	11	11
82	6	6	6.5	7	9	8	11	10	11	11	12	11
83	7	7.5	8	8	8	9	9.5	9	10	10	11	10.5
84	7	6.5	9	8	9	9	10	9	10.5	10	11	11
85	8.5	9.5	10.5	10.5	11.5	10.5	12	11.5	13.5	14.5	14	15
86	7	7.5	9.5	9	9.5	9.5	10.5	11	11.5	12	12	12.5
87	8	8.5	9.5	11	10.5	11	11.5	12	13	13.5	13	14
88	7	8	8	9	10.5	9.5	12	11.5	13.5	13	14	14

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A11. Determinación del crecimiento en agar extracto de suelo arcilloso.

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
1	5	5	6	5	7	6.5	7	7.5	8	7.5	8	8
3	4.5	5	5.5	5.5	7.5	8	8	8	9	8	9	9
4	5	5	6	5	6	5.5	7	6	7	7	8	7
5	4	4	5	4	7	6.5	7	7	9	8	9	9
7	5	3.5	5	5	7.5	6.5	8	7	8	8	8.5	8.5
8	4	4	6	5	7.5	7	8	7.5	8	8	8.5	9
9	5	5	5	6	6.5	6	7	7.5	8	8	9	8.5
11	4	3	4	4	6	6.5	8	8.5	9	8.5	9	9
12	4	3.5	5	5	5.5	7	7	7	8	8	8.5	8.5
13	4	4	6	5	7.5	8	8	8.5	8.5	9	9.5	9
14	4	4.5	6	5.5	7.5	7	8	8.5	9	9	9	10
15	5	4.5	6	5	8	8	8.5	8	9	8.5	9.5	9
18	5	5	6.5	6	7	8.5	8	9	9	9.5	9.5	9.5
19	5	4	6.5	5.5	9	8.5	9.5	9	9.5	10	10	11
21	4	5	6	6	7	7.5	9	9.5	10	10	10.5	10.5
22	4	5	6	5	6.5	7	9	8.5	9.5	10	11	10
23	6	5	7	7	8	8.5	9	10	9.5	10	10	10
24	5	5	7	6	8.5	8	9	8.5	9.5	9.5	10	10
25	4.5	5	6	6	8	7.5	9	9.5	10.5	11	11	11
26	5	4	6	5	8	7.5	9.5	10	10	10	11	10.5
29	6	5	7	6	7	7	8	7.5	9	8	9	9
30	5.5	5	6	6	8	7.5	8	9	9	9	10	9
31	5	4.5	6	7	8	8.5	8.5	9	9	10	10	10
32	4.5	5	5	5.5	7	7.5	9	9.5	10	9.5	10.5	10
33	5.5	5	7	7	8	7.5	9	8.5	10	9	10	10
35	8	7	8.5	8	10	9	10	10	10	11	11	11
36	6	5	6.5	6	7	8	8	8	8.5	9	9	9.5
37	4	4.5	5	6	7.5	7	9	8	11	10	11	10.5
38	5	5	7	6	9	8.5	9.5	9	10.5	11	11	11.5
39	7	6	7.5	7.5	8	8	9.5	9	10	10	10.5	10.5
40	6.5	7.5	8	7.5	9	8.5	10.5	10	11.5	11	12	11.5
41	8	8	9	8	9.5	9	10	10.5	11	11	11.5	11.5
42	5	6	6	7	8	9	10	11	10.5	12	11.5	12
43	7	8	8	8	9	8.5	11	10.5	11.5	11	12.5	12
44	6	5	7	6.5	9	9.5	10	10.5	11	12.5	12	12.5

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A11. Continuación...

Código AX	5Días		10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
46	5	5	7	6	9	8.5	9	9.5	11	10	11	10.5
47	5	5.5	7	7	7.5	8	9	8	10	9	10	10
48	5	5	5.5	6	6.5	7	7	7	7.5	7	9	9
49	7.5	7	8	8	8	9.5	9	9.5	10	10.5	10.5	11
50	6	5	7	6	8.5	8	9.5	9.5	11	10.5	11.5	11
51	6	7	7	8	9	9.5	10	10	11.5	11	11.5	12
52	5	6	6	6	7.5	8.5	8	9	9	9	9.5	9.5
53	5	4	7	5.5	8	7	8	8	9	8	9	9
54	7	6	7	7	8.5	8	9.5	8	9.5	9	10	9.5
56	7	7.5	8	7.5	9	8.5	10	9.5	11.5	11	12	11.5
58	7.5	7.5	8	9	9	9.5	10	9.5	11.5	11	12	12
59	6	6	7	6	8.5	8	9.5	9	10	10.5	11	11
60	5	5	6.5	6	9	8	10	9	11.5	11	12.5	12
62	6	6	7	6.5	7.5	8	9.5	10	11	11.5	11.5	12
64	6	6.5	7.5	7	9.5	9	11	10.5	11	11.5	12	12.5
65	7	6	8	8	8.5	9	9	10	10	10	10.5	10.5
67	6	5	7	7	8	7	9.5	9	11	11	11.5	12
70	6	6	7	6	8	8.5	10	10.5	11.5	11.5	12.5	12
71	5	5.5	6.5	6	9	9.5	10	10	11	10.5	11.5	11
72	5.5	6	7	6	8	7.5	8	9	9	9	10	10
73	5	5.5	8	6.5	8	8.5	9	9	11	10	11	11
74	7	6	7	8	9	8.5	9	9	11	10	11	10.5
75	6	5	8	6.5	8	7.5	8	9	9.5	9.5	10.5	10
76	5	5	6	6	6	7	8	8.5	10	10	11.5	12
77	5	5.5	7	6.5	8	7.5	8	8.5	10	9	11.5	11
78	5	5.5	7.5	6.5	8.5	8	9	9	9.5	10	10	10.5
79	6	6	7	6	8	7.5	9	8	10	9.5	10.5	10
80	7	6	7	7	8	7	9	8.5	10	9	10	10
81	5	6	6	6	7	6.5	7	7.5	8.5	9	9	9.5
82	5	5	5.5	5.5	7.5	7	8.5	8	9	9	10	10
83	7	7	7	8	9	9.5	10	11	11.5	12	12	13.5
84	6	6	7	8	8.5	9	10	9.5	10.5	10	11	10.5
85	7	6	8	8	9	8.5	11	10.5	12.5	12	13	12
86	6.5	6.5	7	6.5	8.5	8	10	9	11	10	11.5	10.5
87	5	5	7.5	7	8.5	9	10	10.5	12.5	12	13	12
88	5	5.5	6.5	6	8	8.5	8.5	9	11	11	11.5	11.5

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A12. Determinación del crecimiento en agar extracto de suelo arenoso (Halo de degradación).

Código AX	10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2								
7	9	9.5	12	11.5	12	13	15	15	18.5	20.5
23	8.5	9	12	12.5	13	13.5	13.5	13.5	16.5	16.5
31	9	9	9	12	13.5	14	14.5	15	17	17.5
40	10.5	10	14.5	13.5	17.5	15	19	18	19	21
42	8	7	10.5	10	12	13	14	14	17	16.5
43	14	11.5	16.5	14	18.5	17	19.5	19.5	24.5	22
44	8	8	11.5	12.5	12	14	16.5	17	20	20
48	5	4.5	5.5	6	6	6	7	7	9.5	9.5
52	11	10	11	11	12	13	14	16	15	17.5
72	10.5	9	13	10	15	15	16	15.5	18	18
78	11	10.5	14	13.5	16	16	17	17.5	21.5	22
80	12	11.5	14	14.5	14	17	18	18.5	18.5	18.5
81	9	9.5	11	13.5	14	14	14.5	15	17	17

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A13. Determinación del crecimiento en agar extracto de suelo arcilloso (Halo de degradación).

Código AX	10Días		15Días		20Días		25Días		30Días	
	R1	R2								
7	7	7	11.5	10.5	14	13	16	16	16.5	16.5
23	9	9	12	12.5	13	14	17.5	18	18	18
31	8	9	14	14.5	16.5	17	19	20	20	18
40	8	7.5	9	8.5	10.5	10	13.5	13	14	13.5
42	10	11	14	17	18	19	20.5	22	23.5	24
43	8	8	11	12.5	17	18.5	21.5	21	22.5	22
44	9	10.5	13	13.5	14	16.5	15	18.5	18	18.5
48	7.5	8	8.5	9	11	11	11.5	11	15	15
52	8	8	9.5	12.5	12	13	15	15	15.5	15.5
72	7	6	10	9.5	10	13	13	13	16	16
78	9.5	8.5	10.5	10	13	13	15.5	16	18	18.5
80	9	9	12	11	13	12.5	16	15	18	18
81	6	6	9	8.5	9	9.5	14.5	15	15	17.5

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla A14. Rango de crecimiento en función de la Temperatura y pH.

Ax	pH's (7 días)							Temperatura (2días)			Temperatura (4días)			Temperatura (7días)		
	3.5	4.5	5.5	6.5	7.5	8.5	9.5	4(c)	37(c)	50(c)	4(c)	37(c)	50(c)	4(c)	37(c)	50(c)
7	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
12	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1
14	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
18	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	1
23	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
31	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
37	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
40	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
41	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	0	0	1	0
42	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1
43	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1
44	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0
49	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1
52	0	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
53	0	1	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1
54	0	1	1	1	1	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0
64	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1
67	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1
72	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1
78	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1
80	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1
81	0	0	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	0	1	1
87	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1
88	0	1	1	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla A15. Taxonomía numérica de datos fenotípicos.

Grupos-especie	Miembros
Grupo 1	Ax-7
Grupo 2	Ax-81
Grupo 3	Ax-12
Grupo 4	Ax-53
Grupo 5	Ax-54
Grupo 6	Ax-49
Grupo 7	Ax-52
Grupo 8	Ax-14, Ax-40
Grupo 9	Ax-18
Grupo 10	Ax-41
Grupo 11	Ax-67
Grupo 12	Ax-87
Grupo 13	Ax-23
Grupo 14	Ax-31, Ax-44
Grupo 15	Ax-37, Ax-72, Ax-42, Ax-43
Grupo 16	Ax-80
Grupo 17	Ax-64
Grupo 18	Ax-78, Ax-88

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla A16. Codificación de bacterias y medios de cultivo.

Factor A.

Tratamiento	Stock	Código AX	Tratamiento	Stock	Código AX
1	802-5	1	37	767-7	47
2	806-1	3	38	767-6	48
3	806-2	4	39	765-4	49
4	806-3	5	40	765-5	50
5	806-5	7	41	765-6	51
6	806-6	8	42	765-7	52
7	806-7	9	43	765-8	53
8	786-22	11	44	765-9	54
9	786-23	12	45	765-11	56
10	786-24	13	46	765-13	58
11	786-25	14	47	758-21	59
12	806-8	15	48	758-22	60
13	802-3	18	49	758-24	62
14	802-4	19	50	758-26	64
15	786-11	21	51	767-8	65
16	786-12	22	52	765-1	67
17	786-13	23	53	758-12	70
18	786-14	24	54	758-13	71
19	786-15	25	55	758-14	72
20	786-16	26	56	758-15	73
21	786-19	29	57	758-16	74
22	786-1	30	58	758-17	75
23	786-2	31	59	758-18	76
24	786-3	32	60	758-19	77
25	786-4	33	61	758-20	78
26	786-6	35	62	758-1	79
27	786-7	36	63	758-10	80
28	786-8	37	64	758-2	81
29	786-9	38	65	758-3	82
30	786-10	39	66	758-4	83
31	765-14	40	67	758-5	84
32	767-1	41	68	758-6	85
33	767-2	42	69	758-7	86
34	767-3	43	70	758-8	87
35	767-5	44	71	758-9	88
36	806-9	46			

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio
1	(1)Petróleo
2	(2)Gasolina
3	(3)Diesel
4	(4)Extracto Suelo Arenoso
5	(5)Extracto Suelo Arcilloso

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla A17. Codificación de bacterias y medios de cultivo para el halo de degradación.

Factor A.

Tratamiento	Stock	Código AX
1	806-5	7
2	786-13	23
3	786-2	31
4	765-14	40
5	767-2	42
6	767-3	43
7	767-5	44
8	767-6	48
9	765-7	52
10	758-14	72
11	758-20	78
12	758-10	80
13	758-2	81

Elaborado por: Ricardo Vizuite G. 2010.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio
1	(1)Petróleo
2	(2)Gasolina
3	(3)Diesel
4	(4)Extracto Suelo Arenoso
5	(5)Extracto Suelo Arcilloso

Elaborado por: Ricardo Vizuite G. 2010.

Tabla A18. Matriz de datos para elaboración del dendrograma.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43																		
					Temperatura (2días)			Temperatura (4días)			Temperatura (7días)			NIVELES TUKEY 5%																																																
	Ax	4.5	5.5	6.5	7.5	4(°c)	37(°c)	50(°c)	4(°c)	37(°c)	50(°c)	4(°c)	37(°c)	50(°c)	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	p	q	Deep cream	Golden yellow	White	Circular	Irregular	Plana	Convexa	Entero	Lobado	Ondulado	Gram	Cápsula	Bacilo																		
		Ax-7	Ax-12	Ax-14	Ax-18	Ax-23	Ax-31	Ax-37	Ax-40	Ax-41	Ax-42	Ax-43	Ax-44	Ax-49	Ax-52	Ax-53	Ax-54	Ax-64	Ax-67	Ax-72	Ax-78	Ax-80	Ax-81	Ax-87	Ax-88																																					
1 Ax-7	7	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1													
2 Ax-12	12	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1												
3 Ax-14	14	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0											
4 Ax-18	18	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0										
5 Ax-23	23	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0								
6 Ax-31	31	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0								
7 Ax-37	37	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0							
8 Ax-40	40	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0								
9 Ax-41	41	1	1	1	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0							
10 Ax-42	42	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0							
11 Ax-43	43	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0						
12 Ax-44	44	1	1	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0						
13 Ax-49	49	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0					
14 Ax-52	52	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0						
15 Ax-53	53	1	1	1	1	0	1	0	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0						
16 Ax-54	54	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0						
17 Ax-64	64	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1				
18 Ax-67	67	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0				
19 Ax-72	72	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0				
20 Ax-78	78	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0				
21 Ax-80	80	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0				
22 Ax-81	81	0	1	1	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1	0						
23 Ax-87	87	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0		
24 Ax-88	88	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0

Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

ANEXO B
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Tabla B1. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 5 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	70	82,9394	1,18485	8,03	0,0000
Factor B	4	1113,53	278,383	1886,89	0,0000
AB	280	312,867	1,11738	7,57	0,0000
Error	355	52,375	0,147535		
Total	709	1561,71			

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B2. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 5 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
34	43	5.250	A
32	41	5.250	A
52	67	5.100	A B
51	65	5.100	A B
26	35	5.100	A B
45	56	5.050	A B C
46	58	5.050	A B C
68	85	5.050	A B C
53	70	5.000	A B C D
50	64	4.950	A B C D E
31	40	4.950	A B C D E
21	29	4.900	A B C D E F
59	76	4.900	A B C D E F
63	80	4.850	A B C D E F G
55	72	4.800	A B C D E F G
66	83	4.800	A B C D E F G
70	87	4.750	A B C D E F G H
44	54	4.750	A B C D E F G H
57	74	4.750	A B C D E F G H
67	84	4.750	A B C D E F G H
61	78	4.700	A B C D E F G H I
13	18	4.700	A B C D E F G H I
27	36	4.650	A B C D E F G H I
2	3	4.650	A B C D E F G H I
14	19	4.600	A B C D E F G H I J
48	60	4.600	A B C D E F G H I J
35	44	4.600	A B C D E F G H I J
39	49	4.600	A B C D E F G H I J
69	86	4.600	A B C D E F G H I J
62	79	4.600	A B C D E F G H I J
12	15	4.550	A B C D E F G H I J K
65	82	4.550	A B C D E F G H I J K
18	24	4.550	A B C D E F G H I J K
49	62	4.550	A B C D E F G H I J K
24	32	4.500	B C D E F G H I J K
60	77	4.500	B C D E F G H I J K
22	30	4.500	B C D E F G H I J K
17	23	4.500	B C D E F G H I J K
10	13	4.500	B C D E F G H I J K
33	42	4.450	B C D E F G H I J K L
54	71	4.450	B C D E F G H I J K L
71	88	4.450	B C D E F G H I J K L
30	39	4.450	B C D E F G H I J K L
40	50	4.450	B C D E F G H I J K L
56	73	4.400	B C D E F G H I J K L
7	9	4.400	B C D E F G H I J K L
19	25	4.400	B C D E F G H I J K L
36	46	4.400	B C D E F G H I J K L
41	51	4.350	C D E F G H I J K L
28	37	4.350	C D E F G H I J K L
9	12	4.350	C D E F G H I J K L
58	75	4.350	C D E F G H I J K L
42	52	4.350	C D E F G H I J K L
25	33	4.300	D E F G H I J K L
64	81	4.250	E F G H I J K L

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B2. Continuación...

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
29	38	4.250	E F G H I J K L
1	1	4.250	E F G H I J K L
3	4	4.200	F G H I J K L
15	21	4.200	F G H I J K L
23	31	4.200	F G H I J K L
47	59	4.150	G H I J K L
43	53	4.150	G H I J K L
8	11	4.150	G H I J K L
6	8	4.150	G H I J K L
5	7	4.050	H I J K L
16	22	4.050	H I J K L
37	47	4.000	I J K L
20	26	3.900	J K L
11	14	3.900	J K L
4	5	3.850	K L
38	48	3.750	L

Elaborado por: Ricardo Vizúete G.2010.

Tabla B3. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 5 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
4	4	6.53873	A
5	5	5.45423	B
3	3	3.73239	C
2	2	3.52465	D
1	1	3.38732	E

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B4. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 5 días.

Interacción AB.

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
67	a52b4	9,25
85	a68b4	9
87	a70b4	8,25
43	a34b4	8
46	a36b4	8
41	a32b5	8
30	a22b4	7,75
44	a35b4	7,5
74	a57b4	7,5
88	a71b4	7,5
35	a26b5	7,5
43	a34b5	7,5
58	a46b5	7,5
76	a59b3	7,25
19	a14b4	7,25
33	a25b4	7,25
40	a31b4	7,25
56	a45b4	7,25
70	a53b4	7,25
78	a61b4	7,25
79	a62b4	7,25
83	a66b4	7,25
86	a69b4	7,25
49	a39b5	7,25
56	a45b5	7,25
49	a39b4	7
65	a51b4	7
75	a58b4	7
77	a60b4	7
40	a31b5	7
83	a66b5	7
8	a6b4	6,75
24	a18b4	6,75
29	a21b4	6,75
35	a26b4	6,75
52	a42b4	6,75
60	a48b4	6,75
64	a50b4	6,75
71	a54b4	6,75
80	a63b4	6,75
84	a67b4	6,75
42	a33b4	6,5
54	a44b4	6,5
62	a49b4	6,5
72	a55b4	6,5
39	a30b5	6,5
51	a41b5	6,5
54	a44b5	6,5
65	a51b5	6,5
74	a57b5	6,5
80	a63b5	6,5
85	a68b5	6,5
86	a69b5	6,5
3	a2b4	6,25
9	a7b4	6,25

Tabla B4. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
12	a9b4	6,25
25	a19b4	6,25
36	a27b4	6,25
37	a28b4	6,25
38	a29b4	6,25
39	a30b4	6,25
41	a32b4	6,25
47	a37b4	6,25
50	a40b4	6,25
73	a56b4	6,25
64	a50b5	6,25
11	a8b4	6
21	a15b4	6
26	a20b4	6
51	a41b4	6
58	a46b4	6
76	a59b4	6
81	a64b4	6
82	a65b4	6
59	a47b5	6
62	a49b5	6
70	a53b5	6
79	a62b5	6
84	a67b5	6
4	a3b4	5,75
5	a4b4	5,75
15	a12b4	5,75
18	a13b4	5,75
22	a16b4	5,75
53	a43b4	5,75
59	a47b4	5,75
72	a55b5	5,75
7	a5b4	5,5
13	a10b4	5,5
23	a17b4	5,5
31	a23b4	5,5
23	a17b5	5,5
29	a21b5	5,5
36	a27b5	5,5
42	a33b5	5,5
44	a35b5	5,5
50	a40b5	5,5
52	a42b5	5,5
67	a52b5	5,5
75	a58b5	5,5
81	a64b5	5,5
1	a1b4	5,25
30	a22b5	5,25
33	a25b5	5,25
47	a37b5	5,25
71	a54b5	5,25
73	a56b5	5,25
77	a60b5	5,25
78	a61b5	5,25
88	a71b5	5,25
14	a11b4	5
32	a24b4	5
1	a1b5	5
4	a3b5	5

Tabla B4. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
9	a7b5	5
18	a13b5	5
24	a18b5	5
38	a29b5	5
46	a36b5	5
48	a38b5	5
60	a48b5	5
76	a59b5	5
82	a65b5	5
87	a70b5	5
13	a10b2	4,75
32	a24b2	4,75
3	a2b3	4,75
15	a12b3	4,75
18	a13b3	4,75
3	a2b5	4,75
15	a12b5	4,75
25	a19b5	4,75
31	a23b5	4,75
32	a24b5	4,75
41	a32b1	4,5
18	a13b2	4,5
19	a14b2	4,5
25	a19b2	4,5
29	a21b2	4,5
13	a10b3	4,5
36	a27b3	4,5
60	a48b3	4,5
64	a50b3	4,5
65	a51b3	4,5
67	a52b3	4,5
72	a55b3	4,5
82	a65b3	4,5
19	a14b5	4,5
21	a15b5	4,5
22	a16b5	4,5
26	a20b5	4,5
53	a43b5	4,5
12	a9b1	4,25
32	a24b1	4,25
58	a46b1	4,25
15	a12b2	4,25
23	a17b2	4,25
24	a18b2	4,25
38	a29b2	4,25
1	a1b3	4,25
4	a3b3	4,25
9	a7b3	4,25
25	a19b3	4,25
29	a21b3	4,25
70	a53b3	4,25
73	a56b3	4,25
78	a61b3	4,25
80	a63b3	4,25
83	a66b3	4,25
85	a68b3	4,25
48	a38b4	4,25
7	a5b5	4,25
14	a11b5	4,25

Tabla B4. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
37	a28b5	4,25
3	a2b2	4
12	a9b2	4
35	a26b2	4
37	a28b2	4
40	a31b2	4
56	a45b2	4
64	a50b2	4
11	a8b3	4
58	a46b3	4
84	a67b3	4
5	a4b5	4
8	a6b5	4
13	a10b5	4
7	a5b1	3,75
13	a10b1	3,75
23	a17b1	3,75
31	a23b1	3,75
35	a26b1	3,75
36	a27b1	3,75
39	a30b1	3,75
42	a33b1	3,75
43	a34b1	3,75
51	a41b1	3,75
65	a51b1	3,75
70	a53b1	3,75
71	a54b1	3,75
84	a67b1	3,75
5	a4b2	3,75
11	a8b2	3,75
31	a23b2	3,75
41	a32b2	3,75
43	a34b2	3,75
48	a38b2	3,75
50	a40b2	3,75
54	a44b2	3,75
65	a51b2	3,75
70	a53b2	3,75
72	a55b2	3,75
82	a65b2	3,75
88	a71b2	3,75
19	a14b3	3,75
21	a15b3	3,75
32	a24b3	3,75
37	a28b3	3,75
41	a32b3	3,75
77	a60b3	3,75
79	a62b3	3,75
87	a70b3	3,75
12	a9b5	3,75
3	a2b1	3,5
9	a7b1	3,5
11	a8b1	3,5
18	a13b1	3,5
21	a15b1	3,5
22	a16b1	3,5
26	a20b1	3,5
29	a21b1	3,5
33	a25b1	3,5

Tabla B4. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
37	a28b1	3,5
44	a35b1	3,5
53	a43b1	3,5
54	a44b1	3,5
60	a48b1	3,5
72	a55b1	3,5
75	a58b1	3,5
80	a63b1	3,5
82	a65b1	3,5
85	a68b1	3,5
1	a1b2	3,5
7	a5b2	3,5
8	a6b2	3,5
14	a11b2	3,5
47	a37b2	3,5
52	a42b2	3,5
53	a43b2	3,5
58	a46b2	3,5
62	a49b2	3,5
76	a59b2	3,5
78	a61b2	3,5
87	a70b2	3,5
8	a6b3	3,5
12	a9b3	3,5
14	a11b3	3,5
22	a16b3	3,5
23	a17b3	3,5
24	a18b3	3,5
35	a26b3	3,5
40	a31b3	3,5
42	a33b3	3,5
46	a36b3	3,5
50	a40b3	3,5
53	a43b3	3,5
54	a44b3	3,5
56	a45b3	3,5
62	a49b3	3,5
71	a54b3	3,5
74	a57b3	3,5
81	a64b3	3,5
86	a69b3	3,5
88	a71b3	3,5
11	a8b5	3,5
1	a1b1	3,25
4	a3b1	3,25
5	a4b1	3,25
14	a11b1	3,25
15	a12b1	3,25
24	a18b1	3,25
25	a19b1	3,25
30	a22b1	3,25
49	a39b1	3,25
50	a40b1	3,25
56	a45b1	3,25
62	a49b1	3,25
64	a50b1	3,25
67	a52b1	3,25
73	a56b1	3,25
77	a60b1	3,25

Tabla B4. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
78	a61b1	3,25
81	a64b1	3,25
83	a66b1	3,25
87	a70b1	3,25
21	a15b2	3,25
30	a22b2	3,25
33	a25b2	3,25
36	a27b2	3,25
39	a30b2	3,25
44	a35b2	3,25
60	a48b2	3,25
74	a57b2	3,25
77	a60b2	3,25
79	a62b2	3,25
80	a63b2	3,25
84	a67b2	3,25
7	a5b3	3,25
31	a23b3	3,25
38	a29b3	3,25
43	a34b3	3,25
44	a35b3	3,25
59	a47b3	3,25
8	a6b1	3
19	a14b1	3
40	a31b1	3
46	a36b1	3
52	a42b1	3
74	a57b1	3
9	a7b2	3
22	a16b2	3
26	a20b2	3
42	a33b2	3
49	a39b2	3
59	a47b2	3
67	a52b2	3
71	a54b2	3
73	a56b2	3
81	a64b2	3
86	a69b2	3
30	a22b3	3
48	a38b3	3
52	a42b3	3
75	a58b3	3
47	a37b1	2,75
48	a38b1	2,75
59	a47b1	2,75
76	a59b1	2,75
79	a62b1	2,75
86	a69b1	2,75
4	a3b2	2,75
51	a41b2	2,75
75	a58b2	2,75
51	a41b3	2,75
38	a29b1	2,5
46	a36b2	2,5
5	a4b3	2,5
26	a20b3	2,5
39	a30b3	2,5
49	a39b3	2,5

Tabla B4. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
88	a71b1	2,25
83	a66b2	2,25
33	a25b3	2,25
47	a37b3	2,25
85	a68b2	2

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B5. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 10 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	70	163,15	2,37071	11,16	0,0000
Factor B	4	1362,67	340,668	1631,53	0,0000
AB	280	355,829	1,27082	6,09	0,0000
Error	355	74,125	0,208803		
Total	709	1955,78			

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B6. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 10 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
68	85	6.700	A
52	67	6.650	AB
34	43	6.550	ABC
63	80	6.500	ABCD
32	41	6.450	ABCDE
31	40	6.400	ABCDEF
70	87	6.350	ABCDEFG
46	58	6.300	ABCDEFGH
61	78	6.300	ABCDEFGH
69	86	6.250	ABCDEFGHI
67	84	6.250	ABCDEFGHI
45	56	6.200	ABCDEFGHIJ
59	76	6.150	ABCDEFGHIJK
51	65	6.100	ABCDEFGHIJKL
50	64	6.050	ABCDEFGHIJKLM
53	70	6.050	ABCDEFGHIJKLM
57	74	6.050	ABCDEFGHIJKLM
44	54	6.050	ABCDEFGHIJKLM
35	44	6.000	ABCDEFGHIJKLMN
60	77	5.900	ABCDEFGHIJKLMNO
66	83	5.850	ABCDEFGHIJKLMNO
13	18	5.850	ABCDEFGHIJKLMNO
48	60	5.800	BCDEFGHIJKLMNOP
62	79	5.800	BCDEFGHIJKLMNOP
19	25	5.750	CDEFGHIJKLMNOP
26	35	5.750	CDEFGHIJKLMNOP
56	73	5.700	CDEFGHIJKLMNOPQ

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B6. Continuación...

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
21	29	5.650	DEFGHIJKLMNOPQ
42	52	5.650	DEFGHIJKLMNOPQ
49	62	5.650	DEFGHIJKLMNOPQ
71	88	5.650	DEFGHIJKLMNOPQ
12	15	5.650	DEFGHIJKLMNOPQ
28	37	5.650	DEFGHIJKLMNOPQ
15	21	5.600	EFGHIJKLMNOPQR
55	72	5.600	EFGHIJKLMNOPQR
39	49	5.600	EFGHIJKLMNOPQR
10	13	5.600	EFGHIJKLMNOPQR
27	36	5.600	EFGHIJKLMNOPQR
30	39	5.550	FGHIJKLMNOPQRS
14	19	5.550	FGHIJKLMNOPQRS
25	33	5.550	FGHIJKLMNOPQRS
18	24	5.500	GHIJKLMNOPQRS
36	46	5.500	GHIJKLMNOPQRS
40	50	5.500	GHIJKLMNOPQRS
64	81	5.450	HJKLMNOPQRS
33	42	5.450	HJKLMNOPQRS
54	71	5.450	HJKLMNOPQRS
22	30	5.450	HJKLMNOPQRS
58	75	5.450	HJKLMNOPQRS
2	3	5.400	IJKLMNOPQRS
7	9	5.400	IJKLMNOPQRS
29	38	5.400	IJKLMNOPQRS
43	53	5.400	IJKLMNOPQRS
65	82	5.400	IJKLMNOPQRS
17	23	5.350	JKLMNOPQRS
11	14	5.300	KLMNOPQRS
41	51	5.300	KLMNOPQRS
23	31	5.300	KLMNOPQRS
47	59	5.300	KLMNOPQRS
1	1	5.250	LMNOPQRS
6	8	5.200	MNOPQRS
3	4	5.150	NOPQRST
24	32	5.150	NOPQRST
5	7	5.100	OPQRST
9	12	5.100	OPQRST
37	47	5.050	OPQRST
16	22	4.950	PQRST
8	11	4.850	QRST
20	26	4.750	RST
4	5	4.700	ST
38	48	4.300	T

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B7. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 10 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
4	4	7,87676	A
5	5	6,50704	B
3	3	5,32042	C
2	2	4,30282	D
1	1	4,24296	D

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B8. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 10 días.

Interacción AB.

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
67	a52b4	11,75
85	a68b4	10,5
87	a70b4	10,25
43	a34b4	9,75
80	a63b4	9,75
46	a36b4	9,5
56	a45b4	9,5
64	a50b4	9,5
86	a69b4	9,25
70	a53b4	9
30	a22b4	8,75
60	a48b4	8,75
74	a57b4	8,75
78	a61b4	8,75
19	a14b4	8,5
33	a25b4	8,5
52	a42b4	8,5
71	a54b4	8,5
77	a60b4	8,5
84	a67b4	8,5
88	a71b4	8,5
41	a32b5	8,5
58	a46b5	8,5
76	a59b3	8,25
9	a7b4	8,25
21	a15b4	8,25
25	a19b4	8,25
40	a31b4	8,25
35	a26b5	8,25
44	a35b4	8
54	a44b4	8
58	a46b4	8
62	a49b4	8
79	a62b4	8
83	a66b4	8
43	a34b5	8
49	a39b5	8
65	a51b5	8
85	a68b5	8
18	a13b4	7,75
37	a28b4	7,75
38	a29b4	7,75
39	a30b4	7,75
41	a32b4	7,75
50	a40b4	7,75
51	a41b4	7,75
59	a47b4	7,75
72	a55b4	7,75
40	a31b5	7,75
56	a45b5	7,75
24	a18b4	7,5
29	a21b4	7,5
42	a33b4	7,5
49	a39b4	7,5
65	a51b4	7,5

Tabla B8. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
75	a58b4	7,5
76	a59b4	7,5
39	a30b5	7,5
51	a41b5	7,5
74	a57b5	7,5
83	a66b5	7,5
84	a67b5	7,5
40	a31b3	7,25
41	a32b3	7,25
78	a61b3	7,25
86	a69b3	7,25
7	a5b4	7,25
14	a11b4	7,25
35	a26b4	7,25
36	a27b4	7,25
81	a64b4	7,25
64	a50b5	7,25
73	a56b5	7,25
75	a58b5	7,25
87	a70b5	7,25
1	a1b4	7
5	a4b4	7
8	a6b4	7
12	a9b4	7
15	a12b4	7
31	a23b4	7
47	a37b4	7
73	a56b4	7
23	a17b5	7
33	a25b5	7
47	a37b5	7
54	a44b5	7
67	a52b5	7
78	a61b5	7
80	a63b5	7
44	a35b3	6,75
54	a44b3	6,75
67	a52b3	6,75
80	a63b3	6,75
3	a2b4	6,75
4	a3b4	6,75
23	a17b4	6,75
53	a43b4	6,75
82	a65b4	6,75
44	a35b5	6,75
62	a49b5	6,75
77	a60b5	6,75
86	a69b5	6,75
15	a12b3	6,5
79	a62b3	6,5
84	a67b3	6,5
11	a8b4	6,5
13	a10b4	6,5
22	a16b4	6,5
26	a20b4	6,5
24	a18b5	6,5
29	a21b5	6,5
31	a23b5	6,5
38	a29b5	6,5

Tabla B8. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
42	a33b5	6,5
46	a36b5	6,5
50	a40b5	6,5
59	a47b5	6,5
70	a53b5	6,5
72	a55b5	6,5
79	a62b5	6,5
3	a2b3	6,25
13	a10b3	6,25
18	a13b3	6,25
36	a27b3	6,25
37	a28b3	6,25
43	a34b3	6,25
58	a46b3	6,25
65	a51b3	6,25
82	a65b3	6,25
83	a66b3	6,25
85	a68b3	6,25
18	a13b5	6,25
36	a27b5	6,25
53	a43b5	6,25
60	a48b5	6,25
71	a54b5	6,25
88	a71b5	6,25
87	a70b3	6
32	a24b4	6
19	a14b5	6
21	a15b5	6
25	a19b5	6
30	a22b5	6
52	a42b5	6
76	a59b5	6
81	a64b5	6
70	a53b3	5,75
73	a56b3	5,75
74	a57b3	5,75
77	a60b3	5,75
14	a11b5	5,75
48	a38b5	5,75
13	a10b2	5,5
4	a3b3	5,5
60	a48b3	5,5
64	a50b3	5,5
72	a55b3	5,5
81	a64b3	5,5
1	a1b5	5,5
3	a2b5	5,5
4	a3b5	5,5
8	a6b5	5,5
9	a7b5	5,5
13	a10b5	5,5
15	a12b5	5,5
22	a16b5	5,5
26	a20b5	5,5
37	a28b5	5,5
82	a65b5	5,5
1	a1b3	5,25
9	a7b3	5,25

Tabla B8. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
25	a19b3	5,25
46	a36b3	5,25
53	a43b3	5,25
88	a71b3	5,25
32	a24b5	5,25
21	a15b1	5
29	a21b2	5
32	a24b2	5
32	a24b3	5
42	a33b3	5
56	a45b3	5
7	a5b5	5
12	a9b5	5
7	a5b1	4,75
12	a9b1	4,75
24	a18b1	4,75
85	a68b1	4,75
15	a12b2	4,75
18	a13b2	4,75
19	a14b2	4,75
23	a17b2	4,75
25	a19b2	4,75
62	a49b2	4,75
84	a67b2	4,75
11	a8b3	4,75
21	a15b3	4,75
29	a21b3	4,75
52	a42b3	4,75
48	a38b4	4,75
5	a4b1	4,5
8	a6b1	4,5
11	a8b1	4,5
14	a11b1	4,5
15	a12b1	4,5
19	a14b1	4,5
22	a16b1	4,5
25	a19b1	4,5
26	a20b1	4,5
29	a21b1	4,5
31	a23b1	4,5
32	a24b1	4,5
33	a25b1	4,5
35	a26b1	4,5
41	a32b1	4,5
43	a34b1	4,5
51	a41b1	4,5
52	a42b1	4,5
53	a43b1	4,5
58	a46b1	4,5
70	a53b1	4,5
76	a59b1	4,5
80	a63b1	4,5
81	a64b1	4,5
8	a6b2	4,5
11	a8b2	4,5
12	a9b2	4,5
14	a11b2	4,5
24	a18b2	4,5
35	a26b2	4,5

Tabla B8. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
37	a28b2	4,5
38	a29b2	4,5
40	a31b2	4,5
44	a35b2	4,5
50	a40b2	4,5
52	a42b2	4,5
56	a45b2	4,5
64	a50b2	4,5
65	a51b2	4,5
70	a53b2	4,5
72	a55b2	4,5
76	a59b2	4,5
80	a63b2	4,5
88	a71b2	4,5
8	a6b3	4,5
14	a11b3	4,5
22	a16b3	4,5
50	a40b3	4,5
62	a49b3	4,5
71	a54b3	4,5
5	a4b5	4,5
1	a1b1	4,25
3	a2b1	4,25
13	a10b1	4,25
18	a13b1	4,25
23	a17b1	4,25
30	a22b1	4,25
37	a28b1	4,25
39	a30b1	4,25
40	a31b1	4,25
42	a33b1	4,25
49	a39b1	4,25
50	a40b1	4,25
54	a44b1	4,25
56	a45b1	4,25
60	a48b1	4,25
62	a49b1	4,25
65	a51b1	4,25
71	a54b1	4,25
73	a56b1	4,25
75	a58b1	4,25
77	a60b1	4,25
78	a61b1	4,25
82	a65b1	4,25
86	a69b1	4,25
1	a1b2	4,25
3	a2b2	4,25
4	a3b2	4,25
5	a4b2	4,25
7	a5b2	4,25
31	a23b2	4,25
33	a25b2	4,25
36	a27b2	4,25
39	a30b2	4,25
41	a32b2	4,25
43	a34b2	4,25
47	a37b2	4,25
48	a38b2	4,25
53	a43b2	4,25

Tabla B8. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
54	a44b2	4,25
58	a46b2	4,25
60	a48b2	4,25
73	a56b2	4,25
74	a57b2	4,25
77	a60b2	4,25
78	a61b2	4,25
82	a65b2	4,25
87	a70b2	4,25
7	a5b3	4,25
12	a9b3	4,25
24	a18b3	4,25
30	a22b3	4,25
31	a23b3	4,25
35	a26b3	4,25
38	a29b3	4,25
47	a37b3	4,25
49	a39b3	4,25
59	a47b3	4,25
75	a58b3	4,25
9	a7b1	4
36	a27b1	4
38	a29b1	4
44	a35b1	4
59	a47b1	4
67	a52b1	4
74	a57b1	4
79	a62b1	4
83	a66b1	4
84	a67b1	4
87	a70b1	4
9	a7b2	4
21	a15b2	4
26	a20b2	4
30	a22b2	4
42	a33b2	4
49	a39b2	4
59	a47b2	4
75	a58b2	4
79	a62b2	4
81	a64b2	4
85	a68b2	4
19	a14b3	4
23	a17b3	4
39	a30b3	4
48	a38b3	4
11	a8b5	4
4	a3b1	3,75
72	a55b1	3,75
88	a71b1	3,75
22	a16b2	3,75
67	a52b2	3,75
71	a54b2	3,75
86	a69b2	3,75
64	a50b1	3,5
83	a66b2	3,5
33	a25b3	3,5
51	a41b3	3,5
46	a36b2	3,25

Tabla B8. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
51	a41b2	3,25
5	a4b3	3,25
26	a20b3	3,25
46	a36b1	3
47	a37b1	2,75
48	a38b1	2,75

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B9. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 10 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	12	73,777	6,148	18,9172	0,0000
Factor B	4	434,412	108,603	334,1627	0,0000
AB	48	179,588	3,741	11,5121	0,0000
Error	65	21,125	0,325		
Total	129	708,902			

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B10. Separación de medias para el halo de degradación a los 10 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
12	80	8.100	A
11	78	7.900	A
6	43	7.550	A
2	23	7.350	A
9	52	7.250	A
4	40	7.200	A
3	31	6.900	A B
1	7	6.700	A B
5	42	6.650	A B
7	44	6.600	A B
10	72	6.400	A B
13	81	6.250	A B
8	48	5.100	B

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B11. Separación de medias para el halo de degradación a los 10 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
4	4	9.404	A
5	5	8.212	B
3	3	7.269	C
2	2	5.192	D
1	1	4.519	E

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B12. Separación de medias para el halo de degradación a los 10 días.

Interacción AB.

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
43	4	a6b4	12.75	A
80	4	a12b4	11.75	AB
78	4	a11b4	10.75	ABC
42	5	a5b5	10.50	ABCD
52	4	a9b4	10.50	ABCD
40	4	a4b4	10.25	ABCDE
44	5	a7b5	9.750	BCDEF
72	4	a10b4	9.750	BCDEF
7	4	a1b4	9.250	BCDEFG
40	3	a4b3	9.250	BCDEFG
78	3	a11b3	9.250	BCDEFG
81	4	a13b4	9.250	BCDEFG
23	5	a2b5	9.000	CDEFGH
31	4	a3b4	9.000	CDEFGH
78	5	a11b5	9.000	CDEFGH
80	5	a12b5	9.000	CDEFGH
23	4	a2b4	8.750	CDEFGHI
52	3	a9b3	8.750	CDEFGHI
80	3	a12b3	8.750	CDEFGHI
31	5	a3b5	8.500	CDEFGHIJ
43	3	a6b3	8.250	CDEFGHIJ
43	5	a6b5	8.000	DEFGHIJ
44	4	a7b4	8.000	DEFGHIJ
52	5	a9b5	8.000	DEFGHIJ
23	2	a2b2	7.750	EFGHIJ
40	5	a4b5	7.750	EFGHIJ
48	5	a8b5	7.750	EFGHIJ
42	4	a5b4	7.500	FGHIJK
72	3	a10b3	7.500	FGHIJK
81	3	a13b3	7.500	FGHIJK

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B12. Continuación...

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
7	5	a1b5	7.000	GHIJKL
23	3	a2b3	7.000	GHIJKL
44	3	a7b3	6.750	GHIJKLM
72	5	a10b5	6.500	HIJKLMN
80	1	a12b1	6.500	HIJKLMN
7	2	a1b2	6.250	IJKLMNO
7	3	a1b3	6.250	IJKLMNO
44	2	a3b2	6.250	IJKLMNO
31	3	a3b3	6.250	IJKLMNO
48	2	a8b2	6.250	IJKLMNO
78	1	a11b1	6.250	IJKLMNO
42	2	a5b2	6.000	JKLMNO
81	5	a13b5	6.000	JKLMNO
42	3	a5b3	5.000	KLMNOP
7	1	a1b1	4.750	LMNOP
48	4	a8b4	4.750	LMNOP
31	1	a3b1	4.500	LMNOP
40	2	a4b2	4.500	LMNOP
43	1	a6b1	4.500	LMNOP
44	2	a7b2	4.500	LMNOP
52	1	a9b1	4.500	LMNOP
52	2	a9b2	4.500	LMNOP
72	2	a10b2	4.500	LMNOP
80	2	a12b2	4.500	LMNOP
81	1	a13b1	4.500	LMNOP
23	1	a2b1	4.250	MNOP
40	1	a4b1	4.250	MNOP
42	1	a5b1	4.250	MNOP
43	2	a6b2	4.250	MNOP
78	2	a11b2	4.250	MNOP
44	1	a7b1	4.000	NOP
48	3	a8b3	4.000	NOP
81	2	a13b2	4.000	NOP
72	1	a10b1	3.750	OP
48	1	a8b1	2.750	P

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B13. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 15 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	70	200,539	2,86485	14,37	0,0000
Factor B	4	1437,82	359,455	1803,63	0,0000
AB	280	488,13	1,74332	8,75	0,0000
Error	355	70,75	0,199296		
Total	709	2197,24			

Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

Tabla B14. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 15 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
52	67	8.150	A
12	15	8.000	AB
70	87	7.800	ABC
13	18	7.750	ABCD
31	40	7.650	ABCDE
68	85	7.650	ABCDE
59	76	7.600	ABCDEF
32	41	7.600	ABCDEF
34	43	7.550	ABCDEFG
35	44	7.500	ABCDEFGH
61	78	7.500	ABCDEFGH
71	88	7.500	ABCDEFGH
67	84	7.500	ABCDEFGH
50	64	7.450	ABCDEFGHI
63	80	7.400	ABCDEFGHIJ
51	65	7.400	ABCDEFGHIJ
15	21	7.300	BCDEFGHIJK
46	58	7.300	BCDEFGHIJK
40	50	7.250	BCDEFGHIJKL
53	70	7.200	BCDEFGHIJKLM
69	86	7.150	CDEFGHIJKLM
45	56	7.150	CDEFGHIJKLM
62	79	7.150	CDEFGHIJKLM
44	54	7.150	CDEFGHIJKLM
54	71	7.100	CDEFGHIJKLMN
57	74	7.100	CDEFGHIJKLMN
22	30	7.100	CDEFGHIJKLMN
14	19	7.050	CDEFGHIJKLMNO
19	25	7.050	CDEFGHIJKLMNO
56	73	7.050	CDEFGHIJKLMNO
10	13	7.000	CDEFGHIJKLMNO
18	24	7.000	CDEFGHIJKLMNO
66	83	7.000	CDEFGHIJKLMNO
26	35	7.000	CDEFGHIJKLMNO
65	82	7.000	CDEFGHIJKLMNO

Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

Tabla B14. Continuación...

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
55	72	6.950	DEFGHIJKLMNO
48	60	6.900	EFGHIJKLMNOP
43	53	6.850	EFGHIJKLMNOP
29	38	6.800	FGHIJKLMNPOQ
17	23	6.800	FGHIJKLMNPOQ
11	14	6.800	FGHIJKLMNPOQ
49	62	6.800	FGHIJKLMNPOQ
47	59	6.750	GHIJKLMNPOQ
60	77	6.750	GHIJKLMNPOQ
28	37	6.750	GHIJKLMNPOQ
36	46	6.750	GHIJKLMNPOQ
33	42	6.750	GHIJKLMNPOQ
64	81	6.750	GHIJKLMNPOQ
6	8	6.700	HIJKLMNPOQR
7	9	6.700	HIJKLMNPOQR
23	31	6.700	HIJKLMNPOQR
2	3	6.650	IJKLMNPOQR
8	11	6.600	JKLMNPOQRS
27	36	6.600	JKLMNPOQRS
42	52	6.600	JKLMNPOQRS
41	51	6.550	KLMNPOQRS
39	49	6.550	KLMNPOQRS
5	7	6.500	KLMNPOQRS
21	29	6.450	LMNPOQRS
25	33	6.450	LMNPOQRS
9	12	6.400	MNPOQRS
16	22	6.400	MNPOQRS
30	39	6.300	NOPQRS
58	75	6.300	NOPQRS
1	1	6.300	NOPQRS
24	32	6.250	OPQRS
3	4	6.100	PQRS
20	26	6.000	QRST
4	5	5.900	RST
37	47	5.800	ST
38	48	5.200	T

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B15. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 15 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
4	4	8,91197	A
5	5	7,94366	B
3	3	7,07746	C
2	2	5,55282	D
1	1	5,12676	E

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B16. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 15 días.

Interacción AB.

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
67	a52b4	12,75
18	a13b3	12
76	a59b3	12
85	a68b4	11
15	a12b4	10,75
30	a22b4	10,75
87	a70b4	10,75
64	a50b4	10,5
9	a7b4	10,25
43	a34b4	10,25
46	a36b4	10,25
80	a63b4	10,25
15	a12b3	10
40	a31b4	10
44	a35b4	10
79	a62b4	10
88	a71b4	10
21	a15b4	9,75
33	a25b4	9,75
50	a40b4	9,75
56	a45b4	9,75
78	a61b4	9,75
14	a11b4	9,5
70	a53b4	9,5
86	a69b4	9,5
35	a26b5	9,5
19	a14b4	9,25
41	a32b4	9,25
51	a41b4	9,25
58	a46b4	9,25
59	a47b4	9,25
60	a48b4	9,25
74	a57b4	9,25
81	a64b4	9,25
41	a32b5	9,25
44	a35b5	9,25
51	a41b5	9,25
58	a46b5	9,25
64	a50b5	9,25
71	a54b5	9,25
83	a66b5	9,25
38	a29b4	9
39	a30b4	9
52	a42b4	9
71	a54b4	9
84	a67b4	9
3	a2b3	8,75
21	a15b3	8,75
40	a31b3	8,75
8	a6b4	8,75
18	a13b4	8,75
37	a28b4	8,75
54	a44b4	8,75
62	a49b4	8,75
73	a56b4	8,75
77	a60b4	8,75
19	a14b5	8,75
38	a29b5	8,75
40	a31b5	8,75
43	a34b5	8,75
46	a36b5	8,75

Tabla B16. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
49	a39b5	8,75
56	a45b5	8,75
65	a51b5	8,75
74	a57b5	8,75
84	a67b5	8,75
85	a68b5	8,75
87	a70b5	8,75
67	a52b3	8,5
84	a67b3	8,5
24	a18b4	8,5
25	a19b4	8,5
35	a26b4	8,5
49	a39b4	8,5
72	a55b4	8,5
76	a59b4	8,5
82	a65b4	8,5
83	a66b4	8,5
42	a33b5	8,5
60	a48b5	8,5
4	a3b3	8,25
11	a8b3	8,25
13	a10b3	8,25
41	a32b3	8,25
65	a51b3	8,25
85	a68b3	8,25
86	a69b3	8,25
11	a8b4	8,25
23	a17b4	8,25
29	a21b4	8,25
36	a27b4	8,25
42	a33b4	8,25
65	a51b4	8,25
23	a17b5	8,25
24	a18b5	8,25
31	a23b5	8,25
50	a40b5	8,25
54	a44b5	8,25
59	a47b5	8,25
70	a53b5	8,25
73	a56b5	8,25
78	a61b5	8,25
86	a69b5	8,25
88	a71b5	8,25
54	a44b3	8
78	a61b3	8
75	a58b4	8
15	a12b5	8
39	a30b5	8
52	a42b5	8
24	a18b3	7,75
53	a43b3	7,75
70	a53b3	7,75
83	a66b3	7,75
87	a70b3	7,75
7	a5b4	7,75
13	a10b4	7,75
22	a16b4	7,75
47	a37b4	7,75
3	a2b5	7,75
13	a10b5	7,75
18	a13b5	7,75
25	a19b5	7,75
26	a20b5	7,75
30	a22b5	7,75
33	a25b5	7,75
47	a37b5	7,75

Tabla B16. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
62	a49b5	7,75
72	a55b5	7,75
75	a58b5	7,75
77	a60b5	7,75
79	a62b5	7,75
25	a19b3	7,5
44	a35b3	7,5
80	a63b3	7,5
88	a71b3	7,5
1	a1b4	7,5
4	a3b4	7,5
31	a23b4	7,5
36	a27b5	7,5
53	a43b5	7,5
67	a52b5	7,5
80	a63b5	7,5
1	a1b3	7,25
9	a7b3	7,25
12	a9b3	7,25
22	a16b3	7,25
37	a28b3	7,25
43	a34b3	7,25
46	a36b3	7,25
64	a50b3	7,25
74	a57b3	7,25
79	a62b3	7,25
82	a65b3	7,25
3	a2b4	7,25
5	a4b4	7,25
12	a9b4	7,25
53	a43b4	7,25
8	a6b5	7,25
14	a11b5	7,25
21	a15b5	7,25
32	a24b5	7,25
37	a28b5	7,25
82	a65b5	7,25
7	a5b3	7
36	a27b3	7
58	a46b3	7
26	a20b4	7
32	a24b4	7
7	a5b5	7
29	a21b5	7
13	a10b2	6,75
56	a45b2	6,75
67	a52b2	6,75
80	a63b2	6,75
8	a6b3	6,75
14	a11b3	6,75
19	a14b3	6,75
23	a17b3	6,75
31	a23b3	6,75
60	a48b3	6,75
62	a49b3	6,75
73	a56b3	6,75
77	a60b3	6,75
81	a64b3	6,75
1	a1b5	6,75
5	a4b5	6,75
22	a16b5	6,75
48	a38b5	6,75
81	a64b5	6,75
15	a12b2	6,5
25	a19b2	6,5
50	a40b2	6,5

Tabla B16. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
65	a51b2	6,5
78	a61b2	6,5
88	a71b2	6,5
32	a24b3	6,5
50	a40b3	6,5
72	a55b3	6,5
76	a59b5	6,5
35	a26b1	6,25
42	a33b2	6,25
64	a50b2	6,25
72	a55b2	6,25
82	a65b2	6,25
29	a21b3	6,25
71	a54b3	6,25
9	a7b5	6,25
11	a8b5	6,25
12	a9b5	6,25
53	a43b1	6
41	a32b2	6
87	a70b2	6
30	a22b3	6
38	a29b3	6
30	a22b1	5,75
43	a34b1	5,75
72	a55b1	5,75
73	a56b1	5,75
82	a65b1	5,75
84	a67b1	5,75
87	a70b1	5,75
12	a9b2	5,75
23	a17b2	5,75
31	a23b2	5,75
38	a29b2	5,75
40	a31b2	5,75
43	a34b2	5,75
49	a39b2	5,75
53	a43b2	5,75
58	a46b2	5,75
73	a56b2	5,75
81	a64b2	5,75
26	a20b3	5,75
48	a38b4	5,75
4	a3b5	5,75
1	a1b1	5,5
12	a9b1	5,5
21	a15b1	5,5
24	a18b1	5,5
33	a25b1	5,5
51	a41b1	5,5
52	a42b1	5,5
54	a44b1	5,5
59	a47b1	5,5
71	a54b1	5,5
75	a58b1	5,5
76	a59b1	5,5
79	a62b1	5,5
7	a5b2	5,5
8	a6b2	5,5
14	a11b2	5,5
18	a13b2	5,5
19	a14b2	5,5
29	a21b2	5,5
32	a24b2	5,5
35	a26b2	5,5
44	a35b2	5,5
47	a37b2	5,5

Tabla B16. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
48	a38b2	5,5
62	a49b2	5,5
71	a54b2	5,5
76	a59b2	5,5
77	a60b2	5,5
84	a67b2	5,5
5	a4b3	5,5
42	a33b3	5,5
56	a45b3	5,5
59	a47b3	5,5
7	a5b1	5,25
8	a6b1	5,25
29	a21b1	5,25
31	a23b1	5,25
37	a28b1	5,25
41	a32b1	5,25
42	a33b1	5,25
44	a35b1	5,25
50	a40b1	5,25
58	a46b1	5,25
62	a49b1	5,25
65	a51b1	5,25
67	a52b1	5,25
70	a53b1	5,25
81	a64b1	5,25
83	a66b1	5,25
88	a71b1	5,25
5	a4b2	5,25
9	a7b2	5,25
11	a8b2	5,25
21	a15b2	5,25
22	a16b2	5,25
30	a22b2	5,25
33	a25b2	5,25
36	a27b2	5,25
37	a28b2	5,25
52	a42b2	5,25
54	a44b2	5,25
59	a47b2	5,25
70	a53b2	5,25
74	a57b2	5,25
75	a58b2	5,25
79	a62b2	5,25
85	a68b2	5,25
86	a69b2	5,25
35	a26b3	5,25
52	a42b3	5,25
11	a8b1	5
14	a11b1	5
19	a14b1	5
22	a16b1	5
23	a17b1	5
25	a19b1	5
26	a20b1	5
32	a24b1	5
36	a27b1	5
39	a30b1	5
40	a31b1	5
49	a39b1	5
56	a45b1	5
60	a48b1	5
74	a57b1	5
77	a60b1	5
78	a61b1	5
80	a63b1	5
85	a68b1	5

Tabla B16. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
24	a18b2	5
60	a48b2	5
39	a30b3	5
75	a58b3	5
3	a2b1	4,75
5	a4b1	4,75
15	a12b1	4,75
18	a13b1	4,75
3	a2b2	4,75
47	a37b3	4,75
49	a39b3	4,75
4	a3b1	4,5
9	a7b1	4,5
13	a10b1	4,5
38	a29b1	4,5
86	a69b1	4,5
1	a1b2	4,5
4	a3b2	4,5
26	a20b2	4,5
39	a30b2	4,5
51	a41b2	4,5
48	a38b3	4,5
83	a66b2	4,25
51	a41b3	4,25
64	a50b1	4
46	a36b2	4
33	a25b3	4
46	a36b1	3,5
48	a38b1	3,5
47	a37b1	3,25

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla B17. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 15 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	12	206,6	17,217	26,409	0,0000
Factor B	4	442,758	110,689	169,7891	0,0000
AB	48	223,092	4,648	7,1293	0,0000
Error	65	42,375	0,652		
Total	129	914,825			

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla B18. Separación de medias para el halo de degradación a los 15 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
12	80	11.40	A
6	43	11.15	A
11	78	10.50	A
2	23	10.40	A
5	42	10.15	A
3	31	10.10	A
1	7	9.900	A
7	44	9.500	A
4	40	9.250	A
10	72	9.150	A
13	81	8.950	A B
9	52	8.800	A B
8	48	6.200	B

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B19. Separación de medias para el halo de degradación a los 15 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
4	4	11.88	A
5	5	11.29	B
3	3	9.769	C
2	2	8.481	D
1	1	6.827	E

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B20. Separación de medias para el halo de degradación a los 15 días.

Interacción AB.

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
42	5	a5b5	15.50	A
43	4	a6b4	15.25	AB
31	5	a3b5	14.25	ABC
80	4	a12b4	14.25	ABC
40	4	a4b4	14.00	ABCD
78	4	a11b4	13.75	ABCDE
44	5	a7b5	13.25	ABCDEF
23	4	a2b4	12.25	ABCDEFGF
23	5	a2b5	12.25	ABCDEFGF
81	4	a13b4	12.25	ABCDEFGF
44	4	a7b4	12.00	ABCDEFGH
78	3	a11b3	12.00	ABCDEFGH
7	4	a1b4	11.75	BCDEFGHI
43	5	a6b5	11.75	BCDEFGHI
72	4	a10b4	11.50	CDEFGHIJ
80	3	a12b3	11.50	CDEFGHIJ
80	5	a12b5	11.50	CDEFGHIJ
43	3	a6b3	11.25	CDEFGHIJK
7	5	a1b5	11.00	CDEFGHIJKL
52	4	a9b4	11.00	CDEFGHIJKL
52	5	a9b5	11.00	CDEFGHIJKL
23	3	a2b3	10.75	CDEFGHIJKLM
40	3	a4b3	10.75	CDEFGHIJKLM
80	2	a12b2	10.75	CDEFGHIJKLM
31	4	a3b4	10.50	DEFGHIJKLMN
72	3	a10b3	10.50	DEFGHIJKLMN
42	4	a5b4	10.25	EFGHIJKLMN
78	5	a11b5	10.25	EFGHIJKLMN
7	3	a1b3	10.00	FGHIJKLMN
23	2	a2b2	9.750	FGHIJKLMN
43	1	a6b1	9.750	FGHIJKLMN
72	5	a10b5	9.750	FGHIJKLMN
7	2	a1b2	9.500	GHIJKLMN
42	3	a5b3	9.500	GHIJKLMN
44	3	a7b3	9.500	GHIJKLMN
52	3	a9b3	9.250	GHIJKLMNO
80	1	a12b1	9.000	GHIJKLMNOP
31	2	a3b2	8.750	GHIJKLMNOPQ
31	3	a3b3	8.750	GHIJKLMNOPQ
40	5	a4b5	8.750	GHIJKLMNOPQ
48	5	a8b5	8.750	GHIJKLMNOPQ
81	3	a13b3	8.750	GHIJKLMNOPQ
81	5	a13b5	8.750	GHIJKLMNOPQ

Tabla B20. Continuación...

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
48	2	a8b2	8.500	HIJKLMNOPQR
78	2	a11b2	8.500	HIJKLMNOPQR
31	1	a3b1	8.250	IJKLMNOPQR
42	2	a5b2	8.250	IJKLMNOPQR
72	2	a10b2	8.250	IJKLMNOPQR
78	1	a11b1	8.000	JKLMNOPQRS
40	2	a4b2	7.750	KLMNOPQRS
43	2	a6b2	7.750	KLMNOPQRS
81	2	a13b2	7.750	KLMNOPQRS
44	2	a7b2	7.500	LMNOPQRS
7	1	a1b1	7.250	MNOPQRS
42	1	a5b1	7.250	MNOPQRS
52	2	a9b2	7.250	MNOPQRS
81	1	a13b1	7.250	MNOPQRS
23	1	a2b1	7.000	NOPQRST
48	4	a8b4	5.750	OPQRST
72	1	a10b1	5.750	OPQRST
52	1	a9b1	5.500	PQRST
44	1	a7b1	5.250	QRST
40	1	a4b1	5.000	RST
48	3	a8b3	4.500	ST
48	1	a8b1	3.500	T

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla B21. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 20 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	70	322,308	4,6044	25,34	0,0000
Factor B	4	1681	420,251	2313,01	0,0000
AB	280	842,548	3,0091	16,56	0,0000
Error	355	64,5	0,18169		
Total	709	2910,36			

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla B22. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 20 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
32	41	9.350	A
12	15	9.300	AB
52	67	9.250	ABC
59	76	9.000	ABCD
14	19	8.950	ABCDE
13	18	8.950	ABCDE
31	40	8.950	ABCDE
70	87	8.850	ABCDEF
19	25	8.750	ABCDEFG
8	11	8.750	ABCDEFG
35	44	8.600	ABCDEFGH
71	88	8.550	ABCDEFGH
40	50	8.550	ABCDEFGH
61	78	8.550	ABCDEFGH
68	85	8.500	ABCDEFGH
63	80	8.400	ABCDEFGH
67	84	8.400	ABCDEFGH
10	13	8.350	ABCDEFGH
34	43	8.350	ABCDEFGH
11	14	8.300	ABCDEFGHI
50	64	8.300	ABCDEFGHI
65	82	8.250	ABCDEFGHI
53	70	8.200	ABCDEFGHI
69	86	8.200	ABCDEFGHI
46	58	8.150	ABCDEFGHI
62	79	8.150	ABCDEFGHI
27	36	8.150	ABCDEFGHI
45	56	8.150	ABCDEFGHI
33	42	8.150	ABCDEFGHI
51	65	8.100	ABCDEFGHI
44	54	8.050	ABCDEFGHI
15	21	8.050	ABCDEFGHI
23	31	8.000	ABCDEFGHI
43	53	8.000	ABCDEFGHI
21	29	7.950	ABCDEFGHI
26	35	7.950	ABCDEFGHI
17	23	7.950	ABCDEFGHI
28	37	7.950	ABCDEFGHI
55	72	7.900	ABCDEFGHI
7	9	7.850	ABCDEFGHI
66	83	7.850	ABCDEFGHI
54	71	7.850	ABCDEFGHI

Elaborado por: Ricardo Vizúete G.

Tabla B22. Continuación...

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
60	77	7.750	ABCDEFGHI
56	73	7.750	ABCDEFGHI
64	81	7.750	ABCDEFGHI
48	60	7.700	ABCDEFGHI
57	74	7.700	ABCDEFGHI
29	38	7.700	ABCDEFGHI
22	30	7.700	ABCDEFGHI
24	32	7.700	ABCDEFGHI
47	59	7.700	ABCDEFGHI
49	62	7.700	ABCDEFGHI
18	24	7.650	ABCDEFGHIJ
6	8	7.650	ABCDEFGHIJ
36	46	7.450	BCDEFGHIJ
41	51	7.450	BCDEFGHIJ
9	12	7.450	BCDEFGHIJ
16	22	7.400	CDEFGHIJ
30	39	7.300	DEFGHIJ
25	33	7.200	DEFGHIJ
39	49	7.200	DEFGHIJ
20	26	7.150	DEFGHIJ
42	52	7.150	DEFGHIJ
2	3	7.150	DEFGHIJ
5	7	7.100	EFGHIJ
3	4	7.050	FGHIJ
58	75	6.900	GHIJ
1	1	6.850	HIJ
37	47	6.800	HIJ
4	5	6.450	IJ
38	48	5.800	J

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B23. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 20 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
4	4	9,84507	A
5	5	8,92254	B
3	3	8,61268	C
2	2	6,69366	D
1	1	5,65141	E

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B24. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 20 días.

Interacción AB.

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
76	a59b3	15,25
18	a13b3	14,75
67	a52b4	14,25
11	a8b3	14
19	a14b3	13,75
15	a12b3	13,25
15	a12b4	12,25
14	a11b4	11,75
41	a32b4	11,75
85	a68b4	11,75
87	a70b4	11,75
88	a71b4	11,75
36	a27b3	11,5
30	a22b4	11,5
41	a32b3	11,25
40	a31b4	11,25
9	a7b4	11
44	a35b4	11
40	a31b3	10,75
78	a61b3	10,75
33	a25b4	10,75
43	a34b4	10,75
46	a36b4	10,75
50	a40b4	10,75
56	a45b4	10,75
59	a47b4	10,75
64	a50b4	10,75
86	a69b4	10,75
43	a34b5	10,75
64	a50b5	10,75
85	a68b5	10,75
13	a10b3	10,5
51	a41b4	10,5
79	a62b4	10,5
80	a63b4	10,5
82	a65b4	10,5
42	a33b5	10,5
83	a66b5	10,5
84	a67b3	10,25
21	a15b4	10,25
29	a21b4	10,25
32	a24b4	10,25
37	a28b4	10,25
40	a31b5	10,25
41	a32b5	10,25
44	a35b5	10,25
70	a53b5	10,25
87	a70b5	10,25
58	a46b4	10
78	a61b4	10
81	a64b4	10
35	a26b5	10
51	a41b5	10
71	a54b5	10
25	a19b2	9,75

Tabla B24. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
25	a19b3	9,75
53	a43b3	9,75
79	a62b3	9,75
80	a63b3	9,75
8	a6b4	9,75
19	a14b4	9,75
31	a23b4	9,75
38	a29b4	9,75
39	a30b4	9,75
47	a37b4	9,75
60	a48b4	9,75
70	a53b4	9,75
77	a60b4	9,75
26	a20b5	9,75
56	a45b5	9,75
58	a46b5	9,75
62	a49b5	9,75
84	a67b5	9,75
81	a64b3	9,5
18	a13b4	9,5
25	a19b4	9,5
42	a33b4	9,5
52	a42b4	9,5
71	a54b4	9,5
74	a57b4	9,5
84	a67b4	9,5
23	a17b5	9,5
50	a40b5	9,5
60	a48b5	9,5
65	a51b5	9,5
86	a69b5	9,5
9	a7b3	9,25
37	a28b3	9,25
64	a50b3	9,25
82	a65b3	9,25
88	a71b3	9,25
11	a8b4	9,25
23	a17b4	9,25
24	a18b4	9,25
54	a44b4	9,25
62	a49b4	9,25
73	a56b4	9,25
76	a59b4	9,25
83	a66b4	9,25
19	a14b5	9,25
21	a15b5	9,25
25	a19b5	9,25
32	a24b5	9,25
38	a29b5	9,25
39	a30b5	9,25
46	a36b5	9,25
49	a39b5	9,25
59	a47b5	9,25
67	a52b5	9,25
13	a10b2	9
3	a2b3	9
4	a3b3	9
21	a15b3	9
65	a51b3	9

Tabla B24. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
67	a52b3	9
85	a68b3	9
86	a69b3	9
35	a26b4	9
36	a27b4	9
65	a51b4	9
72	a55b4	9
73	a56b5	9
74	a57b5	9
78	a61b5	9
12	a9b3	8,75
54	a44b3	8,75
70	a53b3	8,75
74	a57b3	8,75
83	a66b3	8,75
12	a9b4	8,75
22	a16b4	8,75
49	a39b4	8,75
22	a16b5	8,75
24	a18b5	8,75
31	a23b5	8,75
33	a25b5	8,75
54	a44b5	8,75
80	a63b5	8,75
88	a71b5	8,75
29	a21b3	8,5
44	a35b3	8,5
50	a40b3	8,5
72	a55b3	8,5
87	a70b3	8,5
7	a5b4	8,5
75	a58b4	8,5
18	a13b5	8,5
30	a22b5	8,5
37	a28b5	8,5
47	a37b5	8,5
52	a42b5	8,5
72	a55b5	8,5
75	a58b5	8,5
79	a62b5	8,5
56	a45b2	8,25
8	a6b3	8,25
14	a11b3	8,25
31	a23b3	8,25
46	a36b3	8,25
60	a48b3	8,25
73	a56b3	8,25
4	a3b4	8,25
13	a10b4	8,25
26	a20b4	8,25
53	a43b4	8,25
11	a8b5	8,25
13	a10b5	8,25
14	a11b5	8,25
15	a12b5	8,25
76	a59b5	8,25
77	a60b5	8,25
82	a65b5	8,25
23	a17b3	8

Tabla B24. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
24	a18b3	8
58	a46b3	8
1	a1b4	8
3	a2b5	8
36	a27b5	8
53	a43b5	8
42	a33b2	7,75
67	a52b2	7,75
87	a70b2	7,75
22	a16b3	7,75
35	a26b3	7,75
43	a34b3	7,75
62	a49b3	7,75
3	a2b4	7,75
5	a4b4	7,75
8	a6b5	7,75
29	a21b5	7,75
15	a12b2	7,5
41	a32b2	7,5
50	a40b2	7,5
53	a43b2	7,5
54	a44b2	7,5
65	a51b2	7,5
72	a55b2	7,5
77	a60b2	7,5
78	a61b2	7,5
80	a63b2	7,5
82	a65b2	7,5
1	a1b3	7,5
7	a5b3	7,5
42	a33b3	7,5
77	a60b3	7,5
7	a5b5	7,5
12	a9b2	7,25
31	a23b2	7,25
38	a29b2	7,25
40	a31b2	7,25
47	a37b2	7,25
48	a38b2	7,25
58	a46b2	7,25
64	a50b2	7,25
88	a71b2	7,25
1	a1b5	7,25
9	a7b5	7,25
81	a64b5	7,25
29	a21b1	7
23	a17b2	7
32	a24b3	7
71	a54b3	7
5	a4b5	7
12	a9b5	7
48	a38b5	7
35	a26b1	6,75
44	a35b1	6,75
8	a6b2	6,75
14	a11b2	6,75
32	a24b2	6,75
70	a53b2	6,75
26	a20b3	6,75

Tabla B24. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
38	a29b3	6,75
14	a11b1	6,5
50	a40b1	6,5
53	a43b1	6,5
7	a5b2	6,5
18	a13b2	6,5
19	a14b2	6,5
30	a22b2	6,5
36	a27b2	6,5
43	a34b2	6,5
44	a35b2	6,5
49	a39b2	6,5
59	a47b2	6,5
71	a54b2	6,5
73	a56b2	6,5
76	a59b2	6,5
81	a64b2	6,5
84	a67b2	6,5
30	a22b3	6,5
4	a3b5	6,5
71	a54b1	6,25
11	a8b2	6,25
22	a16b2	6,25
24	a18b2	6,25
29	a21b2	6,25
35	a26b2	6,25
37	a28b2	6,25
52	a42b2	6,25
62	a49b2	6,25
79	a62b2	6,25
86	a69b2	6,25
5	a4b3	6,25
56	a45b3	6,25
59	a47b3	6,25
1	a1b1	6
4	a3b1	6
9	a7b1	6
11	a8b1	6
23	a17b1	6
24	a18b1	6
31	a23b1	6
41	a32b1	6
43	a34b1	6
51	a41b1	6
54	a44b1	6
67	a52b1	6
72	a55b1	6
75	a58b1	6
84	a67b1	6
87	a70b1	6
21	a15b2	6
74	a57b2	6
39	a30b3	6
48	a38b4	6
8	a6b1	5,75
13	a10b1	5,75
21	a15b1	5,75
33	a25b1	5,75
36	a27b1	5,75

Tabla B24. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
39	a30b1	5,75
49	a39b1	5,75
52	a42b1	5,75
56	a45b1	5,75
58	a46b1	5,75
59	a47b1	5,75
73	a56b1	5,75
76	a59b1	5,75
77	a60b1	5,75
79	a62b1	5,75
82	a65b1	5,75
88	a71b1	5,75
5	a4b2	5,75
9	a7b2	5,75
33	a25b2	5,75
39	a30b2	5,75
75	a58b2	5,75
49	a39b3	5,75
52	a42b3	5,75
75	a58b3	5,75
3	a2b1	5,5
5	a4b1	5,5
7	a5b1	5,5
12	a9b1	5,5
18	a13b1	5,5
19	a14b1	5,5
22	a16b1	5,5
25	a19b1	5,5
26	a20b1	5,5
30	a22b1	5,5
37	a28b1	5,5
38	a29b1	5,5
42	a33b1	5,5
60	a48b1	5,5
62	a49b1	5,5
65	a51b1	5,5
70	a53b1	5,5
78	a61b1	5,5
80	a63b1	5,5
81	a64b1	5,5
83	a66b1	5,5
85	a68b1	5,5
86	a69b1	5,5
1	a1b2	5,5
3	a2b2	5,5
4	a3b2	5,5
26	a20b2	5,5
51	a41b2	5,5
60	a48b2	5,5
85	a68b2	5,5
48	a38b3	5,5
15	a12b1	5,25
32	a24b1	5,25
40	a31b1	5,25
74	a57b1	5,25
46	a36b2	5,25
83	a66b2	5,25
47	a37b3	5,25
51	a41b3	5,25

Tabla B24. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
33	a25b3	5
46	a36b1	3,75
64	a50b1	3,5
47	a37b1	3,25
48	a38b1	3,25

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B25. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 20 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	12	284,142	23,679	31,9814	0,0000
Factor B	4	623,838	155,96	210,6468	0,0000
AB	48	387,012	8,063	10,8899	0,0000
Error	65	48,125	0,74		
Total	129	1343,117			

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B26. Separación de medias para el halo de degradación a los 20 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
6	43	14.35	A
12	80	12.80	A B
3	31	12.60	A B
5	42	12.55	A B
11	78	12.55	A B
2	23	12.15	A B
4	40	11.95	A B
1	7	11.90	A B
7	44	11.80	A B
10	72	10.90	B
9	52	10.75	B C
13	81	10.75	B C
8	48	7.800	C

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B27. Separación de medias para el halo de degradación a los 20 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
4	4	13.69	A
5	5	13.50	A
3	3	13.00	A
2	2	10.63	B
1	1	7.962	C

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B28. Separación de medias para el halo de degradación a los 20 días.

Interacción AB.

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
42	5	a5b5	18.50	A
43	4	a6b4	17.75	A B
44	5	a6b5	17.75	A B
40	5	a3b5	16.75	A B C
40	4	a4b4	16.25	A B C D
78	4	a11b4	16.00	A B C D E
43	3	a6b3	15.75	A B C D E
80	4	a12b4	15.50	A B C D E F
44	5	a7b5	15.25	A B C D E F G
72	4	a10b4	15.00	A B C D E F G H
40	3	a4b3	14.75	A B C D E F G H I
78	3	a11b3	14.75	A B C D E F G H I
80	3	a12b3	14.75	A B C D E F G H I
81	4	a13b4	14.00	B C D E F G H I J
31	4	a3b4	13.75	C D E F G H I J K
7	3	a1b3	13.50	C D E F G H I J K
7	5	a1b5	13.50	C D E F G H I J K
23	5	a2b5	13.50	C D E F G H I J K
42	3	a5b3	13.50	C D E F G H I J K
44	3	a7b3	13.50	C D E F G H I J K
81	3	a13b3	13.50	C D E F G H I J K
23	4	a2b4	13.25	C D E F G H I J K L
48	2	a8b2	13.25	C D E F G H I J K L
23	3	a2b3	13.00	C D E F G H I J K L M
44	4	a7b4	13.00	C D E F G H I J K L M
78	5	a11b5	13.00	C D E F G H I J K L M
80	5	a12b5	12.75	D E F G H I J K L M N
7	2	a1b2	12.50	D E F G H I J K L M N O
7	4	a1b4	12.50	D E F G H I J K L M N O
42	4	a5b4	12.50	D E F G H I J K L M N O

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B28. Continuación...

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
52	4	a9b4	12.50	DEFGHIJKLMNO
52	5	a9b5	12.50	DEFGHIJKLMNO
72	3	a10b3	12.50	DEFGHIJKLMNO
31	3	a3b3	12.25	EFGHIJKLMNOP
52	3	a9b3	11.75	FGHIJKLMNOP
72	5	a10b5	11.50	GHIJKLMNOPQ
80	2	a12b2	11.50	GHIJKLMNOPQ
31	2	a3b2	11.25	HJKLMNOPQR
40	2	a4b2	11.25	HJKLMNOPQR
23	2	a2b2	11.00	IJKLMNOPQRS
48	5	a8b5	11.00	IJKLMNOPQRS
42	2	a5b2	10.75	JJKLMNOPQRS
43	2	a6b2	10.50	JJKLMNOPQRS
78	2	a11b2	10.50	JJKLMNOPQRS
42	5	a4b5	10.25	JJKLMNOPQRS
23	1	a2b1	10.00	KLMNOPQRS
43	1	a6b1	10.00	KLMNOPQRS
72	2	a10b2	9.500	LMNOPQRST
80	1	a12b1	9.500	LMNOPQRST
52	2	a9b2	9.250	MNOPQRSTU
81	5	a13b5	9.250	MNOPQRSTU
31	1	a3b1	9.000	NOPQRSTU
44	1	a7b1	8.750	OPQRSTU
44	2	a7b2	8.500	PQRSTU
78	1	a11b1	8.500	PQRSTU
81	1	a13b1	8.500	PQRSTU
81	2	a13b2	8.500	PQRSTU
52	1	a9b1	7.750	QRSTU
7	1	a1b1	7.500	RSTU
42	1	a5b1	7.500	RSTU
40	1	a4b1	7.250	STU
48	4	a8b4	6.000	TUV
72	1	a10b1	6.000	TUV
48	3	a8b3	5.500	UV
48	1	a8b1	3.250	V

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B29. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 25 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	70	759,31	10,8473	49,13	0,0000
Factor B	4	1613,48	403,371	1827,07	0,0000
AB	280	1747,12	6,2397	28,26	0,0000
Error	355	78,375	0,220775		
Total	709	4198,28			

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B30. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 25 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
52	67	11.75	A
12	15	11.55	AB
32	41	10.95	ABC
61	78	10.85	ABCD
70	87	10.85	ABCD
13	18	10.80	ABCDE
51	65	10.50	ABCDEF
59	76	10.50	ABCDEF
71	88	10.45	ABCDEFG
14	19	10.45	ABCDEFG
31	40	10.30	ABCDEFGH
35	44	10.25	ABCDEFGHI
50	64	10.25	ABCDEFGHI
40	50	10.25	ABCDEFGHI
11	14	10.15	ABCDEFGHIJ
28	37	10.10	ABCDEFGHIJK
8	11	10.10	ABCDEFGHIJK
63	80	10.10	ABCDEFGHIJK
10	13	10.05	ABCDEFGHIJK
65	82	9.950	ABCDEFGHIJK
19	25	9.900	ABCDEFGHIJK
33	42	9.900	ABCDEFGHIJK
53	70	9.850	ABCDEFGHIJK
34	43	9.750	ABCDEFGHIJKL
45	56	9.750	ABCDEFGHIJKL
49	62	9.750	ABCDEFGHIJKL
46	58	9.700	ABCDEFGHIJKL
23	31	9.651	BCDEFGHIJKL
55	72	9.650	BCDEFGHIJKL
44	54	9.500	BCDEFGHIJKLM
62	79	9.500	BCDEFGHIJKLM

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B30. Continuación...

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
27	36	9.500	BCDEFGHIJKLM
68	85	9.500	BCDEFGHIJKLM
60	77	9.400	CDEFGHIJKLMN
67	84	9.300	CDEFGHIJKLMN
48	60	9.100	CDEFGHIJKLMN
54	71	9.050	CDEFGHIJKLMN
64	81	9.050	CDEFGHIJKLMN
15	21	9.050	CDEFGHIJKLMN
69	86	9.000	CDEFGHIJKLMN
21	29	8.950	CDEFGHIJKLMNO
43	53	8.950	CDEFGHIJKLMNO
24	32	8.900	CDEFGHIJKLMNO
47	59	8.900	CDEFGHIJKLMNO
7	9	8.850	DEFGHIJKLMNO
17	23	8.850	DEFGHIJKLMNO
9	12	8.800	DEFGHIJKLMNO
26	35	8.750	EFGHIJKLMNO
29	38	8.700	FGHIJKLMNO
22	30	8.700	FGHIJKLMNO
66	83	8.700	FGHIJKLMNO
41	51	8.650	FGHIJKLMNO
56	73	8.650	FGHIJKLMNO
57	74	8.601	FGHIJKLMNO
36	46	8.550	FGHIJKLMNO
18	24	8.400	GHIJKLMNO
16	22	8.400	GHIJKLMNO
6	8	8.350	HIJKLMNO
42	52	8.250	HIJKLMNO
37	47	8.200	IJKLMNO
39	49	8.150	JKLMNO
20	26	8.100	JKLMNO
5	7	8.050	KLMNO
30	39	8.050	KLMNO
25	33	7.700	LMNO
58	75	7.700	LMNO
2	2	7.550	MNO
4	5	7.450	MNO
3	4	7.450	MNO
1	1	7.350	NO
38	48	6.900	O

Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

Tabla B31. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 25 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango	
4	4	10,75	A	
5	5	9,94366	B	
3	3	9,86972	C	
2	2	9,36268	D	
1	1	6,38028	E	

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B32. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 25 días.

Interacción AB.

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
12	a9b3	18
76	a59b3	17,75
18	a13b3	17,5
15	a12b3	17
19	a14b3	17
14	a11b4	15,25
36	a27b3	15
15	a12b4	15
13	a10b2	14,75
67	a52b4	14,75
72	a55b2	14,25
78	a61b2	14,25
30	a22b4	14,25
37	a28b3	14
85	a68b4	14
67	a52b2	13,5
42	a33b2	13,25
78	a61b3	13,25
87	a70b4	13,25
88	a71b4	13,25
44	a35b4	12,75
56	a45b2	12,5
77	a60b2	12,5
88	a71b2	12,5
82	a65b3	12,5
40	a31b4	12,5
41	a32b4	12,5
50	a40b2	12,25
46	a36b4	12,25
80	a63b4	12,25
85	a68b5	12,25
87	a70b5	12,25
15	a12b2	12
64	a50b2	12
65	a51b2	12
67	a52b3	12
81	a64b3	12
25	a19b2	11,75
41	a32b2	11,75
54	a44b2	11,75
41	a32b3	11,75
64	a50b3	11,75
80	a63b3	11,75

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B32. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
65	a51b4	11,75
86	a69b4	11,75
44	a35b5	11,75
83	a66b5	11,75
87	a70b2	11,5
9	a7b4	11,5
50	a40b4	11,5
51	a41b4	11,5
64	a50b4	11,5
70	a53b5	11,5
58	a46b2	11,25
80	a63b2	11,25
82	a65b2	11,25
13	a10b3	11,25
40	a31b3	11,25
65	a51b3	11,25
21	a15b4	11,25
33	a25b4	11,25
43	a34b4	11,25
59	a47b4	11,25
78	a61b4	11,25
40	a31b5	11,25
42	a33b5	11,25
43	a34b5	11,25
51	a41b5	11,25
56	a45b5	11,25
58	a46b5	11,25
60	a48b5	11,25
62	a49b5	11,25
64	a50b5	11,25
18	a13b2	11
31	a23b2	11
9	a7b3	11
70	a53b3	11
84	a67b3	11
56	a45b4	11
82	a65b4	11
41	a32b5	11
67	a52b5	11
88	a71b5	11
79	a62b3	10,75
25	a19b4	10,75
29	a21b4	10,75
31	a23b4	10,75
47	a37b4	10,75
58	a46b4	10,75
60	a48b4	10,75
79	a62b4	10,75
81	a64b4	10,75
25	a19b5	10,75
38	a29b5	10,75
50	a40b5	10,75
71	a54b5	10,75
48	a38b2	10,5
83	a66b3	10,5
19	a14b4	10,5
32	a24b4	10,5
37	a28b4	10,5
39	a30b4	10,5
70	a53b4	10,5
35	a26b5	10,5
37	a28b5	10,5
46	a36b5	10,5
73	a56b5	10,5
74	a57b5	10,5
86	a69b5	10,5

Tabla B32. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
12	a9b2	10,25
62	a49b2	10,25
25	a19b3	10,25
46	a36b3	10,25
86	a69b3	10,25
8	a6b4	10,25
35	a26b4	10,25
38	a29b4	10,25
54	a44b4	10,25
62	a49b4	10,25
77	a60b4	10,25
84	a67b4	10,25
49	a39b5	10,25
59	a47b5	10,25
84	a67b5	10,25
40	a31b2	10
43	a34b2	10
47	a37b2	10
53	a43b2	10
53	a43b3	10
74	a57b3	10
18	a13b4	10
22	a16b4	10
24	a18b4	10
42	a33b4	10
52	a42b4	10
71	a54b4	10
73	a56b4	10
74	a57b4	10
76	a59b4	10
83	a66b4	10
21	a15b5	10
26	a20b5	10
39	a30b5	10
65	a51b5	10
76	a59b5	10
14	a11b2	9,75
23	a17b2	9,75
71	a54b2	9,75
12	a9b3	9,75
29	a21b3	9,75
31	a23b3	9,75
44	a35b3	9,75
54	a44b3	9,75
88	a71b3	9,75
11	a8b4	9,75
26	a20b4	9,75
72	a55b4	9,75
19	a14b5	9,75
22	a16b5	9,75
23	a17b5	9,75
32	a24b5	9,75
78	a61b5	9,75
79	a62b5	9,75
44	a35b2	9,5
52	a42b2	9,5
70	a53b2	9,5
14	a11b3	9,5
60	a48b3	9,5
62	a49b3	9,5
85	a68b3	9,5
23	a17b4	9,5
36	a27b4	9,5
24	a18b5	9,5
31	a23b5	9,5
33	a25b5	9,5

Tabla B32. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
47	a37b5	9,5
75	a58b5	9,5
77	a60b5	9,5
80	a63b5	9,5
79	a62b2	9,25
3	a2b3	9,25
4	a3b3	9,25
21	a15b3	9,25
22	a16b3	9,25
43	a34b3	9,25
73	a56b3	9,25
87	a70b3	9,25
12	a9b4	9,25
49	a39b4	9,25
75	a58b4	9,25
18	a13b5	9,25
54	a44b5	9,25
32	a24b2	9
50	a40b3	9
72	a55b3	9
7	a5b4	9
13	a10b4	9
14	a11b5	9
30	a22b5	9
52	a42b5	9
72	a55b5	9
82	a65b5	9
8	a6b2	8,75
19	a14b2	8,75
49	a39b2	8,75
59	a47b2	8,75
76	a59b2	8,75
8	a6b3	8,75
24	a18b3	8,75
1	a1b4	8,75
53	a43b4	8,75
11	a8b5	8,75
13	a10b5	8,75
15	a12b5	8,75
36	a27b5	8,75
81	a64b5	8,75
38	a29b2	8,5
84	a67b2	8,5
23	a17b3	8,5
35	a26b3	8,5
58	a46b3	8,5
77	a60b3	8,5
4	a3b4	8,5
3	a2b5	8,5
5	a4b5	8,5
29	a21b5	8,5
53	a43b5	8,5
29	a21b1	8,25
35	a26b2	8,25
36	a27b2	8,25
37	a28b2	8,25
26	a20b3	8,25
42	a33b3	8,25
59	a47b3	8,25
71	a54b3	8,25
5	a4b4	8,25
87	a70b1	8
60	a48b2	8
81	a64b2	8
32	a24b3	8
3	a2b4	8

Tabla B32. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
7	a5b5	8
8	a6b5	8
9	a7b5	8
12	a9b5	8
7	a5b1	7,75
41	a32b1	7,75
50	a40b1	7,75
7	a5b2	7,75
11	a8b2	7,75
1	a1b3	7,75
7	a5b3	7,75
38	a29b3	7,75
1	a1b5	7,75
21	a15b1	7,5
44	a35b1	7,5
53	a43b1	7,5
62	a49b1	7,5
65	a51b1	7,5
5	a4b2	7,5
9	a7b2	7,5
29	a21b2	7,5
73	a56b2	7,5
56	a45b3	7,5
14	a11b1	7,25
31	a23b1	7,25
32	a24b1	7,25
37	a28b1	7,25
21	a15b2	7,25
22	a16b2	7,25
24	a18b2	7,25
30	a22b2	7,25
39	a30b2	7,25
51	a41b2	7,25
48	a38b5	7,25
43	a34b1	7
79	a62b1	7
74	a57b2	7
5	a4b3	7
30	a22b3	7
48	a38b4	7
4	a3b5	7
12	a9b1	6,75
23	a17b1	6,75
42	a33b1	6,75
51	a41b1	6,75
58	a46b1	6,75
70	a53b1	6,75
75	a58b2	6,75
86	a69b2	6,75
52	a42b3	6,75
13	a10b1	6,5
24	a18b1	6,5
40	a31b1	6,5
49	a39b1	6,5
54	a44b1	6,5
56	a45b1	6,5
67	a52b1	6,5
71	a54b1	6,5
75	a58b1	6,5
84	a67b1	6,5
39	a30b3	6,5
51	a41b3	6,5
75	a58b3	6,5
1	a1b1	6,25
4	a3b1	6,25
9	a7b1	6,25

Tabla B32. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
11	a8b1	6,25
18	a13b1	6,25
19	a14b1	6,25
26	a20b1	6,25
35	a26b1	6,25
38	a29b1	6,25
72	a55b1	6,25
77	a60b1	6,25
1	a1b2	6,25
3	a2b2	6,25
4	a3b2	6,25
26	a20b2	6,25
33	a25b2	6,25
5	a4b1	6
8	a6b1	6
15	a12b1	6
25	a19b1	6
30	a22b1	6
33	a25b1	6
36	a27b1	6
39	a30b1	6
52	a42b1	6
59	a47b1	6
60	a48b1	6
73	a56b1	6
76	a59b1	6
82	a65b1	6
85	a68b1	6
47	a37b3	6
49	a39b3	6
3	a2b1	5,75
22	a16b1	5,75
78	a61b1	5,75
80	a63b1	5,75
81	a64b1	5,75
86	a69b1	5,75
88	a71b1	5,75
46	a36b2	5,75
83	a66b2	5,75
85	a68b2	5,75
48	a38b3	5,75
74	a57b1	5,5
83	a66b1	5,5
33	a25b3	5,5
47	a37b1	4,75
64	a50b1	4,75
46	a36b1	4
48	a38b1	4

Elaborado por: Ricardo Vizuite G. 2010.

Tabla B33. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 25 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	12	507,9	42,325	72,637	0,0000
Factor B	4	685,762	171,44	294,2211	0,0000
AB	48	512,888	10,685	18,3376	0,0000
Error	65	37,875	0,583		
Total	129	1744,425			

Elaborado por: Ricardo Vizuite G. 2010.

Tabla B34. Separación de medias para el halo de degradación a los 25 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
6	43	17.15	A
11	78	17.05	A B
12	80	16.10	A B C
5	42	15.70	A B C
4	40	14.90	A B C D
3	31	14.85	A B C D
7	44	14.65	A B C D
1	7	14.45	B C D
2	23	14.45	B C D
13	81	14.45	B C D
10	72	13.45	C D
9	52	12.85	D
8	48	9.100	E

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B35. Separación de medias para el halo de degradación a los 25 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
5	5	16.23	A
2	2	15.77	A
3	3	15.38	A
4	4	15.37	A
1	1	10.00	B

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B36. Separación de medias para el halo de degradación a los 25 días.

Interacción AB.

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
42	5	a5b5	21.25	A
43	5	a6b5	21.25	A
43	3	a6b3	20.25	A B
78	2	a11b2	20.25	A B
78	3	a11b3	20.25	A B
31	5	a3b5	19.50	A B C
43	4	a6b4	19.25	A B C D
40	4	a4b4	18.50	A B C D E
72	2	a10b2	18.25	A B C D E F
80	4	a12b4	18.25	A B C D E F

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B36. Continuación...

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
81	3	a13b3	18.00	A B C D E F G
23	5	a2b5	17.75	B C D E F G H
80	3	a12b3	17.75	B C D E F G H
40	3	a4b3	17.25	B C D E F G H I
42	2	a5b2	17.25	B C D E F G H I
78	4	a11b4	17.25	B C D E F G H I
80	2	a12b2	17.25	B C D E F G H I
44	4	a7b4	16.75	C D E F G H I J
44	5	a7b5	16.75	C D E F G H I J
48	2	a8b2	16.50	C D E F G H I J K
7	5	a1b5	16.00	D E F G H I J K L
7	2	a1b2	15.75	E F G H I J K L
23	2	a2b2	15.75	E F G H I J K L
31	3	a3b3	15.75	E F G H I J K L
72	4	a10b4	15.75	E F G H I J K L
78	5	a11b5	15.75	E F G H I J K L
80	5	a12b5	15.50	E F G H I J K L
42	3	a5b3	15.25	E F G H I J K L
7	4	a1b4	15.00	F G H I J K L M
31	2	a3b2	15.00	F G H I J K L M
40	2	a4b2	15.00	F G H I J K L M
52	4	a9b4	15.00	F G H I J K L M
52	5	a9b5	15.00	F G H I J K L M
31	4	a3b4	14.75	G H I J K L M N
44	3	a7b3	14.75	G H I J K L M N
81	4	a13b4	14.75	G H I J K L M N
81	5	a13b5	14.75	G H I J K L M N
23	3	a2b3	14.50	H I J K L M N O
42	4	a5b4	14.00	I J K L M N O P
43	2	a6b2	14.00	I J K L M N O P
72	3	a10b3	14.00	I J K L M N O P
7	3	a1b3	13.75	J K L M N O P Q
23	4	a2b4	13.50	J K L M N O P Q
44	2	a7b2	13.50	J K L M N O P Q
52	2	a9b2	13.50	J K L M N O P Q
40	5	a4b5	13.25	K L M N O P Q
72	5	a10b5	13.00	L M N O P Q
81	2	a13b2	13.00	L M N O P Q
52	3	a9b3	12.75	L M N O P Q
7	1	a1b1	11.75	M N O P Q R
78	1	a11b1	11.75	M N O P Q R
80	1	a12b1	11.75	M N O P Q R
81	1	a13b1	11.75	M N O P Q R
44	1	a7b1	11.50	N O P Q R
48	5	a8b5	11.25	O P Q R S
43	1	a6b1	11.00	P Q R S

Tabla B36. Continuación...

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
23	1	a2b1	10.75	P Q R S
42	1	a5b1	10.75	P Q R S
40	1	a4b1	10.50	Q R S
31	1	a3b1	9.250	R S T
52	1	a9b1	8.000	S T U
48	4	a8b4	7.000	T U
72	1	a10b1	6.250	T U
48	3	a8b3	5.750	U
48	1	a8b1	5.000	U

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B37. Análisis de varianza para el crecimiento bacteriano a los 30 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	70	1198,07	17,1153	53,3	0,0000
Factor B	4	1835,23	458,807	1428,74	0,0000
AB	280	2996,92	10,7033	33,33	0,0000
Error	355	114	0,321127		
Total	709	6144,22			

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B38. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 30 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
52	67	13.95	A
12	15	13.35	A B
70	87	12.65	A B C
13	18	12.60	A B C D
32	41	12.55	A B C D E
31	40	12.20	A B C D E F
59	76	12.00	A B C D E F G
71	88	11.95	A B C D E F G
51	65	11.95	A B C D E F G
11	14	11.95	A B C D E F G
65	82	11.90	A B C D E F G H
61	78	11.90	A B C D E F G H
10	13	11.85	A B C D E F G H I
45	56	11.65	A B C D E F G H I
50	64	11.55	A B C D E F G H I
14	19	11.50	A B C D E F G H I
40	50	11.45	A B C D E F G H I J

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B38. Continuación...

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
33	42	11.30	BCDEFGHIJK
63	80	11.30	BCDEFGHIJK
19	25	11.25	BCDEFGHIJKL
46	58	11.25	BCDEFGHIJKL
28	37	11.20	BCDEFGHIJKL
35	44	11.20	BCDEFGHIJKL
34	43	11.15	BCDEFGHIJKL
8	11	11.10	BCDEFGHIJKL
23	31	11.10	BCDEFGHIJKL
55	72	11.10	BCDEFGHIJKL
27	36	11.00	BCDEFGHIJKLM
60	77	10.85	BCDEFGHIJKLMN
53	70	10.80	CDEFGHIJKLMN
49	62	10.80	CDEFGHIJKLMN
9	12	10.70	CDEFGHIJKLMN
44	54	10.60	CDEFGHIJKLMNO
68	85	10.55	CDEFGHIJKLMNOP
62	79	10.45	CDEFGHIJKLMNOP
54	71	10.30	CDEFGHIJKLMNOPQ
67	84	10.30	CDEFGHIJKLMNOPQ
48	60	10.25	CDEFGHIJKLMNOPQ
64	81	10.25	CDEFGHIJKLMNOPQ
21	29	10.20	CDEFGHIJKLMNOPQ
43	53	10.15	CDEFGHIJKLMNOPQ
47	59	10.10	DEFGHIJKLMNOPQ
17	23	10.05	EFGHIJKLMNOPQ
6	8	10.05	EFGHIJKLMNOPQ
24	32	10.00	FGHIJKLMNOPQ
5	7	9.951	FGHIJKLMNOPQ
29	38	9.950	FGHIJKLMNOPQ
57	74	9.950	FGHIJKLMNOPQ
69	86	9.850	FGHIJKLMNOPQ
56	73	9.850	FGHIJKLMNOPQ
66	83	9.850	FGHIJKLMNOPQ
7	9	9.800	FGHIJKLMNOPQ
15	21	9.700	FGHIJKLMNOPQ
22	30	9.600	GHIJKLMNOPQ
26	35	9.400	HIJKLMNOPQ
16	22	9.400	HIJKLMNOPQ
41	51	9.400	HIJKLMNOPQ
18	24	9.350	IJKLMNOPQ
42	52	9.350	IJKLMNOPQ
36	46	8.950	JKLMNOPQ
37	47	8.900	KLMNOPQ
20	26	8.850	KLMNOPQ

Tabla B38. Continuación...

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
30	39	8.850	KLMNOPQ
39	49	8.800	KLMNOPQ
4	5	8.750	LMNOPQ
58	75	8.500	MNOPQ
25	33	8.400	NOPQ
38	48	8.350	NOPQ
2	3	8.150	OPQ
3	4	8.050	PQ
1	1	7.850	Q

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B39. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 30 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
4	4	11,9754	A
5	5	11,5986	B
3	3	10,9225	C
2	2	10,4648	D
1	1	7,44014	E

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B40. Separación de medias del crecimiento bacteriano a los 30 días.

Interacción AB.

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
18	a13b3	21,75
13	a10b2	20,5
15	a12b3	20,25
76	a59b3	20
11	a8b3	19,25
36	a27b3	19
67	a52b2	18,5
56	a45b2	18,25
15	a12b2	18
42	a33b2	17,75
72	a55b2	17,75
19	a14b3	17,5
41	a32b2	17
14	a11b4	17
12	a9b2	16,75
40	a31b2	16,75
78	a61b2	16,5
87	a70b2	16,25
37	a28b3	16,25
31	a23b2	16
67	a52b4	16
50	a40b2	15,75
77	a60b2	15,75

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B40. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
14	a11b2	15,5
88	a71b2	15,5
15	a12b4	15,5
8	a6b2	15
25	a19b2	15
54	a44b2	15
82	a65b2	15
48	a38b2	14,75
30	a22b4	14,75
58	a46b2	14,5
64	a50b2	14,5
65	a51b2	14,5
82	a65b3	14,5
85	a68b4	14,5
7	a5b2	14,25
18	a13b2	14,25
44	a35b4	14
88	a71b4	14
78	a61b3	13,75
41	a32b4	13,75
23	a17b2	13,5
80	a63b2	13,5
65	a51b3	13,5
87	a70b4	13,5
43	a34b2	13,25
53	a43b2	13,25
64	a50b3	13,25
40	a31b4	13
13	a10b3	12,75
81	a64b3	12,75
46	a36b4	12,75
83	a66b5	12,75
40	a31b3	12,5
41	a32b3	12,5
67	a52b3	12,5
21	a15b4	12,5
33	a25b4	12,5
59	a47b4	12,5
65	a51b4	12,5
80	a63b4	12,5
85	a68b5	12,5
87	a70b5	12,5
9	a7b3	12,25
29	a21b3	12,25
43	a34b4	12,25
51	a41b4	12,25
64	a50b4	12,25
86	a69b4	12,25
43	a34b5	12,25
44	a35b5	12,25
60	a48b5	12,25
64	a50b5	12,25
70	a53b5	12,25
32	a24b2	12
38	a29b2	12
47	a37b2	12
80	a63b3	12
9	a7b4	12
50	a40b4	12
56	a45b4	12
58	a46b4	12
62	a49b4	12
79	a62b4	12
58	a46b5	12
25	a19b3	11,75
74	a57b3	11,75

Tabla B40. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
60	a48b4	11,75
78	a61b4	11,75
40	a31b5	11,75
42	a33b5	11,75
51	a41b5	11,75
56	a45b5	11,75
62	a49b5	11,75
67	a52b5	11,75
76	a59b5	11,75
52	a42b2	11,5
62	a49b2	11,5
71	a54b2	11,5
12	a9b3	11,5
70	a53b3	11,5
84	a67b3	11,5
19	a14b4	11,5
24	a18b4	11,5
39	a30b4	11,5
70	a53b4	11,5
73	a56b4	11,5
82	a65b4	11,5
41	a32b5	11,5
88	a71b5	11,5
19	a14b2	11,25
60	a48b3	11,25
79	a62b3	11,25
22	a16b4	11,25
25	a19b4	11,25
29	a21b4	11,25
31	a23b4	11,25
32	a24b4	11,25
37	a28b4	11,25
47	a37b4	11,25
52	a42b4	11,25
71	a54b4	11,25
74	a57b4	11,25
38	a29b5	11,25
50	a40b5	11,25
71	a54b5	11,25
77	a60b5	11,25
44	a35b2	11
70	a53b2	11
46	a36b3	11
35	a26b4	11
38	a29b4	11
54	a44b4	11
81	a64b4	11
84	a67b4	11
25	a19b5	11
35	a26b5	11
59	a47b5	11
73	a56b5	11
86	a69b5	11
44	a35b3	10,75
83	a66b3	10,75
86	a69b3	10,75
8	a6b4	10,75
18	a13b4	10,75
42	a33b4	10,75
77	a60b4	10,75
83	a66b4	10,75
26	a20b5	10,75
37	a28b5	10,75
46	a36b5	10,75
49	a39b5	10,75
74	a57b5	10,75

Tabla B40. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
84	a67b5	10,75
87	a70b1	10,5
79	a62b2	10,5
31	a23b3	10,5
43	a34b3	10,5
53	a43b3	10,5
87	a70b3	10,5
7	a5b4	10,5
11	a8b4	10,5
23	a17b4	10,5
26	a20b4	10,5
76	a59b4	10,5
19	a14b5	10,5
21	a15b5	10,5
22	a16b5	10,5
39	a30b5	10,5
65	a51b5	10,5
59	a47b2	10,25
50	a40b3	10,25
62	a49b3	10,25
73	a56b3	10,25
85	a68b3	10,25
88	a71b3	10,25
36	a27b4	10,25
32	a24b5	10,25
75	a58b5	10,25
78	a61b5	10,25
79	a62b5	10,25
5	a4b2	10
37	a28b2	10
76	a59b2	10
14	a11b3	10
22	a16b3	10
54	a44b3	10
5	a4b4	10
13	a10b4	10
49	a39b4	10
53	a43b4	10
72	a55b4	10
75	a58b4	10
23	a17b5	10
24	a18b5	10
31	a23b5	10
33	a25b5	10
47	a37b5	10
72	a55b5	10
80	a63b5	10
82	a65b5	10
11	a8b2	9,75
29	a21b2	9,75
49	a39b2	9,75
4	a3b3	9,75
1	a1b4	9,75
54	a44b5	9,75
24	a18b2	9,5
36	a27b2	9,5
81	a64b2	9,5
84	a67b2	9,5
3	a2b3	9,5
21	a15b3	9,5
26	a20b3	9,5
58	a46b3	9,5
72	a55b3	9,5
12	a9b4	9,5
14	a11b5	9,5
18	a13b5	9,5

Tabla B40. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
30	a22b5	9,5
52	a42b5	9,5
9	a7b2	9,25
35	a26b2	9,25
23	a17b3	9,25
59	a47b3	9,25
4	a3b4	9,25
13	a10b5	9,25
15	a12b5	9,25
36	a27b5	9,25
81	a64b5	9,25
85	a68b1	9
30	a22b2	9
73	a56b2	9
8	a6b3	9
24	a18b3	9
35	a26b3	9
71	a54b3	9
77	a60b3	9
3	a2b5	9
5	a4b5	9
11	a8b5	9
29	a21b5	9
48	a38b5	9
53	a43b5	9
29	a21b1	8,75
65	a51b1	8,75
81	a64b1	8,75
84	a67b1	8,75
22	a16b2	8,75
60	a48b2	8,75
32	a24b3	8,75
42	a33b3	8,75
3	a2b4	8,75
8	a6b5	8,75
9	a7b5	8,75
62	a49b1	8,5
71	a54b1	8,5
80	a63b1	8,5
82	a65b1	8,5
88	a71b1	8,5
51	a41b2	8,5
56	a45b3	8,5
7	a5b5	8,5
12	a9b5	8,5
7	a5b1	8,25
58	a46b1	8,25
72	a55b1	8,25
79	a62b1	8,25
83	a66b1	8,25
39	a30b2	8,25
74	a57b2	8,25
1	a1b3	8,25
7	a5b3	8,25
38	a29b3	8,25
21	a15b1	8
41	a32b1	8
44	a35b1	8
50	a40b1	8
53	a43b1	8
67	a52b1	8
75	a58b1	8
21	a15b2	8
5	a4b3	8
1	a1b5	8
14	a11b1	7,75

Tabla B40. Continuación...

Código AX	Interacción	Diámetro (mm)
31	a23b1	7,75
32	a24b1	7,75
37	a28b1	7,75
56	a45b1	7,75
70	a53b1	7,75
74	a57b1	7,75
76	a59b1	7,75
86	a69b1	7,75
42	a33b1	7,5
43	a34b1	7,5
51	a41b1	7,5
59	a47b1	7,5
73	a56b1	7,5
77	a60b1	7,5
3	a2b2	7,5
86	a69b2	7,5
30	a22b3	7,5
48	a38b4	7,5
4	a3b5	7,5
12	a9b1	7,25
38	a29b1	7,25
52	a42b1	7,25
54	a44b1	7,25
60	a48b1	7,25
78	a61b1	7,25
4	a3b2	7,25
75	a58b2	7,25
52	a42b3	7,25
11	a8b1	7
23	a17b1	7
26	a20b1	7
36	a27b1	7
39	a30b1	7
40	a31b1	7
49	a39b1	7
39	a30b3	7
51	a41b3	7
75	a58b3	7
5	a4b1	6,75
8	a6b1	6,75
9	a7b1	6,75
18	a13b1	6,75
19	a14b1	6,75
24	a18b1	6,75
33	a25b1	6,75
35	a26b1	6,75
1	a1b2	6,75
33	a25b2	6,75
83	a66b2	6,75
1	a1b1	6,5
4	a3b1	6,5
22	a16b1	6,5
26	a20b2	6,5
85	a68b2	6,5
49	a39b3	6,5
47	a37b3	6,25
3	a2b1	6
46	a36b2	6
33	a25b3	6
48	a38b3	6
64	a50b1	5,5
47	a37b1	5
48	a38b1	4,5
46	a36b1	4,25

Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Tabla B41. Análisis de varianza para el halo de degradación a los 30 días.

Fuente de Variación	g.l	SC	CM	Fc	Probabilidad
Factor A	12	538,25	44,854	65,8875	0,0000
Factor B	4	1060,142	265,036	389,3178	0,0000
AB	48	633,058	13,189	19,3732	0,0000
Error	65	44,25	0,681		
Total	129	2275,7			

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B42. Separación de medias para el halo de degradación a los 30 días.

Factor A.

Tratamiento	Código AX	Diámetro (mm)	Rango
6	43	20.75	A
11	78	20.10	A B
5	42	18.90	A B C
12	80	18.90	A B C
3	31	18.10	A B C D
4	40	18.00	A B C D
1	7	17.75	B C D
2	23	17.65	B C D
7	44	17.20	C D
10	72	16.90	C D
13	81	16.85	C D
9	52	15.35	D
8	48	12.35	E

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B43. Separación de medias para el halo de degradación a los 30 días.

Factor B.

Tratamiento	Código Medio	Diámetro (mm)	Rango
5	5	21.15	A
2	2	18.67	B
4	4	18.02	B
3	3	17.73	B
1	1	12.42	C

Elaborado por: Ricardo Vizuet G. 2010.

Tabla B44. Separación de medias para el halo de degradación a los 30 días.

Interacción AB.

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
40	2	a4b2	24.75	A
42	2	a5b2	23.75	AB
42	5	a5b5	23.75	AB
72	2	a10b2	23.75	AB
43	3	a6b3	23.50	AB
78	2	a11b2	23.50	AB
43	4	a6b4	23.25	ABC
31	2	a3b2	23.00	ABCD
48	2	a8b2	22.75	ABCDE
7	2	a1b2	22.25	ABCDEF
43	5	a6b5	22.25	ABCDEF
80	3	a12b3	22.00	ABCDEFG
78	3	a11b3	21.75	ABCDEFGH
78	4	a11b4	21.75	ABCDEFGH
23	2	a2b2	21.50	ABCDEFGHI
43	2	a6b2	21.25	ABCDEFGHI
81	3	a13b3	20.75	BCDEFGHIJ
40	4	a4b4	20.00	BCDEFGHIJK
44	4	a7b4	20.00	BCDEFGHIJK
7	4	a1b4	19.50	CDEFGHIJKL
31	3	a3b3	19.50	CDEFGHIJKL
40	3	a4b3	19.50	CDEFGHIJKL
80	2	a12b2	19.50	CDEFGHIJKL
23	3	a2b3	19.25	DEFGHIJKLM
31	5	a3b5	19.00	EFGHIJKLMN
42	3	a5b3	18.75	FGHIJKLMNO
80	4	a12b4	18.50	FGHIJKLMNOP
7	3	a1b3	18.25	GHIJKLMNOP
44	5	a7b5	18.25	GHIJKLMNOP
78	5	a11b5	18.25	GHIJKLMNOP
23	5	a2b5	18.00	HIJKLMNOP
72	4	a10b4	18.00	HIJKLMNOP
80	5	a12b5	18.00	HIJKLMNOP
44	3	a7b3	17.75	IJKLMNOP
31	4	a3b4	17.25	JKLMNOPQ
52	3	a9b3	17.25	JKLMNOPQ
44	2	a7b2	17.00	JKLMNOPQ
81	4	a13b4	17.00	JKLMNOPQ
42	4	a5b4	16.75	KLMNOPQR
7	5	a1b5	16.50	KLMNOPQR
23	4	a2b4	16.50	KLMNOPQR
52	2	a9b2	16.50	KLMNOPQR
72	3	a10b3	16.50	KLMNOPQR

Tabla B44. Continuación...

Código AX	Código Medio	Interacción AB	Diámetro (mm)	Rango
80	1	a12b1	16.50	KLMNOPQR
52	4	a9b4	16.25	KLMNOPQR
81	5	a13b5	16.25	KLMNOPQR
72	5	a10b5	16.00	LMNOPQRS
52	5	a9b5	15.50	MNOPQRST
81	2	a13b2	15.50	MNOPQRST
78	1	a11b1	15.25	NOPQRSTU
48	5	a8b5	15.00	OPQRSTUV
81	1	a13b1	14.75	PQRSTUVWXYZ
40	5	a4b5	13.75	QRSTUVWXYZ
43	1	a6b1	13.50	QRSTUVWXYZ
23	1	a2b1	13.00	RSTUVWXY
44	1	a7b1	13.00	RSTUVWXY
7	1	a1b1	12.25	STUVWXY
40	1	a4b1	12.00	TUVWXYZ
31	1	a3b1	11.75	TUVWXYZ
42	1	a5b1	11.50	UVWXYZ
52	1	a9b1	11.25	VWXYZ
72	1	a10b1	10.25	WXYZ
48	4	a8b4	9.500	XYZ
48	3	a8b3	8.000	YZ
48	1	a8b1	6.500	Z

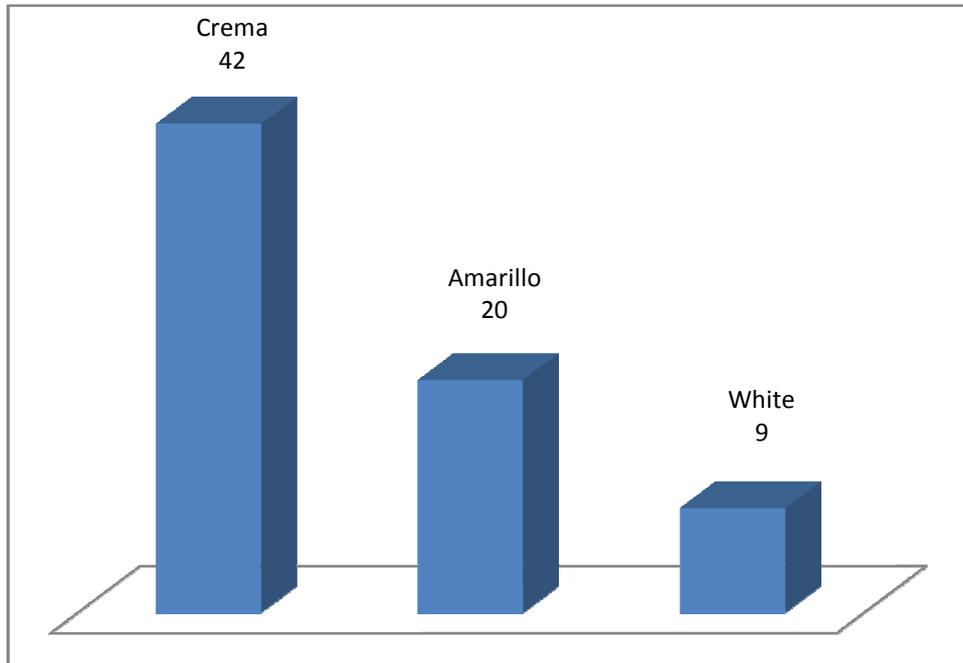
Elaborado por: Ricardo Vizueté G. 2010.

ANEXO C

GRÁFICOS

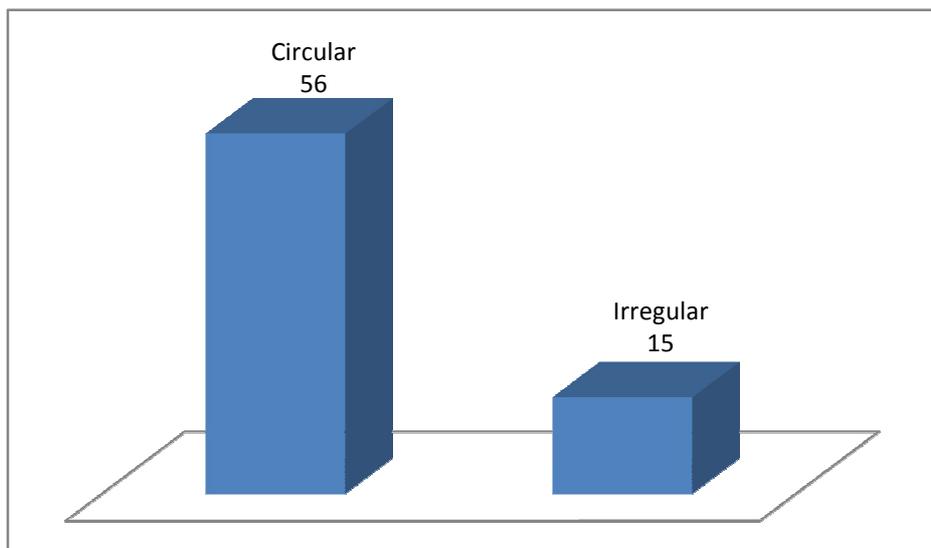
Figura C1. Caracterización Microscópica.

Color de la Colonia.



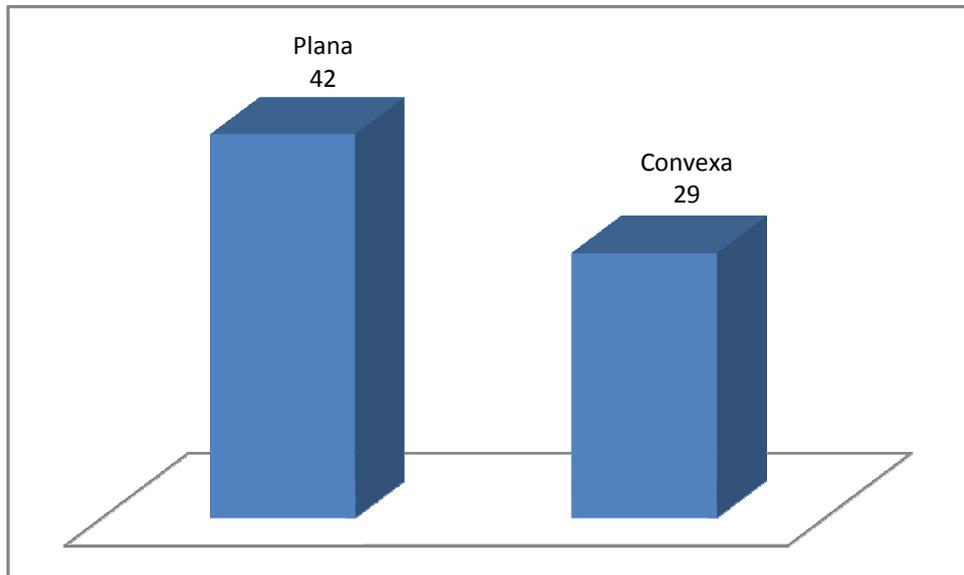
Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Figura C2. Forma de la Colonia.



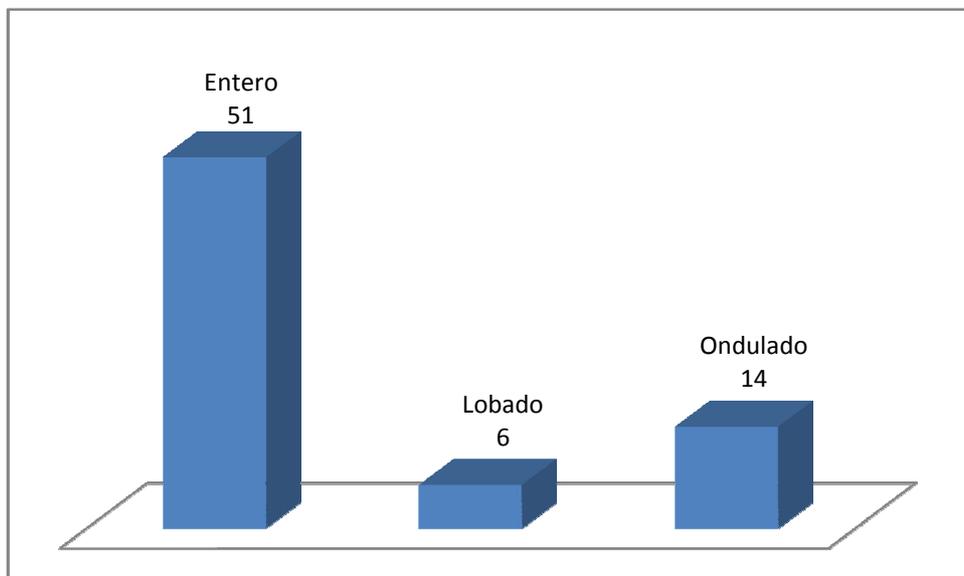
Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Figura C3. Elevación de la Colonia.



Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

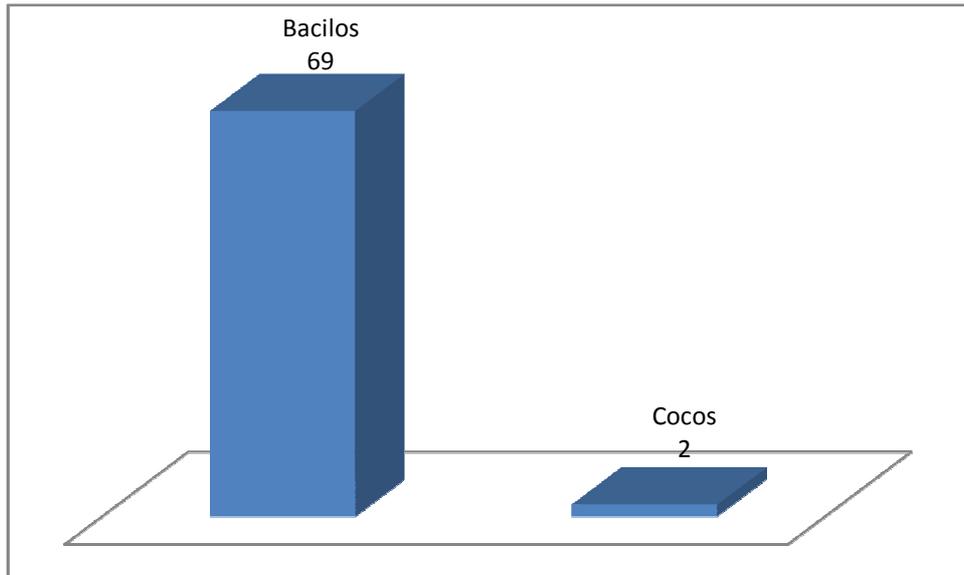
Figura C4. Margen de la Colonia.



Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

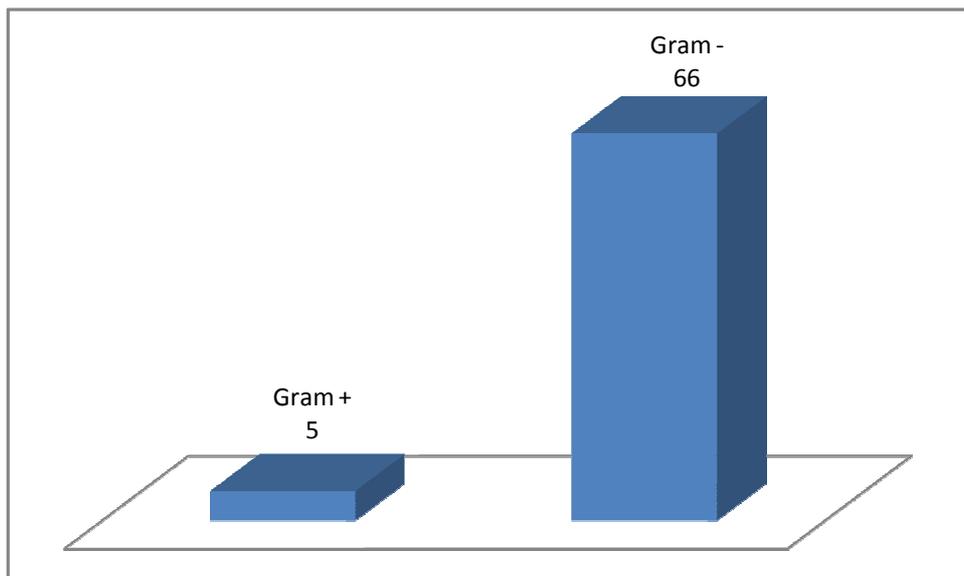
Figura C5. Caracterización Microscópica.

Forma de la Bacteria.



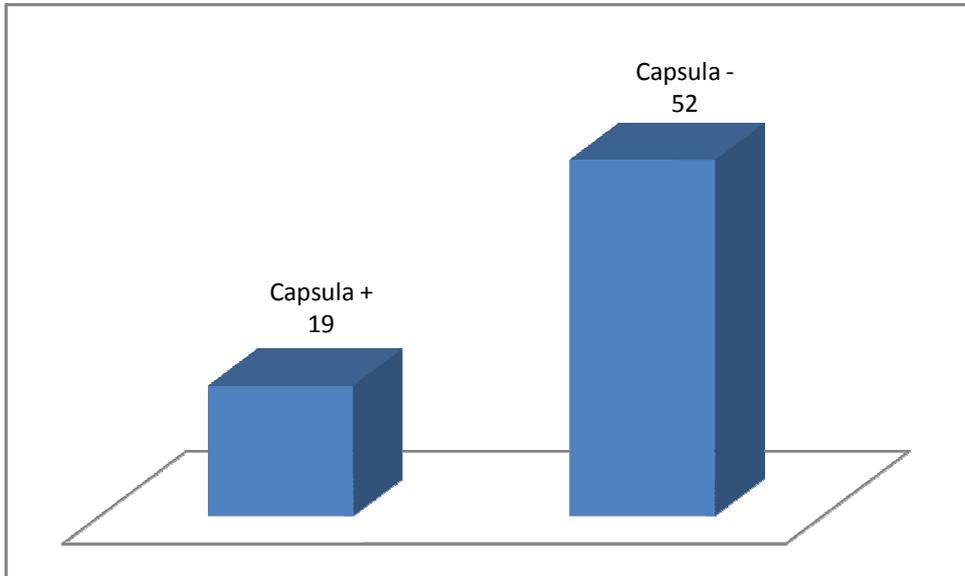
Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

Figura C6. Tinción de Gram.



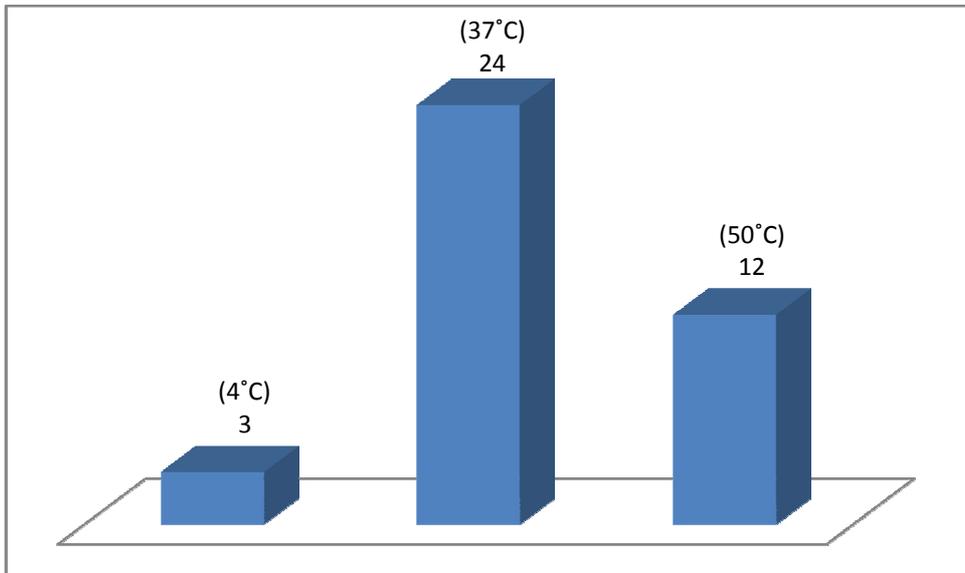
Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

Figura C7. Tinción de Cápsulas.



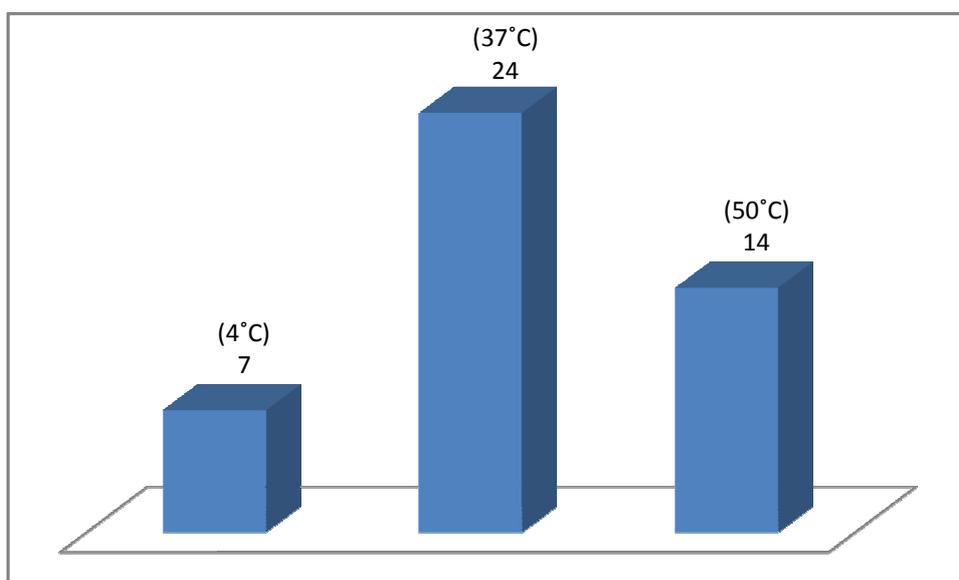
Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

Figura C8. Crecimiento en función de la temperatura (2 Días).



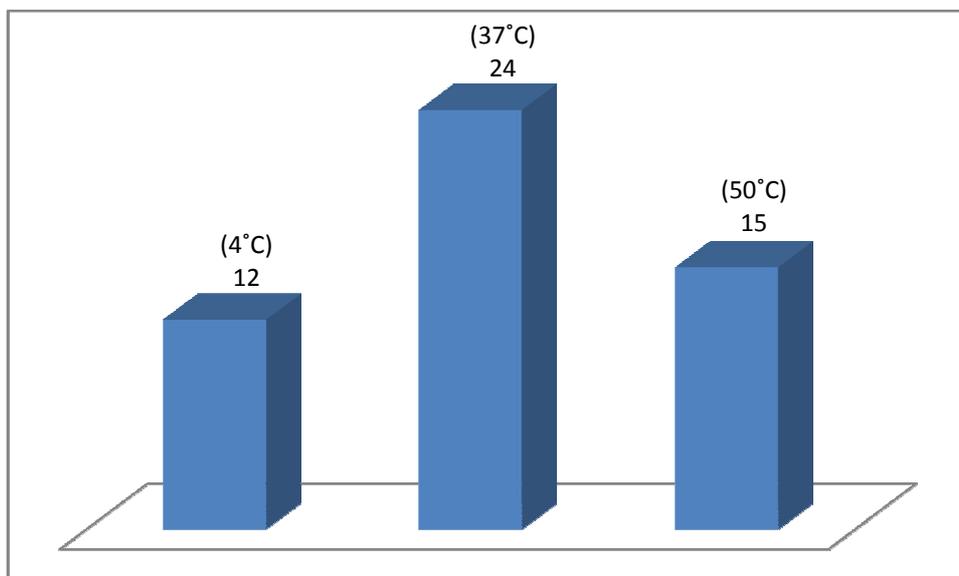
Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

Figura C9. Crecimiento en función de la temperatura (4 Días).



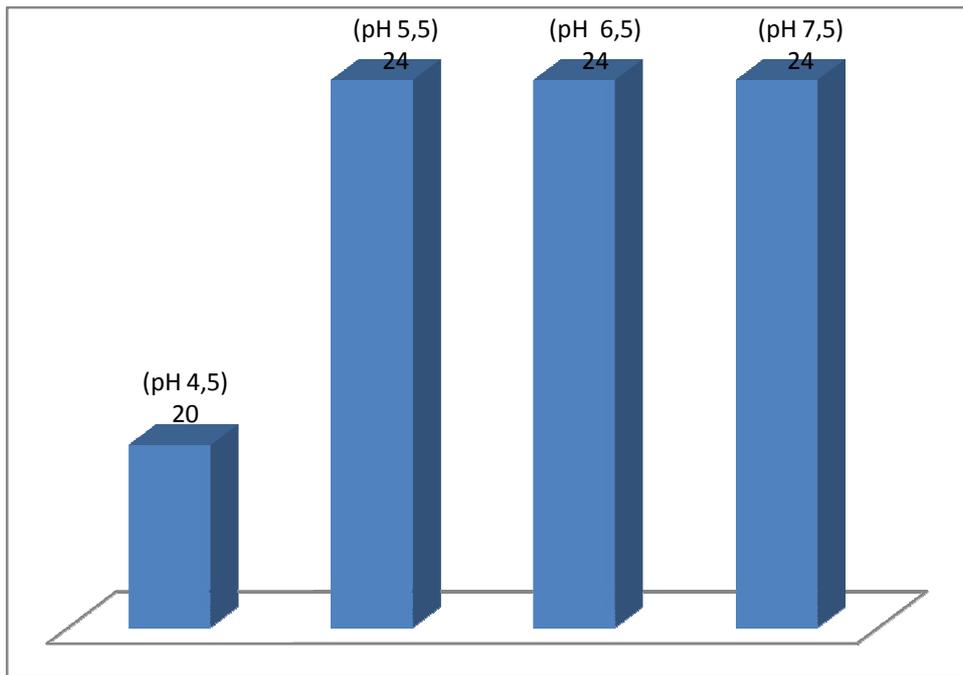
Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Figura C10. Crecimiento en función de la temperatura (7 Días).



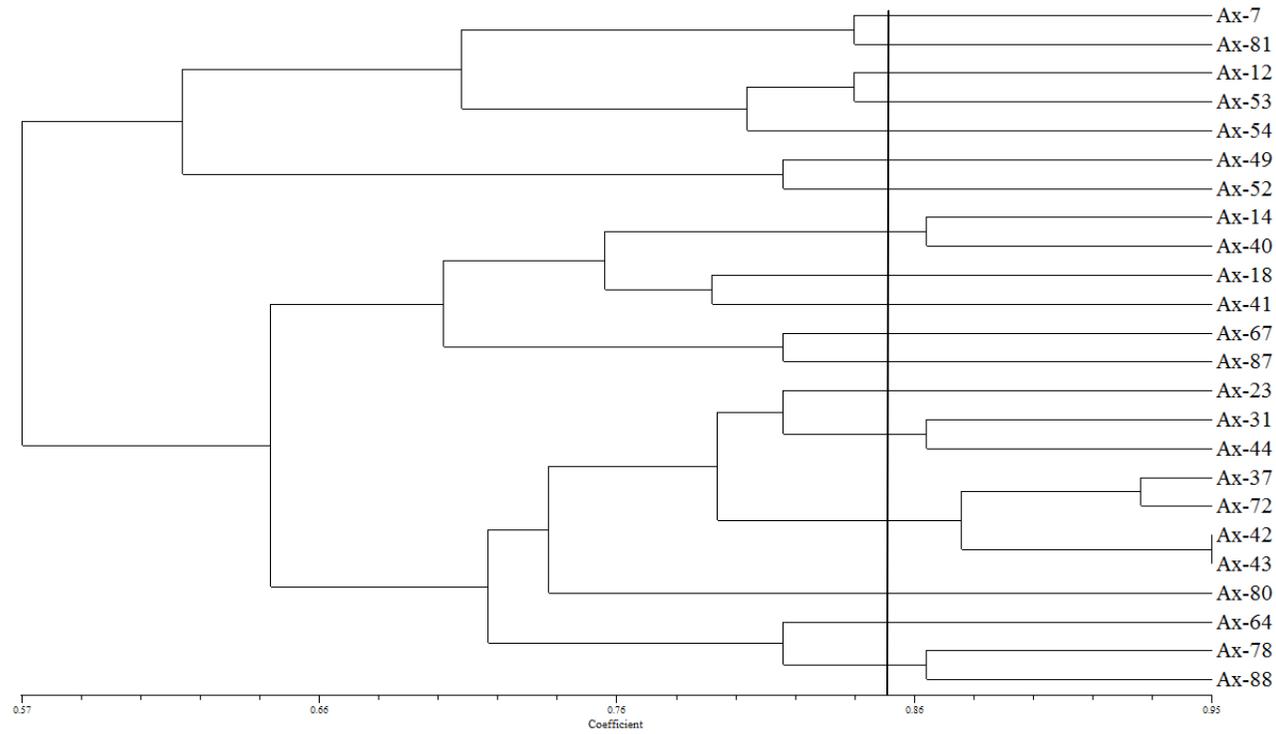
Elaborado por: Ricardo Vizúete G. 2010.

Figura C11. Crecimiento en función de pH.



Elaborado por: Ricardo Vizuete G. 2010.

Figura C12. Dendrograma para datos fenotípicos.



Elaborado por: Ricardo Vizuite G. 2010.

ANEXO D

MEDIOS DE CULTIVO Y

SOLUCIONES

MEDIOS DE CULTIVO

Agar Nutritivo

Agar Nutritivo	23.00 g
Agua	1000.00 ml

Se colocará una gota de muestra de microorganismos en el portaobjetos, junto a una gota de agua destilada, se secará y luego se fijara la muestra en el mechero y se procederá con las diferentes tinciones.

Agar Nutritivo.

Se necesitó para el primer aislamiento de bacterias.

- 22 cajas tetrapetri.
- Bacterias refrigeradas.
- Agar nutritivo 15,64g
- 680 ml agua destilada.
- Autoclave.
- Probeta.
- Botellas de vidrio 500 ml.
- Vaso de precipitación 1000 ml.
-

Calculo de Agar Nutritivo.

Se utilizan 88 bacterias del stock refrigerado y 22 cajas tertapetri.

$$22\text{cajas} * 30\text{ml} = 660\text{ml} \pm 680 \text{ ml}$$

$$23\text{g Agar} \quad 1000\text{ml agua}$$

$$X \quad 680\text{ml agua}$$

$$X = 15,64\text{g de Agar.}$$

Segundo Aislamiento.

A partir de las cajas tetrapetri del primer aislamiento se procedió a realizar un segundo aislamiento de las cepas de bacterias degradadoras de hidrocarburos en este caso se procedió con el aislamiento en cajas monopetri realizando una estría compleja, estas cajas se colocan en el incubador a 28°C por 48 horas, luego de este tiempo transcurrido se observara si las cepas de bacterias están puras.

Almacenamiento de cepas purificadas

En tubos de tapa rosca de 2 ml, se colocara 1,2 ml de glicerol al 20% realizar solución turbia luego refrigerar.

Medio Preliminar (1lt).

- KNO₃ 2g/lt
 - Glucosa 4g/lt
 - K₂HPO₄ 4g/lt
 - Agar 15g/lt
 - *Sales Traza 1ml/lt
 - o 100 mg Sulfato de Magnesio
 - o 100 mg Sulfato de Hierro
 - o 100 mg Sulfato de Cobre
 - o 100 mg Sulfato de Manganeso
 - o 100 mg Sulfato de Zinc
- } Pesar 100mg de cada compuesto
} diluir en 100 ml de agua destilada.

***Sales Traza:** 100mg de Mg SO₄, 100mg de FeSO₄, 100mg de CuSO₄, 100mg de MnSO₄.H₂O, y 100mg de ZnSO₄, diluidos en 100 ml de agua estéril.

Medio enriquecido con Hidrocarburos (1lt).

- KNO₃ 2g/lt
- Hidrocarburo* 5ml/lt
- K₂HPO₄ 4g/lt
- Agar 15g/lt
- Sales Traza 1ml/lt

- Sulfato de Magnesio
 - Sulfato de Hierro
 - Sulfato de Cobre
 - Sulfato de Manganeso
 - Sulfato de Zinc
- } Pesar 100mg de cada compuesto
} diluir en 100 ml de agua destilada.

(* = Petróleo, Gasolina, Diesel)

Medio Agar extracto de Suelo.

Extracto de Suelo.

Pretratamiento.

- Pesar 150g de suelo contaminado y diluirlos en 600ml de agua destilada, agitar la mezcla por 1 hora, filtrar la muestra y ajustar el pH a no menos de 4.5.
- Extracto de suelo* 5ml/lt
- Bacto Agar 15g/lt

(* = Extracto de suelo arenoso o arcilloso)

BUFERS

Búfer de Fosfato di Básico de Sodio y Ácido Cítrico

Solución de Ácido cítrico 0.1 M (PM: 210.14 g)

Solución de Fosfato di básico de Sodio 0.2 M (PM: 141.98 g)

Se prepara un volumen final de 100 ml:

pH	0.1 M Ácido Cítrico (ml)	0.2 M Na ₂ HPO ₄ (ml)
2.6	89.10	10.90
3.0	79.45	20.55
3.5	69.75	30.25
4.0	61.45	38.55
4.5	54.57	45.43

5.0	48.50	51.50
5.5	43.13	56.87
6.0	36.85	63.15
6.5	29.04	70.96
7.0	17.65	82.35
7.5	7.62	92.38

Búfer de Hidróxido de Sodio y Ácido Bórico

Solución de Hidróxido de Sodio 0.2 M (PM: 40.00 g)

Solución de Ácido Bórico 0.2 M (PM: 61.80 g)

Se prepara un volumen final de 100 ml:

pH	0.2 M Ácido Bórico (ml)	0.2 M NaOH (ml)
8.5	75.00	25.00
9.5	55.00	45.00

ANEXO E

TABLA DE COLORES

**(British Standard Specification
for colours for identification,
coding and special purposes)**

Table 1. Standard colours							
Ref. No.	Name	Surface finish of individual colour cards	Colorimetric values under CIE standard illumination D ₆₅			Approximate Munsell reference	Page with colour sample
			Chromaticity coordinates		Luminance factor, β		
			x	y			
101	Sky blue	gloss	0.287	0.351	0.345	5BG 6/4	7
103	Peacock blue	gloss	0.240	0.302	0.116	5B 3/6	7
104	Azure blue	gloss	0.226	0.233	0.083	5PB 3/6	7
		matt	0.218	0.223	0.073	5PB 3/6	—
105	Oxford blue	gloss	0.248	0.245	0.049	7.5PB 2/6	7
106	Royal blue	gloss	0.291	0.296	0.039	10PB 1/1	7
107	Strong blue	gloss	0.209	0.240	0.148	2.5PB 4/10	17
108	Aircraft blue	gloss	0.219	0.196	0.060	7.5PB 2/10	17
		matt	0.221	0.199	0.057	7.5PB 2.5/8	—
109	Middle blue	gloss	0.214	0.249	0.095	10B 3/8	7
110	Roundel blue	gloss	0.232	0.214	0.064	7.5PB 2/8	7
		matt	0.230	0.212	0.059	7.5PB 2.5/6	—
112	Arctic blue	gloss	0.246	0.300	0.314	7.5B 6/6	7
113	Deep Saxe blue	gloss	0.239	0.292	0.112	7.5B 3/6	7
166	French blue	gloss	0.205	0.195	0.120	7.5PB 3.5/12	17
		matt	0.202	0.190	0.115	7.5PB 3/12	—
172	Pale roundel blue	matt	0.265	0.287	0.431	2.5PB 7/4	7
175	Light French blue	gloss	0.215	0.227	0.191	5PB 4.5/12	17
210	Sky	gloss	0.331	0.366	0.426	5GY 7/2	9
		matt	0.331	0.368	0.437	5GY 7/2	—
216	Eau-de-Nil	gloss	0.335	0.405	0.444	7.5GY 7/4	9
217	Sea green	gloss	0.343	0.441	0.326	7.5GY 6/6	9
218	Grass green	gloss	0.328	0.459	0.177	7.5GY 4.5/8	17
220	Olive green	gloss	0.338	0.406	0.085	5GY 3/6	9
221	Brilliant green	gloss	0.309	0.457	0.136	10GY 4/8	17
		matt	0.307	0.457	0.133	10GY 4/8	—
223	Middle bronze green	gloss	0.334	0.383	0.078	5GY 3/2	9
224	Deep bronze green	gloss	0.324	0.368	0.061	2.5GY 2/4	9
		matt	0.323	0.365	0.063	2.5GY 2/2	—
225	Light Brunswick green	gloss	0.314	0.441	0.105	7.5GY 3.5/7	9
226	Middle Brunswick green	gloss	0.292	0.389	0.073	5G 2/6	9
227	Deep Brunswick green	gloss	0.294	0.364	0.060	10GY 2/4	9
228	Emerald green	gloss	0.259	0.414	0.173	7.5G 4/8	17
241	Dark green	gloss	0.330	0.361	0.090	10Y 3/2	9
		matt	0.331	0.360	0.086	10Y 3/2	—
262	Bold green	gloss	0.262	0.438	0.191	2.5G 5/8	17
267	Deep chrome green	gloss	0.288	0.391	0.104	2.5G 3/4	9
280	Verdigris green	gloss	0.283	0.403	0.251	5G 5/6	9
283	Aircraft grey green	gloss	0.322	0.376	0.207	7.5GY 5/2	9
		matt	0.321	0.379	0.195	7.5GY 5/2	—
285	NATO green	matt	0.334	0.362	0.091	10Y 3/1	9
298	Olive drab	gloss	0.341	0.375	0.078	10Y 3/2	9
		matt	0.339	0.375	0.075	10Y 3/2	—

Ref. No.	Name	Surface finish of individual colour cards	Colorimetric values under CIE standard illumination D ₆₅			Approximate Munsell reference	Page with colour sample
			Chromaticity coordinates		Luminance factor, β		
			x	y			
309	Canary yellow	gloss	0.447	0.483	0.624	5Y 9/14	17
		matt	0.448	0.487	0.657	5Y 9/14	—
310	Primrose	gloss	0.403	0.448	0.664	7.5Y 8.5/8	11
320	Light brown	gloss	0.429	0.398	0.179	7.5YR 4.5/6	11
337	Very dark drab	gloss	0.336	0.357	0.081	7.5Y 2/2	11
		matt	0.338	0.358	0.079	7.5Y 3/2	—
352	Pale cream	gloss	0.380	0.401	0.626	5Y 9/6	11
353	Deep cream	gloss	0.409	0.421	0.648	2.5Y 8.5/8	11
355	Lemon	gloss	0.471	0.471	0.532	2.5Y 8/12	17
		matt	0.467	0.468	0.553	2.5Y 8/12	—
356	Golden yellow	gloss	0.485	0.454	0.496	10YR 7/14	17
		matt	0.485	0.456	0.484	10YR 7/12	—
358	Light buff	gloss	0.415	0.407	0.470	10YR 7/6	11
		matt	0.416	0.406	0.459	10YR 7/6	—
361	Light stone	gloss	0.384	0.388	0.393	10YR 7/4	11
		matt	0.389	0.392	0.376	10YR 7/4	—
363	Bold yellow	gloss	0.471	0.475	0.615	2.5Y 8/14	17
365	Vellum	gloss	0.344	0.369	0.627	7.5Y 8.5/2	11
		matt	0.345	0.371	0.606	7.5Y 8.5/2	—
367	Manilla	gloss	0.354	0.371	0.681	2.5Y 8.5/2	11
368	(See 568)						
369	Biscuit	gloss	0.373	0.380	0.651	10YR 8/4	11
384	Light straw	gloss	0.360	0.381	0.569	5Y 8/4	11
388	Beige	gloss	0.370	0.382	0.495	2.5Y 7/4	11
389	Camouflage beige	matt	0.343	0.364	0.315	5Y 6/2	11
410	(See 320)						
411	Middle brown	gloss	0.413	0.380	0.100	7.5YR 3/6	13
412	Dark brown	gloss	0.382	0.351	0.068	5YR 2/4	13
414	Golden brown	gloss	0.461	0.397	0.163	5YR 4/8	13
436	Dark camouflage brown	matt	0.345	0.346	0.074	5YR 3/1	13
437	(See 337)						
445	Venetian red	gloss	0.451	0.350	0.094	10R 3/8	13
447	Salmon pink	gloss	0.400	0.361	0.421	2.5YR 7/6	13
454	Pale roundel red	matt	0.378	0.327	0.360	10RP 7/6	13
499	Service brown	gloss	0.360	0.357	0.074	10YR 2.5/4	11
		matt	0.365	0.360	0.069	10YR 2.5/2	—
537	Signal red	gloss	0.548	0.334	0.144	7.5R 4.5/16	17
		matt	0.555	0.331	0.149	7.5R 4.5/14	—
538	Cherry	gloss	0.529	0.322	0.104	5R 3.5/16	17
		matt	0.534	0.325	0.116	5R 3.5/14	—
539	Currant red	gloss	0.539	0.325	0.123	7.5R 4/14	17
541	Maroon	gloss	0.353	0.325	0.046	5R 2/8	13
542	Ruby	gloss	0.403	0.274	0.087	7.5RP 3/10	13

Table 1. (concluded)

Ref. No.	Name	Surface finish of individual colour cards	Colorimetric values under CIE standard illumination D ₆₅			Approximate Munsell reference	Page with colour sample
			Chromaticity coordinates		Luminance factor, β		
			x	y			
557	Light orange	gloss	0.517	0.393	0.274	2.5YR 6/14	17
		matt	0.517	0.392	0.284	2.5YR 6/14	—
564	Bold red	gloss	0.553	0.330	0.147	8.75R 4/14	17
568	Apricot	gloss	0.502	0.421	0.334	7.5YR 6/14	17
592	International orange	gloss	0.545	0.355	0.184	10R 5/16	17
593	Rail red	gloss	0.561	0.345	0.181	8.75R 5/17	17
626	Camouflage grey	matt	0.304	0.328	0.321	10B 6/1	15
627	Light aircraft grey	gloss	0.317	0.338	0.435	N 7.25	15
		matt	0.319	0.339	0.428	N 7	—
630	French grey	gloss	0.323	0.356	0.327	5GY 6/1	15
631	Light grey	gloss	0.308	0.341	0.310	7.5G 6/1	15
		matt	0.308	0.342	0.314	7.5G 6/1	—
632	Dark Admiralty grey	gloss	0.299	0.321	0.149	10B 4/0.5	15
		matt	0.300	0.322	0.146	10B 4/0.5	—
637	Medium sea grey	gloss	0.301	0.324	0.273	10B 5.5/1	15
		matt	0.303	0.326	0.270	10B 6/1	—
638	Dark sea grey	gloss	0.300	0.318	0.142	5PB 4/1	15
		matt	0.299	0.316	0.139	2.5PB 4/2	—
641	(See 241)						
642	Night	gloss	0.310	0.327	0.047	N 1	15
		matt	0.310	0.326	0.039	N 1.75	—
676	Light weatherwork grey	gloss	0.300	0.325	0.382	2.5PB 6.5/2	15
677	Dark weatherwork grey	gloss	0.296	0.315	0.146	5PB 4/2	15
692	Smoke grey	gloss	0.272	0.303	0.237	10B 5/4	15
693	Aircraft grey	gloss	0.307	0.334	0.234	10BG 5/1	15
694	Dove grey	gloss	0.313	0.339	0.261	5GY 5/1	15
697	Light Admiralty grey	gloss	0.297	0.334	0.479	10BG 7.5/2	15
		matt	0.298	0.336	0.490	10BG 7.5/2	—
796	Dark violet	gloss	0.304	0.244	0.092	7.5P 3/7	17
797	Light violet	gloss	0.304	0.286	0.359	5P 6.5/6	13

Table 2. Obsolescent colours						
Ref. No.	Name	Surface finish of individual colour cards	Colorimetric values under CIE standard illumination D ₆₅			Approximate Munsell reference
			Chromaticity coordinates		Luminance factor, β	
			x	y		
102	Turquoise blue	gloss	0.254	0.332	0.213	7.5BG 5/5
111	Pale blue	gloss	0.281	0.347	0.414	5BG 7/4
114	Rail blue	gloss	0.233	0.290	0.068	2.5B 2/6
115	Cobalt blue	gloss	0.236	0.250	0.221	5PB 5/8
174	Oriental blue	gloss	0.242	0.315	0.247	2.5B 5.5/6
222	Light bronze green	gloss	0.371	0.431	0.129	2.5GY 4/6
		matt	0.368	0.429	0.130	2.5GY 4/4
275	Opaline green	gloss	0.305	0.386	0.383	2.5G 7/6
278	Light olive green	gloss	0.352	0.413	0.232	5GY 5/4
350	Dark earth	gloss	0.367	0.370	0.145	10YR 4/2
		matt	0.374	0.374	0.141	10YR 4/2
359	Middle buff	gloss	0.435	0.413	0.349	10YR 6/8
360	(See 460)					
366	Light beige	gloss	0.371	0.385	0.593	2.5Y 8/4
446	Red oxide	gloss	0.428	0.348	0.081	10R 2.5/7
450	(See 350)					
453	Shell pink	gloss	0.335	0.332	0.594	10RP 8/3
460	Deep buff	gloss	0.420	0.394	0.270	7.5YR 5.5/6
473	Gulf red	gloss	0.429	0.335	0.073	10R 2/6
489	Leaf brown	gloss	0.421	0.367	0.120	5YR 3/6
540	Crimson	gloss	0.447	0.319	0.065	5R 2/8
633	RAF blue grey	gloss	0.291	0.315	0.073	7.5B 2/2
		matt	0.289	0.315	0.067	7.5B 2/2
634	Slate	gloss	0.325	0.358	0.146	5GY 4/1
635	Lead	gloss	0.309	0.344	0.010	5G 3/1
636	PRU blue	gloss	0.274	0.307	0.155	10B 4/3
		matt	0.273	0.308	0.151	10B 4/3
640	Extra dark sea grey	gloss	0.296	0.317	0.112	10B 3.5/1
		matt	0.296	0.315	0.108	10B 3.5/1
671	Middle graphite	gloss	0.303	0.323	0.092	10B 3/1



172 Pale roundel blue



112 Arctic blue



101 Sky blue



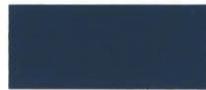
103 Peacock blue



104 Azure blue



109 Middle blue



113 Deep Saxe blue



110 Roundel blue



105 Oxford blue



106 Royal blue



216 Eau-de-Nil



210 Sky



217 Sea green



280 Verdigris green



283 Aircraft grey green



267 Deep chrome green



225 Light Brunswick green



285M NATO green



220 Olive green



241 (641) Dark green



298 Olive drab



226 Middle Brunswick green



223 Middle bronze green



227 Deep Brunswick green



224 Deep bronze green



310 Primrose



367 Manila



365 Vellum



353 Deep cream



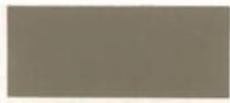
369 Biscuit



352 Pale cream



384 Light straw



389 Camouflage beige



388 Beige



358 Light buff



361 Light stone



320 (410) Light brown



337 (437) Very dark drab



499 Service brown



447 Salmon pink



797 Light violet



454 Pale roundel red



414 Golden brown



411 Middle brown



445 Venetian red



542 Ruby



436M Dark camouflage brown



412 Dark brown



541 Maroon



796 Dark violet



108 Aircraft blue



166 French blue



175 Light French blue



107 Strong blue



228 Emerald green



262 Bold green



221 Brilliant green



218 Grass green



309 Canary yellow



363 Bold yellow



355 Lemon



356 Golden yellow



568 (368) Apricot



557 Light orange



592 International orange



593 Rail red



537 Signal red



564 Bold red



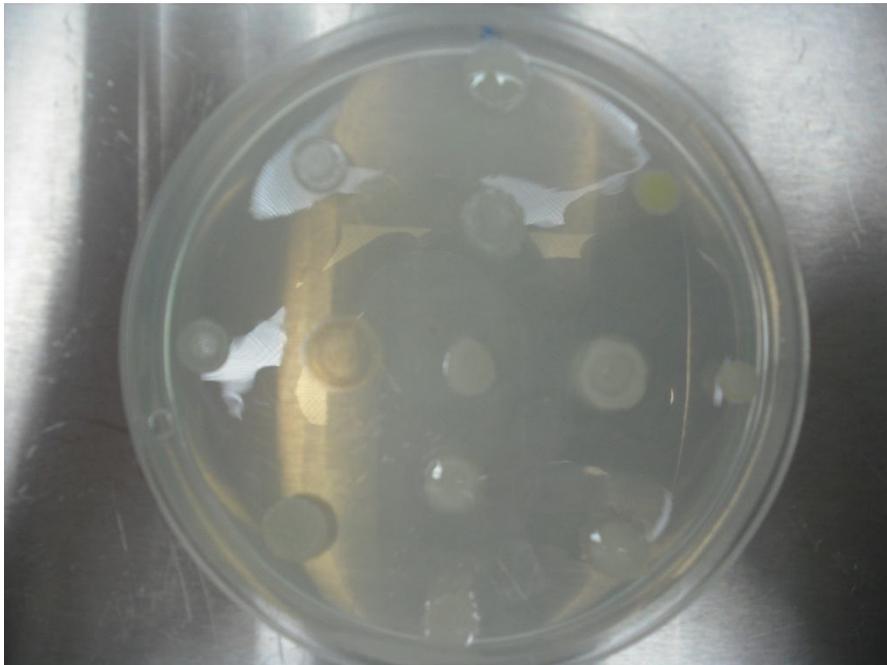
539 Currant red



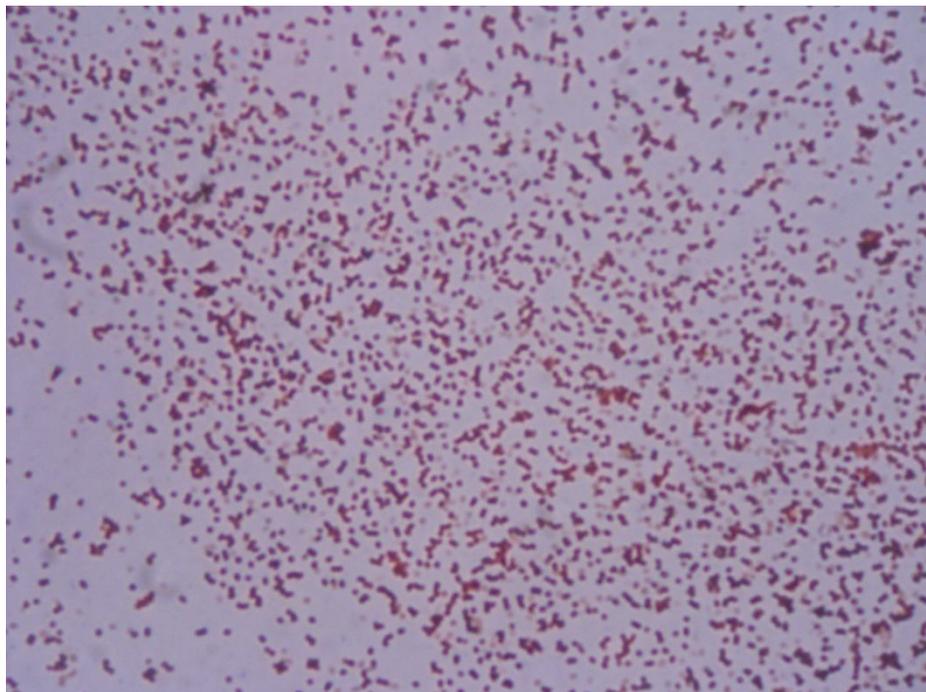
538 Cherry

ANEXO F
FOTOGRAFÍAS

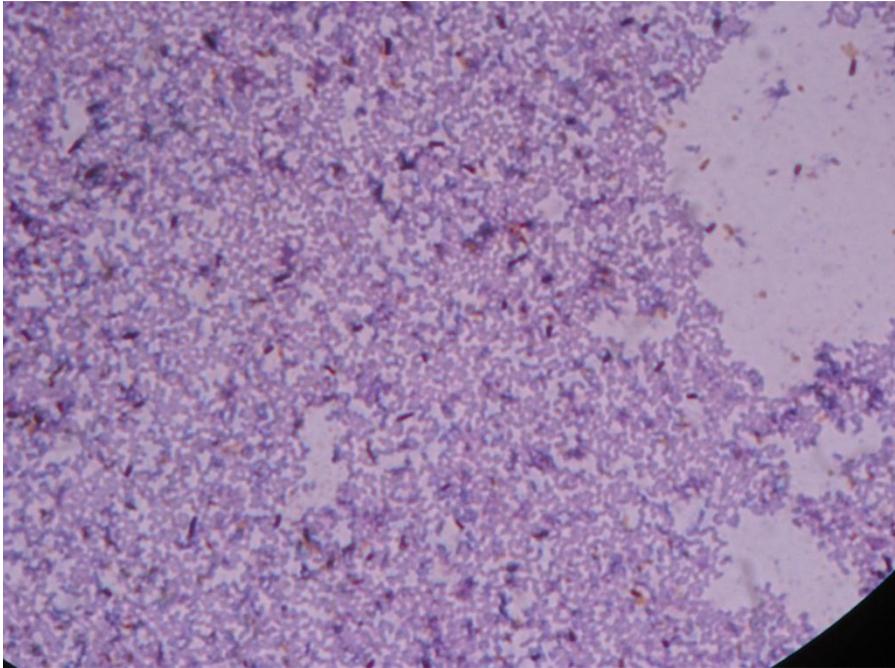
Fotografía 1. Crecimiento bacteriano medio KNO_3 .



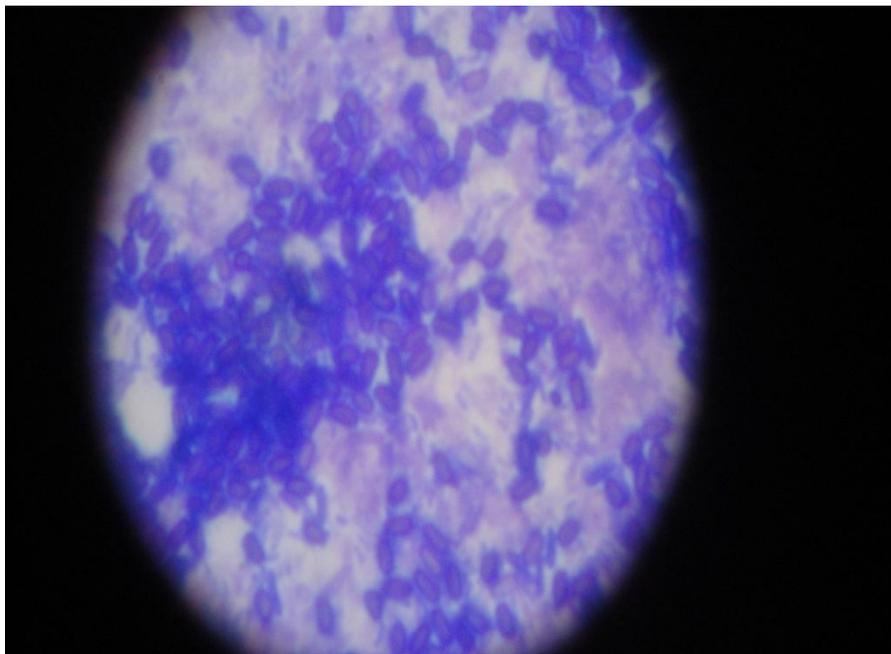
Fotografía 2. Tinción de Gram (bacteria gram negativa).



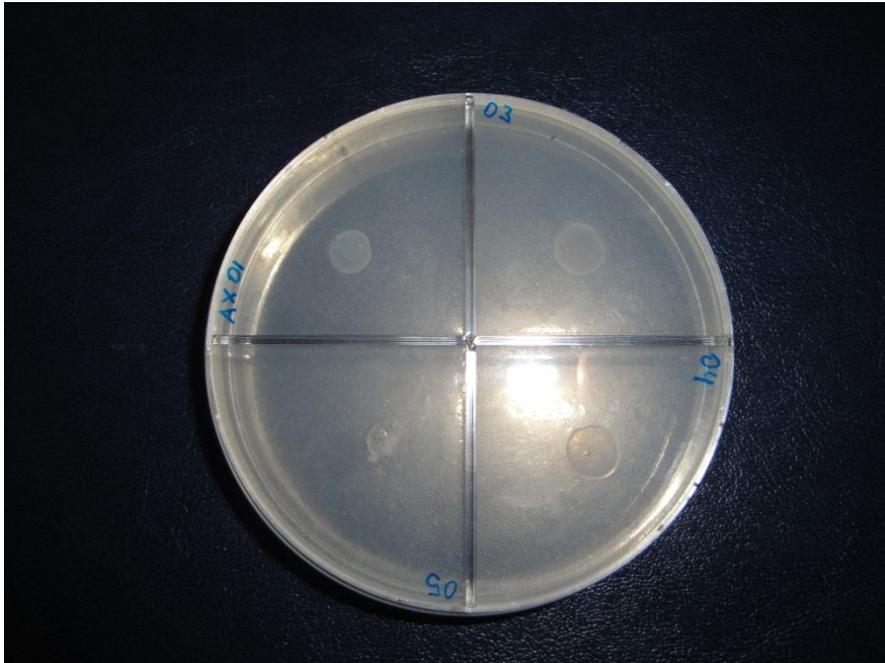
Fotografía 3. Tinción de Gram (bacteria gram positiva).



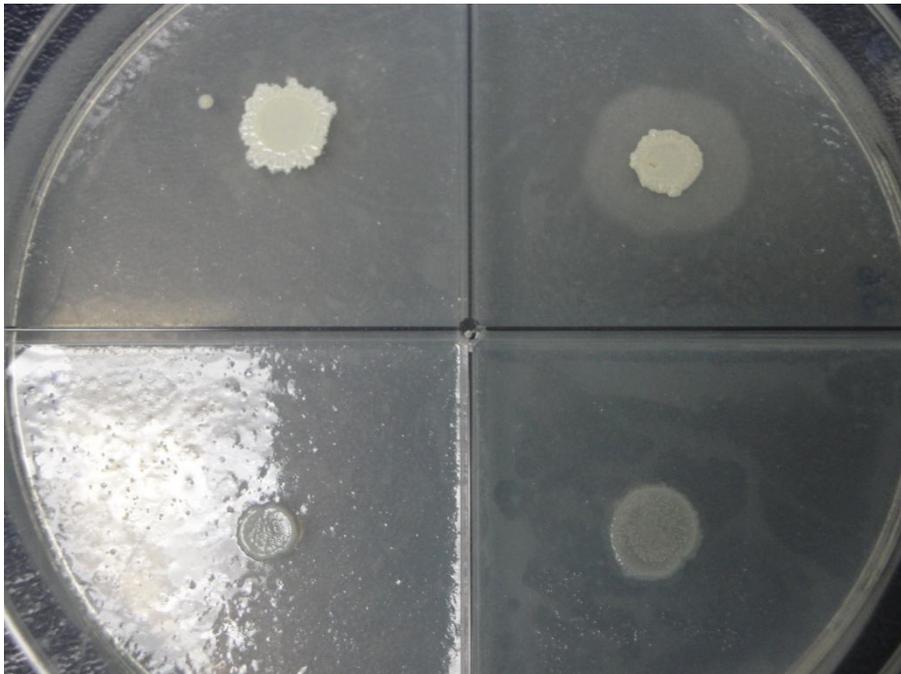
Fotografía 4. Tinción de Cápsulas.



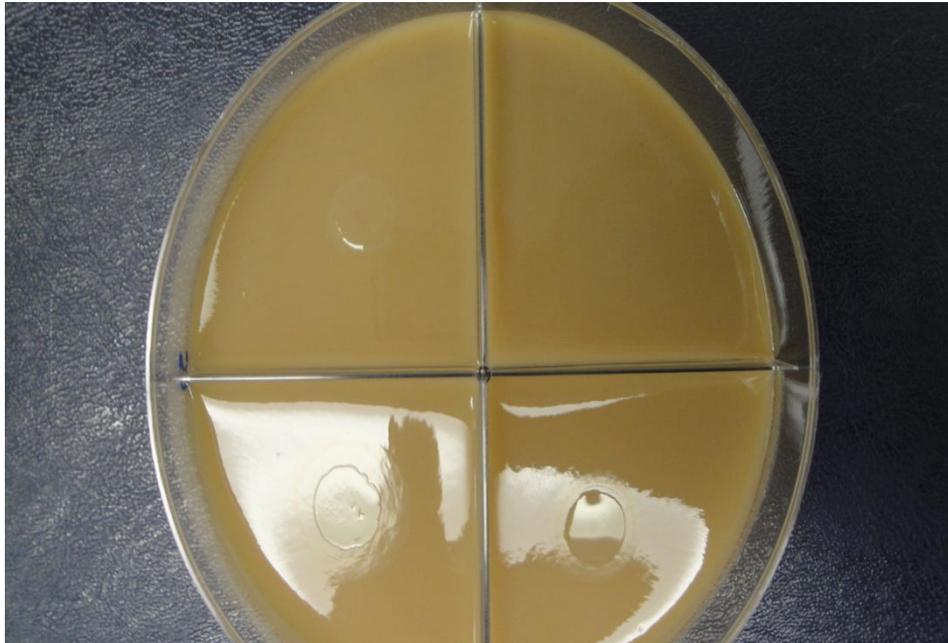
Fotografía 5. Crecimiento bacteriano a los cinco días de incubación (medio diesel).



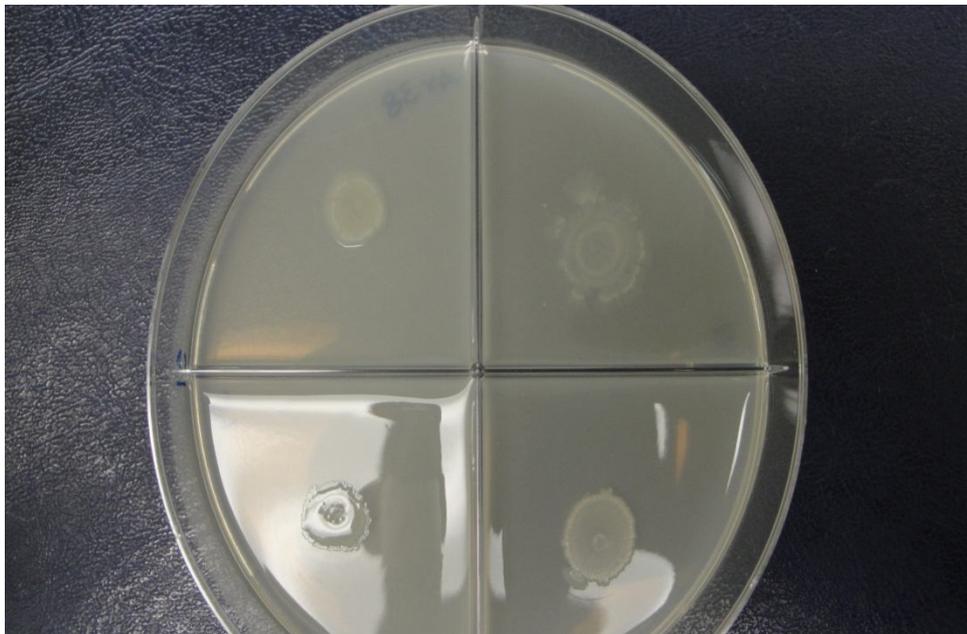
Fotografía 6. Crecimiento de bacterias a los diez días de incubación (medio diesel).



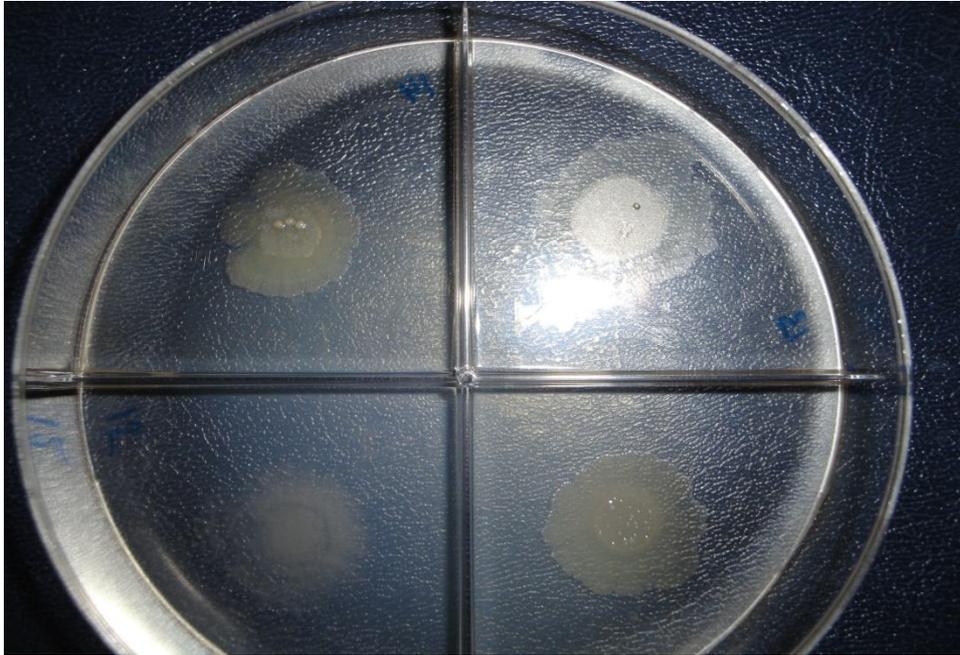
**Fotografía 7. Crecimiento de bacterias a los quince días de incubación
(extracto de suelo arcilloso).**



**Fotografía 8. Crecimiento de bacterias a los veinte días de incubación
(extracto de suelo arenoso).**



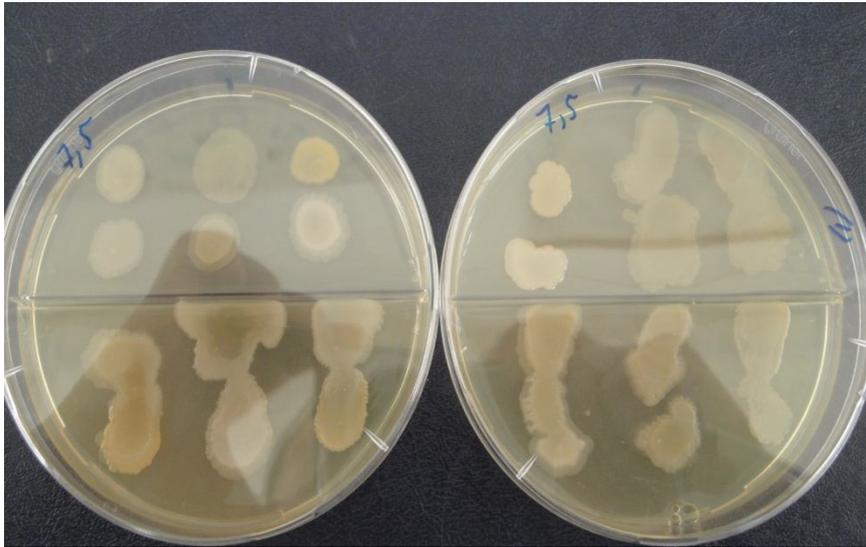
**Fotografía 9. Crecimiento de bacterias a los veinte y cinco días de incubación
(medio gasolina).**



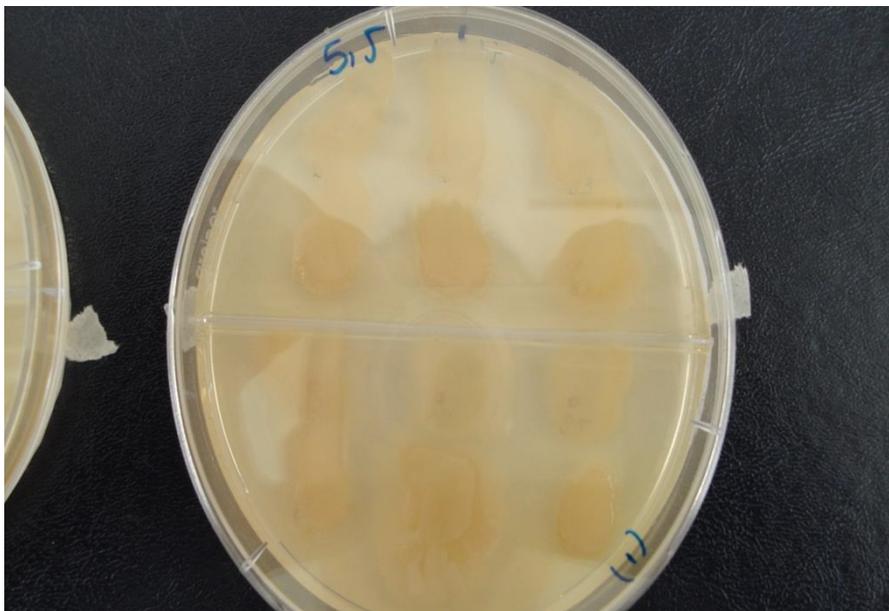
Fotografía 10. Crecimiento de bacterias a los treinta días de incubación (medio petróleo).



Fotografía 11. Crecimiento de bacterias a 7.5 de pH.



Fotografía 12. Crecimiento de bacterias a 5.5 de pH.



Fotografía 13. Crecimiento de bacterias a 37°C de temperatura.

