Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Departamento de Química

Evaluación de comunidades microbianas en suelos impactados por actividad metalúrgica en Tinaquillo, Edo. Cojedes

Autor: María Elena Medina

Bárbula, 01 de Agosto de 2013

Universidad de Carabobo
Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Departamento de Química

Evaluación de comunidades microbianas en suelos impactados por actividad metalúrgica en Tinaquillo, Edo. Cojedes

Trabajo Especial de Grado presentado ante la Ilustre Universidad de Carabobo como requisito parcial para optar al título de Licenciada en Química

Tutor Académico:
Prof. Arnaldo Armado

Autor:
Br. María Elena Medina
C.I: 18.252.948

Bárbula, 01 de Agosto de 2013

RESUMEN

La interacción de los residuos de la actividad metalúrgica con el suelo, originan cambios en las propiedades físicas y químicas, que pueden ser determinantes en la vida microbiológica de los ambientes donde se desarrollen. El objetivo de este trabajo fue la evaluación de comunidades microbianas en suelos impactados por la actividad metalúrgica en una empresa inactiva de la ciudad de Tinaquillo,Edo. Cojedes. Para ello, se analizaron muestras recolectadas hace 18 meses (Mayo-2011) y muestras tomadas recientemente (Enero-2013). El esquema de muestreo se basó en tomar un total de diez muestras simples de nueve secciones de la zona afectada por la disposición de los residuos industriales, y una zona control no afectada dentro de las delimitaciones de la empresa, obteniéndose finalmente un total de diez muestras compuestas para el análisis. Se determinaron indicadores físicos, químicos y biológicos. Se evaluó la variación de las comunidades microbianas cultivables mediante la cuantificación de las unidades formadoras de colonias (ufc) en placas utilizando agar LB como medio de cultivo, complementado con Ciprofloxacina® para el crecimiento de hongos y con Fluconazol® para el crecimiento de bacterias. Posteriormente se determinó cualitativamente la presencia de organismos bacterianos cultivables productores de amilasas, proteasas y celulasas. Se observó una disminución significativa de la diversidad de microorganismos en las muestras de Enero-2013 en relación con las muestras de Mayo-2011. Para las muestras de Enero-2013, la carga fúngica obtenida fue de ($5,05*10^4$ - $3,10*10^6$) ufc, y la carga bacteriana de ($1,65*10^4$ - $1,50*10^6$) ufc; en el caso de las muestras de Mayo-2011 para la carga fúngica se obtuvo ($1,60*10^5$ - $1,60*10^7$) ufc y la carga bacteriana fue ($3,4*10^6$ - $2,38*10^4$) ufc. La zona 1B fue la que obtuvo menor crecimiento de microorganismos cultivables, observándose la misma tendencia tanto para las muestras Mayo-2011 como para Enero-2013. En general se encontró valores mayores de ufc en las muestras control que en las impactadas. Adicionalmente, se determinó el índice de Shannon sobre los resultados obtenidos de las cargas bacterianas, fúngicas y microorganismos productores de amilasa, proteasa y celulasa, observándose que la diversidad microbiana para los diferentes microorganismos disminuye en las zonas más afectadas por la escoria metálica, siendo mayor en zonas alejadas a la disposición de dicho contaminante. Se aislaron y caracterizaron

macro y micro-morfológicamente un total de 24 colonias bacterianas y 21 colonias fúngicas en las diferentes muestras estudiadas. Las bacterias Gram-negativas resultaron ser más resistentes a la presencia del contaminante y a alta alcalinidad del terreno. Se demostró que el pH y el contenido de humedad afecta el crecimiento de los microorganismos presentes en la zona.

Palabras Claves: microorganismos cultivables, bacterias, hongos, escoria metálica, diversidad.

ABSTRACT

The interactions of residues from metallurgical activity with soil, lead to changes in physical and chemical properties, which may be decisive in microbiological life in the site which they grow. The goal of this reseacrh is the evaluation of the microbial communities in soils impacted by metallurgical activity at Tinaquillo,Edo. Cojedes. Additionally, samples collected 18 months ago were analyzed and compared with recent samples (May-2011 and January-2013); the sampling scheme was based on taking a total of ten samples, of which nine were differently affected areas by the industrial waste disposal, and an unaffected control area within the boundaries of the company. Variables such as physical, chemical and biological were determined. Quantification of colony forming units (cfu) was performed on LB agar as culture medium supplemented with Ciprofloxacin ® for fungal growth and Fluconazole ® for bacterial growth. Subsequently were determined qualitatively amylase, protease and cellulase in culturable bacterial organisms. Being obteined a significant decrease in the diversity of microorganisms in samples from January-2013 in relation to the May-2011 samples, in the case of the January-2013 samples the fungal load was ($5,05*10^4$ - $3,10*10^6$) ufc, bacterial load was ($1,65*10^4$ - $1,50*10^6$) ufc, fungal load was ($1,60*10^5$ - $1,60*10^7$) ufc, the bacterial load was quantified ($3,4*10^6$ - $2,38*10^4$) cfu, for May-2011 sample, finding values of ufc under control samples in zones nearby industry. The area 1b obtained the lower growth of culturable microorganisms, the same trend was observed for both samples may-2011 and january-2013. Were isolated and characterized a total of 24 bacterial colonies and fungal colonies 21 between the different samples. the Shannon Index was determinate on the results of bacterial loads, and microorganisms fungal amylase, protease and cellulase, microbial diversity observed decreases in the areas most affected by slag and scrap industry, being higher in remote areas the industry Gram-negative bacteria were more resistant to the presence of contaminating ground and high alkalinity. Results showed that the pH and moisture content progressively affects the microorganisms present in the area.

Key words: culturable microorganisms, bacteria, fungi, scrap metal, diversity.

INDICE

Pág

INTRODUCCIÓN…….. 8

CAPÍTULO I

1.1 Planteamiento del problema……. 10

1.2 Objetivos de la investigación…… 12

1.2.1 Objetivo general..…….. 12

1.2.2 Objetivos específicos.…… 13

1.3 Justificación…….. 13

CAPÍTULO II

2.1 Antecedentes…….. 15

2.2 Bases teóricas..... 17

CAPÍTULO III

3.1 Población y muestra…… 23

3.2 Caracterización fisicoquímica del suelo…….. 24

3.3 Conteo de la carga microbiana (Hongos y bacterias)……. 24

3.3.1 Preparación de medio de cultivo agar LB…….. 25

3.3.2 Aislamiento de microrganismos representativos de cada una de las mezclas…….. 25

3.4. Determinación cuantitativa de la presencia de amilasas, proteasas y celulasas en organismos bacterianos cultivables…… 25

3.5 Determinación Índice de Shannon……. 26

3.6. Coeficiente de Correlación de Pearson…….. 27

CAPÍTULO IV

4.1. Propiedades físicas y químicas de los suelos en estudio…….. 28

4.2. Carga bacteriana y fúngica cultivable……... 35

4.3. Determinación cuantitativa de la presencia de amilasas, proteasas y celulasas en organismos bacterianos cultivables…….. 43

4.4. Coeficiente Lineal de Pearson para las variables seleccionadas……..…… 46

CAPITULO V

5.1.Conclusiones……..…….. 48

5.2.Recomendaciones……. 49

Bibliografía…….. 50

Apéndices…… 55

Índice de Figuras

Figura Nº 1. Muestreo aleatorio estratificado en la zona delimitada de estudio…….. 23

Figura N° 2. Valores de Contenido de humedad en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica…….. 30

Figura N° 3. Retención humedad en muestras de suelo tras contaminación

metalúrgica…….

Figura N° 4. Valores de pH obtenidos en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica……. 30

Figura N° 5. Valores de Capacidad de Intercambio catiónico en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica……..... 32

Figura N° 6. Conductividad Eléctrica en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica……. 33

Figura N° 7. Porcentaje de Materia Orgánica en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica…… 34

Figura N° 8. Carga Fúngica cultivable (UFC/g suelo) presentes en las muestras de Mayo-2011…….. 35

Figura N° 9. Carga Bacteriana cultivable (UFC/g suelo) presentes en las muestras de Mayo-2011……. 36

Figura N° 10. Carga Fúngica cultivable (UFC/g suelo) presentes en las muestras de Enero-2013……. 37

Figura N° 11. Carga Bacteriana cultivable (UFC/g suelo) presentes en las muestras de Enero-2013……. 37

Figura Nº 12. Índice de Diversidad de Shannon para bacterias……. 38

Figura Nº 13. Índice de Diversidad de Shannon para hongos…….…..… 42

Figura Nº 14. Índice de Diversidad de Shannon muestras 2011……. 42

Figura Nº 15. Índice de Diversidad de Shannon muestras 2013…… 43

Figura Nº 16. Determinación cualitativa de presencia de microorganismos degradadores de amilasas……... 44

Índice de Tablas

Tabla Nº 1. Análisis para la caracterización fisicoquímica de las muestras……..…….. 45

Tabla Nº 2. Caracterización fisicoquímica de la muestras analizadas……. 24

Tabla Nº 3 Número de colonias aisladas por muestra analizada…….. 28

Tabla Nº 4 Morfología microscópica de las colonias de bacterias aisladas en las muestras analizadas…… 36

Tabla Nº 5. Coeficiente Lineal de Pearson para las variables seleccionadas……. 41

47

INTRODUCCIÓN

El suelo es un cuerpo natural, tridimensional, no consolidado, producto de la interacción de los llamados factores formadores del suelo. Está compuesto por sólidos, líquidos y gases, que se mezclan para formar los horizontes o capas diferenciales, resultado de las adiciones, pérdidas, transferencias y transformaciones tanto de energía como de materia, ocurridas a través del tiempo. Dentro de los factores formadores del suelo, los microorganismos juegan un papel importante pues son los encargados de la fertilidad y degradación de la materia orgánica; es de destacar que gracias al proceso de degradación, se liberan ciertos elementos esenciales para la nutrición de las plantas; así, la fertilidad del suelo se puede ver incrementada por la presencia de azufre, fósforo, o manganeso entre otros (Porta *y col,* 2003).

El desarrollo de las industrias, el amplio manejo de agroquímicos en las actividades agrícolas y el crecimiento urbano en América Latina, fomentan una creciente producción de residuos peligrosos, que ante la falta de programas paralelos para su manejo adecuado, causan graves episodios de contaminación ambiental (Markowiccz, 2010).

Los microorganismos del suelo tienen una gran importancia para mantener la vida en nuestro planeta. El estudio de su diversidad es importante, porque estos organismos forman parte de comunidades complejas y dinámicas conformadas por numerosas especies. Para comprender su función en sus hábitats específicos, es esencial identificar y cuantificar cada uno de los miembros que conforman estas comunidades.

Las propiedades biológicas del suelo, así como la actividad de microorganismos, podrían constituir una herramienta valiosa para establecer la calidad del mismo (Bandick y Dick, 1999), es por ello, que se pueden utilizar grupos funcionales de organismos como bioindicadores para evaluar disturbios en el suelo. Los grupos funcionales (microorganismos degradadores de amilasas, proteasas y celulasa) considerados en este estudio son aquéllos que participan directa o indirectamente en los ciclos de los nutrientes y en la

recirculación de la materia orgánica, teniendo en cuenta que éstos interaccionan entre sí, con las plantas y los demás factores físicos y químicos del suelo (Torres, 2006).

En función a lo anteriormente expuesto se planteó el presente trabajo de investigación sobre el impacto en las comunidades microbianas, tras la contaminación de escoria metálica proveniente de una industria fundidora de acero, evaluando los microorganismos cultivables y microorganismos degradadores de sustrato. Este estudio se realizó a muestras de suelo de una empresa ubicada en la zona Tinaquillo, Edo. Cojedes.

CAPÍTULO I

EL PROBLEMA

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los suelos albergan una extraordinaria variedad de formas de vida que ayudan a mantenerlos sanos y fértiles. Unos suelos sanos contribuyen a amortiguar el cambio climático, almacenan y purifican agua, son una fuente de antibióticos y previenen la erosión. Sin embargo, este hábitat se encuentra hoy más amenazado que nunca (Markowiccz, 2010).

Históricamente el suelo ha sido receptor de sustancias químicas y/o desechos peligrosos generados en actividades industriales y comerciales realizadas en el pasado y presente, que ha puesto en riesgo la salud pública. Un suelo se puede degradar al acumularse en él sustancias a unos niveles tales que repercuten negativamente en su comportamiento. Las sustancias, a esos niveles de concentración, se vuelven tóxicas para los organismos del suelo. Se trata, de una degradación química que provoca la pérdida parcial o total de la productividad del suelo (Figueroa, 2008).

Hemos de distinguir entre contaminación natural, frecuentemente endógena, y contaminación antrópica, siempre exógena. Los fenómenos naturales pueden ser causas de importantes contaminaciones en el suelo (Matsushita, 2007).

El suelo presenta una dinámica tal que es posible afirmar que es un ecosistema muy estable y sustentable para el grupo microbiano. Los aportes de materia orgánica e inorgánica mantienen una innumerable cantidad de microbios los cuales se comenzará a descubrir. Directa o indirectamente los restos de seres vivos y tejidos vegetales llegan a la tierra y allí “se desaparecen” al transformarse en parte del suelo, todo este trabajo es realizado por los microorganismos; además, estos microorganismos liberan sustancias útiles para las plantas de tal manera que sin la actividad microbiana

del suelo la vida se extinguiría gradualmente. La gran variabilidad en la composición de los suelos referida a la cantidad y al tipo de sustancias nutritivas, la humedad, la aireación, la temperatura, el pH, la presencia de raíces y las prácticas agrícolas, entre otras, producen grandes diferencias en la densidad y diversidad de la población microbiana. Además, todos estos factores ocasionan una compleja red trófica o trama alimentaria en el suelo, que permite la sobrevivencia de unos y la inhibición de otros (Toro, 2004).

Según Beelen y Doelman (1997) “los microorganismos resistentes a los contaminantes presentes en su hábitat, suelo en este caso, normalmente fracasan en realizar algunas de sus funciones ecológicas especificas”. Teóricamente la diversidad de especies presentes en el suelo puede ser un indicador de los efectos de la contaminación, en particular la aparición de microorganismos resistentes a ésta en una comunidad, lo cual puede ser de utilidad al momento de decidir por un indicador biológico de impacto.

Es claro que sin la presencia de microorganismos en el suelo, el ciclaje de nutrientes se interrumpiría y llegaría al punto que o bien los reservorios naturales de estos elementos se agotarían, o no quedarían disponibles. Este impacto podría reflejarse en la desaparición de poblaciones de macro-organismos dependientes de estos reservorios, ya que la presencia y actividad de estos organismos son esenciales para la salud y funcionamiento adecuado de todos los ecosistemas (Hernández y col, 2012).

Los microorganismos degradadores de distintos sustratos (por ejemplo almidón, proteínas y celulosa) son responsables dentro de las comunidades microbianas de realizar importantes ciclos biogeoquímicos en los sistemas ecológicos, así mismo, estos microorganismos pueden aportar información clave sobre aspectos relacionados con la calidad de los suelos. Ciertos microorganismos muestran una gran sensibilidad frente a procesos no deseables tales como los desechos de las industrias en suelos, los cuales podrían conducir a cambios en la diversidad de las poblaciones de microorganismos degradadores. Sin embargo, considerando la flexibilidad del ecosistema suelo (lo definimos como un ente vivo y dinámico), podemos

pensar que cualquier cambio puede ser detectado en su inicio por su componente biológica (por ejemplo, por la diversidad de microorganismos), de ahí la existencia o deficiencia de estos, pueden ser consideradas como una «alerta» ante un posible colapso ambiental (Bajsa, 2008).

Por otra parte, aun no existe un total conocimiento a acerca de los microorganismos presentes en el suelo, lo que conlleva a un desconocimiento de la diversidad de los mismos. Ahora bien, una manera de conocer, enumerar y aislar los miembros principales y menores de la comunidad microbiana en suelos, es mediante el conteo de microorganismos viables del suelo, utilizando la técnica de cuenta en placa o la del número más probable (NMP), cuya técnica dependiente de cultivo es reconocida por su selectividad, además de ser un procedimiento sencillo es una técnica de bajos costos. Por lo tanto, empleando medios selectivos y diferenciales se puede determinar el número de microorganismos y al grupo que pertenecen (Ramírez y col., 1992). Adicionalmente, se puede obtener información del tipo de organismo cultivable que sea sensible a un determinado contaminante, o la variación del número de organismo de una determinada característica.

En función a lo antes expuesto, se plantea en el presente trabajo de investigación la evaluación de las comunidades microbianas en suelos impactados por escoria metálica provenientes de la industria metalúrgica, mediante la técnica de conteo en placas. Adicionalmente, se analizaran muestras tomadas en una investigación anterior de aproximadamente 18 meses (Duran, 2011) y las muestras frescas tomadas con el mismo esquema del muestreo anterior.

1.2. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.2.1. OBJETIVO GENERAL

Evaluar comunidades microbianas en suelos impactados por la actividad metalúrgica en Tinaquillo-Edo. Cojedes.

1.2.2. OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Cuantificar la carga bacteriana y fúngica cultivable (ufc/g suelo) presente en las muestras de suelo almacenadas y recientemente tomadas.
- Aislar algunas colonias bacterianas y fúngicas que presenten características morfológicas particulares.
- Caracterizar macro y micro morfológicamente las colonias de microorganismos que sean aisladas.
- Cuantificar la carga de microorganismos cultivables productores de amilasas, proteasas y celulasas (ufc/g suelo) en las muestras bajo estudio.
- Determinar el índice de Shannon como estimación de la diversidad microbiana en los suelos estudiados.
- Realizar un análisis comparativo de las comunidades microbianas de muestras de suelo almacenadas con muestras recientemente tomadas.
- Determinar la variación de las comunidades microbianas del suelo respecto a un suelo control y las muestras impactadas por la actividad metalúrgica.

1.3. JUSTIFICACIÓN

El suelo es un ecosistema que contiene grandes comunidades microbianas cuyos miembros representan muchos tipos fisiológicos. Las características químicas, físicas y biológicas de un suelo particular, así como, la presencia del crecimiento de plantas influirán en el número y actividades de sus diversos componentes microbianos. La comunidad microbiana en suelos es importante por su relación con la fertilidad del mismo y con los ciclos biogeoquímicos, además de su uso para aplicaciones ambientales e industriales. Por lo que existe la necesidad de conocer, enumerar y aislar los miembros principales y menores de la comunidad microbiana en suelos (Germida, 1993).

En este sentido surge la importancia de estudiar las comunidades microbianas en la búsqueda de una solución en relación con la contaminación del suelo, como puede ser la biorremediación, así como los procesos mediados por ellas. Otra aplicación de los estudios de diversidad es la de cuantificar el

impacto antrópico (acción del hombre) sobre un ecosistema. Para ello, se parte de la hipótesis que mientras más intervenido esté el hábitat menor será su diversidad, este último aspecto es de relevancia debido a que la zona de estudio se encuentra rodeada de poblaciones urbanas que pudieran darle una mejor disposición a los suelos a futuro (Bajsa, 2008).

Esta investigación se limitó al análisis de muestras de suelos impactados por la escoria de la empresa metalúrgica, por lo que se planteó el estudio de los microorganismos cultivables en el suelo, para así determinar si la contaminación genera cambios en la estructuras de las comunidades, mediante la caracterización y comparación de microorganismos por el conteo en placas realizando un previo cultivo, siendo el estudio de comunidades por medio del conteo de placas, se han convertido en una de las técnicas usadas con frecuencia para identificar y caracterizar comunidades microbianas en sistemas naturales, para ello se emplearan muestras almacenadas en refrigeración durante 18 meses y las muestras recientemente tomadas.

La zona de estudio se encuentra ubicada en el parcelamiento industrial de la ciudad de Tinaquillo-Edo. Cojedes. Se utilizará el mismo esquema de muestreo empleado por Duran (2011).

CAPITULO II

MARCO TEORICO

2.1. ANTECEDENTES

Para llevar a cabo el presente estudio, partimos de los aportes realizados por los trabajos de investigación que se destacan a continuación, los cuales nos proporcionaran métodos y técnicas de análisis.

Determinación del impacto de la actividad metalúrgica sobre propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Duran 2011)

En este trabajo se planteó el impacto de la industria metalúrgica, como variable de estudio, sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo. Se llevó a cabo la determinación de indicadores físicos, como la humedad, la textura y la capacidad de campo; indicadores químicos como el pH, la conductividad eléctrica, capacidad de intercambio catiónico, y materia orgánica total; y además se incluyeron indicadores biológicos como la respiración del suelo, la actividad ureásica y la biomasa microbiana.

Esta investigación es de gran importancia, ya que de la zona donde fueron tomadas las muestras será nuestro punto de partida, puesto que analizaremos las muestras provenientes de esta zona que han estado almacenadas durante 18 meses, y compararemos los parámetros fisicoquímicos y biológicos de las mismas, con muestras frescas. Además se realizará un esquema similar de muestreo.

Evaluación toxicológica de suelos impactados por la actividad metalúrgica en Tinaquillo-Edo. Cojedes (Sánchez, 2012)

En el presente trabajo de investigación se evaluó el impacto de las industrias en el suelo por medio de bioensayos, específicamente en una industria de fundición de acero, cuya actividad se realizó durante un largo periodo de tiempo y al culminar quedaron los suelos aledaños en desuso y en contacto con la escoria provenientes de la misma, siendo contaminados por la presencia y descomposición de estos residuos.

Se estudió la toxicidad de un suelo impactado por la actividad metalúrgica mediante la determinación de metales disponibles y fitotoxicidad por la comparación de los lixiviados con la germinación de semillas de lechuga (Lactuca sativa) y rabanito (Raphanus sativus)

Diversidad microbiológica de bacterias y hongos en suelos impactados con desechos urbanos provenientes del sector "El Ereigüe", San Joaquín. Carabobo, Venezuela (Montaner 2011)

Evaluó la diversidad microbiana como indicador de la salud del suelo en el antiguo vertedero, por medio de los organismos cultivables en suelos impactados con desechos urbanos. Para ello se cuantificó la carga bacteriana y fúngica presente en las muestras de suelo, también se cuantificó la carga de microrganismos cultivables fijadores de nitrógeno, productores de amilasas, proteasas y celulasas.

Este estudio nos proporciona conocimiento en la técnica de conteo de placas por medio de cultivo, así como la determinación cuantitativa de las bacterias y hongos presentes en los suelos.

Diversidad microbiológica de bacterias y hongos en suelos impactados con petróleo, provenientes de Yaracal, Estado Falcón Venezuela (Oropeza 2010)

En esta investigación se evaluó la influencia de la contaminación del petróleo sobre la diversidad de microorganismos cultivables del suelo. Este estudio se llevó a cabo en muestras de suelo provenientes de pozos petroleros inactivos ubicados en la zona del Mene de San Lorenzo, Yaracal Estado Falcón Venezuela.

Se demostró que bajo una determinada concentración de petróleo, algunas familias microbianas pueden adaptarse a este agente perturbador y que muchas otras no. Las bacterias gran-negativas y los hongos fueron más sensibles a la presencia del contaminante que las bacterias gran-positivas. Es necesario hacer estudios para establecer un posible biotratamiento con microorganismos autóctonos.

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Microorganismos del suelo

El suelo es considerado el ambiente más diverso desde el punto de vista microbiano, debido a su gran heterogeneidad física, química y biológica.

Microbiológicamente hablando, el suelo es reconocido como uno de los sitios que presenta interacciones biológicas más dinámicas en la naturaleza, considerando que las bacterias son el grupo más importante de organismos del suelo, en el cual, en condiciones óptimas, alcanzan números extraordinariamente elevados, en particular, los microorganismos juegan roles vitales en varios ciclos geoquímicos y están implicados en diversos procesos importantes para la calidad del suelo: regulan la descomposición de la materia orgánica, la disponibilidad de nutrientes y contribuyen a la formación y el mantenimiento de la estructura edáfica. También influyen en el ecosistema contribuyendo a la nutrición y salud de las plantas, dado que sirven como depósito y fuente de la mayoría de los nutrientes, son capaces de solubilizar minerales, producir hormonas vegetales, fijar el nitrógeno atmosférico, causar enfermedades o antagonizar microorganismos deletéreos (Kirk y col, 2004).

Las bacterias son el grupo de microorganismos más numeroso, pero debido a su pequeño tamaño (1-10 µm) se estima que representan menos de la mitad de la biomasa total de los suelos agrícolas. Algunas estimaciones indican que se encuentran en poblaciones de 10^4-10^9 células por gramo de suelo.

El funcionamiento de los ecosistemas está gobernado ampliamente por la dinámica de las bacterias del suelo, debido a la diversidad de procesos de los cuales son responsables. Las funciones bacterianas importantes en los ecosistemas se encuentran distribuidas entre diferentes grupos tróficos e incluyen formación de humus mediante descomposición de exudados y restos vegetales y síntesis de nuevos compuestos, liberación de nutrientes para las plantas a partir de formas inorgánicas insolubles, transformación del N_2 atmosférico a N disponible para las plantas, mejoramiento de la agregación, aireación, e infiltración de agua en el suelo, acción antagónica contra insectos, patógenos de plantas y malezas (control biológico), entre otras (Bajsa, 2008).

Las comunidades bacterianas del suelo y los procesos mediados por ellas son críticos para el funcionamiento del ecosistema edáfico y su productividad. Por esto, existe la necesidad de integrar la comunidad bacteriana del suelo a nuestro entendimiento de las interacciones ecosistémicas a diferentes escalas (planta, comunidad vegetal y paisaje) (Kuske y col., 2002).

2.2.2. Diversidad microbiana

La biodiversidad microbiológica es un atributo del suelo que lleva implícito el concepto de su capacidad de prestar servicios, ya que los microorganismos desempeñan un papel clave en el funcionamiento y la fertilidad del suelo. La alta sensibilidad de las comunidades microbianas y su rápida respuesta a los cambios, hacen que el monitoreo de su variación sea una herramienta muy valiosa para proveer señales tempranas de alteración del ambiente edáfico (Schinner y col, 1996; Hunter-Cevera, 1998).

En la actualidad, existe una gran discrepancia entre las evaluaciones de la diversidad microbiana presente en ambientes naturales realizadas con diferentes técnicas. Esto se debe el estado fisiológico de las bacterias, las cuales pueden ser cultivadas bajo ciertas condiciones y desarrollarse en formas no cultivables bajo otras condiciones ambientales. Sólo un pequeño porcentaje de las células observadas en una muestra por visualización directa con microscopio logra cultivarse. Una posibilidad es que las células no cultivables sean microorganismos filogenéticamente similares a los cultivables, pero en un estado fisiológico diferente (viables pero no cultivables). Otra hipótesis es que son filogenéticamente diferentes y no pueden ser cultivadas por los métodos estándar (Rondón y col, 1999; Hunter-Cevera, 1998).

Los progresos en ecología molecular muestran que el tamaño de la diversidad microbiana en la naturaleza es mucho mayor de lo que se pensaba. Considerando que la distribución temporal y espacial de las bacterias son factores que aumentan aun más su diversidad, se pueden desarrollar

comunidades específicas de cada micro sitio, aumentando la diversidad de un suelo dado (Bajsa, 2008).

2.2.3. Métodos para el estudio de la diversidad microbiana

Los microorganismos son extremadamente difíciles de investigar en la naturaleza, debido a su pequeño tamaño y su simplicidad morfológica. Esto conlleva al uso del cultivo para analizarlos, resultando en que algunos microorganismos han sido muy bien estudiados, pero la gran mayoría no lo ha sido (Rondón y col, 1999).

Los intentos actuales para describir y entender la diversidad microbiana tienen como objetivo proveer una imagen más precisa de la misma y de su función en los ambientes naturales. El método tradicional para determinarla ha sido identificar los organismos cultivables de un sistema a nivel de especies y usar diferencias taxonómicas. Para distinguir especies y diversidad, también se han usado unidades de especie basadas en atributos de funcionamiento o procesos, como la utilización de sustratos, además de análisis de componentes estructurales, como el análisis de ácidos grasos (Rondón y col., 1999).

Generalmente el conocimiento de la composición de especies en los diferentes ambientes y muestras, se ha desarrollado en principio por métodos dependientes de cultivo para determinarla, como el enriquecimiento y aislamiento que precisan medios de cultivo y/o condiciones de incubación selectivos. Estos métodos se basan en la suposición de que las técnicas de cultivo permiten recuperar la mayor parte de los microorganismos en una muestra.

Los métodos para medir la diversidad microbiana en el suelo pueden clasificarse en dos grupos: bioquímicos y moleculares. Dentro de las técnicas bioquímicas se incluye el recuento en placas, el perfil fisiológico de la comunidad por utilización de sustratos y el análisis de ésteres metílicos de ácidos grasos (FAME).

Ahora bien, el conteo de placas es un método rápido, económico y pueden proveer información sobre el componente activo heterótrofo de la población. Sus limitaciones incluyen la dificultad para separar las bacterias de las partículas del suelo, la selección de los medios y las condiciones de crecimiento (temperatura, pH, luz) apropiados, la incapacidad para cultivar un gran número de bacterias, la posibilidad de inhibición del crecimiento entre colonias y el potencial esparcimiento de las mismas (Hunter-Cevera, 1998).

Por otro lado, el conteo en placa favorece aquellos microorganismos con altas tasas de crecimiento. Todas estas limitaciones pueden influir en la diversidad aparente de la comunidad microbiana (Kirk y col, 2004). La relación entre los recuentos de viables y los recuentos directos por microscopía refleja la relación entre el número de células activas (en división) y las "células quiescentes", y la mayoría de las bacterias del suelo están en esta última forma. Cualquier desviación de los parámetros ambientales originales durante el cultivo puede alterar la estructura de la comunidad, a través de la imposición de nuevas condiciones selectivas.

2.2.4. Conteo de microorganismos viables por dilución en placa

Este método consiste en la preparación de una serie de diluciones de una muestra de suelo en un diluyente apropiado, esparciendo una alícuota de una dilución sobre la superficie de un medio de cultivo sólido e incubando la placa de agar bajo condiciones ambientales apropiadas. La dilución debe permitir generar colonias separadas, cada colonia puede proceder de una sola célula o de una agrupación (unidad viable), la cual se contará como una especie. Bajo este fundamento, estas placas pueden ser usadas no sólo para el conteo de poblaciones microbianas, sino también para el aislamiento de organismos. Un medio selectivo o no selectivo puede ser usado dependiendo de la naturaleza del microorganismo que se desea contar o aislar (Ramírez *y col*., 1992).

El método de dilución en placa se fundamenta en que cualquier célula viable inoculada en un medio de cultivo se multiplica y produce datos de fácil identificación, como la formación de colonias en placas de agar (Ramírez *y col*., 1992).

Los principios fundamentales de estas técnicas son (1) dispersión de una muestra en un diluyente apropiado (solución fisiológica), (2) distribución de una alícuota a un medio apropiado de crecimiento, (3) incubación bajo condiciones óptimas, y (4) conteo de las colonias desarrolladas (Germida, 1993).

La composición del medio de crecimiento, usado para contar poblaciones microbianas afectará el resultado final, ya que este puede ser selectivo o no. El medio de crecimiento debe contener los nutrientes necesarios para permitir, en condiciones favorables de pH y temperatura, el crecimiento de los microorganismos. Los medios selectivos contienen componentes que permiten o favorecen el crecimiento de un grupo determinado de organismos. Los medios no selectivos pueden ser suficientes para el crecimiento de muchos grupos de organismos como sea posible. Para contar un tipo fisiológico específico de microrganismos generalmente es necesario diseñar un medio de cultivo, el cual, cuando es incubado bajo condiciones apropiadas de atmósfera y temperatura, lo que reduce las interferencias de poblaciones no deseadas (Germida, 1993).

2.2.5 Microorganismos degradadores de sustrato

La población de microorganismos del suelo es altamente diversa en lo que se refiere a variabilidad genética y actividades funcionales (Barea y col., 2005). Las interacciones microbianas son reguladas por señales moleculares específicas. Muchas de estas interacciones son responsables por procesos ambientales determinantes del suelo como son los ciclos biogeoquímicos de nutrientes y el mantenimiento de la sanidad de las plantas y la estructura del suelo. Se reconocen dos tipos de interacciones, las que se basan en material vegetal en descomposición, que afectan la energía y el flujo de nutrientes; y las que se presentan con raíces de plantas vivas (Barea y col., 2005).

El estudio de microorganismos ha incrementado progresivamente, debido a que éstos pueden utilizarse como bio indicadores de la salud y calidad del suelo, de esta manera poder identificar cualquier impacto en la naturaleza.

La actividad enzimática de los suelos ha estado sujeta a distintas interpretaciones. Para muchos autores constituye un índice de la actividad biológica de los suelos y su fertilidad, aunque esta interpretación puede estar sesgada cuando se consideran determinadas actividades de forma aislada. No obstante, cuando se dispone de información de varias actividades enzimáticas conjuntamente, así como de otras variables edáficas, éstas pueden ser un buen reflejo de la capacidad potencial del suelo para degradar la materia orgánica (García, 2004).

Es por ello que la producción de enzimas permite ampliar el conocimiento acerca de dicha acción microbiana en los procesos del suelo. La producción de enzimas extracelulares, tales como; amilasa, proteasa, y celulasa constituyen una propiedad bien conocida en los microorganismos cultivables; por ser utilizadas con carácter taxonómico, para identificación a nivel de especies. (Rodríguez, 2010).

CAPITULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1. Población y Muestra

Para fines de esta investigación la zona en estudio y el protocolo para la recolección de muestras fueron los indicados por Duran (2011). La zona de estudio incluye la zona control libre de contaminación y la zona con mayor contenido de escoria metálica, la cual se dividió en 9 secciones donde se encontraba el área de producción (Figura Nº 1).

Figura Nº 1. Muestreo aleatorio estratificado en la zona delimitada de estudio (Tomada de Duran 2011).

Las muestras se recolectaron en bolsas plásticas (polietileno), adicionalmente, siguiendo el mismo método, se tomaron muestras libres de contaminación cercanas a la zona visiblemente contaminada.

Posteriormente de cada sección se preparó una muestra compuesta, la cual estaba conformada por las muestras simples anteriormente mencionadas.

Para la medición de los parámetros fisicoquímicos las muestras de suelo se secaron al aire por 72 horas, luego se realizó la molienda y se pasaron por un tamiz de 2 mm. Posteriormente se almacenaron a temperatura ambiente en recipientes con tapa. Para el análisis microbiológico las muestras frescas se extendieron sobre un plástico limpio y seco, se les retiro el material grueso

(piedras, hojas, tallos y raíces), luego se pasaron por el tamiz de 2 mm. Una vez tamizadas las muestras se almacenaron en recipientes estériles con tapa a 4ºC hasta su análisis (Frostergard, 1993).

3.2. Caracterización fisicoquímica del suelo

A cada una de las muestras de suelo tomadas se les midieron parámetros fisicoquímicos de acuerdo a la metodología resumida en la Tabla Nº 1, empleada por (Duran 2011), y de esta manera poder comparar las características de las muestras frescas con las muestras recolectadas hace 18 meses en el mismo terreno.

Tabla Nº 1. Análisis para la caracterización fisicoquímica de las muestras (cuadro tomado y modificado de Montaner, 2011).

Parámetro	Método	Principio	Técnica	Referencia
Contenido de Humedad (%)	T= 100ºC en 24h	Diferencia de peso luego de la evaporación	Gravimetría	Jackson, 1970
Retención de humedad (%)	Agregar agua, esperar 6h	Diferencia de peso	Gravimetría	Citado por Jaramillo, 2002
Conductividad	1 : 2 agua	Medición de la movilidad de los iones	Conductimetría	Jackson, 1970
pH	1 : 1 agua y KCl 1M	Mide concentración de protones.	Potenciometría	Olarte, 1979
CIC	NH_4OAc 1M pH 7	Intercambio catiónico, reacciones ácido-base	Extracción y alcalimetría	Schollenberger y Simón, 1945
Materia Orgánica	Calcinar 400 °C, 24h	Pérdidas por calcinación	Gravimetría	Faithfull, 2005

3.3. Conteo de la carga microbiana (hongos y bacterias)

La carga microbiana se determinó utilizando un sembrado por profundidad. Se tomó 1 gramo de muestra de suelo y se diluyó en 9 ml de solución salina (NaCl) 0,8% y luego se hicieron diluciones sucesivas de 1/100, 1/1000 y 1/10000. Se tomó 100 µL de cada una de estas diluciones para el conteo de la carga de bacterias, como de hongos (Prescott y col., 2004).

Para realizar el conteo de la carga bacteriana se suplemento medio Agar LB con fluconazol, marca Genven®, en una proporción 1g/L. Una vez realizada

la siembra y el medio haya gelificado se colocaron las muestras en incubación a 33ºC por 24 horas y se hizo el conteo de las unidades formadoras de colonia para cada dilución. Con respecto de la carga fúngica se utilizó medio Agar LB suplementando con Ciprofloxacina marca Genven®, en una concentración de 1g/L. Las muestras fueron incubadas a 33ºC de 3 a 4 días. Todo esto bajo un ambiente estéril y por duplicado (Srivastava y col., 2007).

3.3.1 Preparación de medio de cultivo agar LB

Se pesaron 35 g de Agar LB, se aforó a 1 litro en una probeta exclusiva para este fin, se esterilizó el medio de cultivo a 121ºC por 30min (Montaner, 2011).

3.3.2 Aislamiento de microorganismos representativos de cada una de las muestras

Una vez realizada la siembra de cada una de las muestras y después de hacer el conteo de las ufc, se procedió a seleccionar colonias, tanto bacterias como hongos, para realizar su aislamiento y luego se realizó la caracterización macro y micromorfológica. El criterio de selección de estas colonias se hizo de acuerdo a la coloración de las colonias, la forma, el margen, el orden de aparición, la repetitividad en las muestras, parecido y separación entre ellas. Cada colonia fue rotulada con el número de la muestra de suelo de la cual provenía, seguida entre paréntesis de un número arábigo correspondiente a la colonia (Oropeza, 2010).

3.4. Determinación cuantitativa de la presencia de amilasas, proteasas y celulasas en organismos bacterianos cultivables

Tras la caracterización morfológica de las colonias se realizó la prueba cualitativa de amilasas, proteasas y celulasas. Esta prueba se le realizó a todas las colonias que puedan crecer sobre las placas con agar LB suplementado con almidón para el caso de las amilasas; con agar sangre para el caso de las proteasas y por último, sobre placas con agar-agar suplementado con celulosa microcristalina para el caso de las celulasas. Para detectar productores de amilasa, la prueba cualitativa consiste en agregar, mediante una pipeta Pasteur

o un gotero, una pequeña cantidad de Lugol (una solución de yodo al 0,1N en metanol al 20%) sobre la colonia a la cual se quiere determinar actividad de amilasas y observar la coloración que toman los alrededores de la colonia, si se observa un halo amarillento se dice que la prueba es positiva, si la coloración es azul intenso la prueba es negativa. Para el caso de las proteasas y celulasas, se dice que la prueba es positiva si se observa un halo transparente alrededor de cada colonia, por simple observación (Srivastava y col., 2007; Montaner, 2011).

3.5. Determinación del Índice de Shannon

Una vez obtenidas las unidades formadoras de colonia (ufc) de cada tipo de microorganismo, se le realizó el correspondiente tratamiento matemático tomando en cuenta las diluciones, para expresarlas en base al suelo seco como log (ufc/g ss). Con el logaritmo de cada ufc/g suelo se calculará el índice de Shannon como estimación de la diversidad de bacterias, hongos, organismos productores de amilasa, proteasa y celulasa. (Oropeza, 2010).

Este índice se calcula de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

Primero se calcula el número total de muestras de acuerdo a cada especie en estudio y se suman, obteniendo un $N_{total.}$

$$Nt_{otal} = N_{bacterias} + N_{hongos}$$

Luego se calcula Pi que es la abundancia relativa o proporción de cada especie en la población, de acuerdo a:

$Pi = \frac{n_i}{N_{total}}$ donde n_i es el valor de cada muestra

Por último se determina el Log10 de Pi y este valor se le multiplica a Pi y se suman todos los valores (donde esto es igual a Q), en este caso para las bacterias y para los hongos.

El índice de Shannon, H, se calcula con el inverso negativo de Q.

$$Q = \Sigma\ Pi * logPi \qquad H = -\frac{1}{Q}$$

Con H se realizará el gráfico de diversidad de acuerdo a cada muestra.

3.6. Coeficiente de Correlación de Pearson

Para realizar la correlación entre las ufc de bacterias, hongos, organismos productores de amilasa, proteasa y celulasa con respecto a las propiedades fisicoquímicas del suelo, se calculó el coeficiente de Pearson mediante el uso del programa STATGRAPHICS Centurion XVI.I.

CAPITULO IV

Resultados y discusión

4.1. Propiedades físicas y químicas de los suelos en estudio

En una comunidad microbiana, la diversidad y la abundancia de microorganismos está controlada por los recursos (alimentos) y las condiciones (temperatura, pH, concentración de oxígeno, etc.) siendo importante conocer los parámetros fisicoquímicos, ya que estos factores se encuentran relacionados e influyen de manera importante en los demás parámetros estudiados (Montoya, 2012). Las propiedades físicas y químicas (Tabla N° 2) varían ampliamente entre las muestras.

Tabla N° 2. Caracterización fisicoquímica de las muestras analizadas

	pH		conductividad (µS)		Retención de humedad (%)	
zona	Duran 2011	Medina 2013	Duran 2011	Medina 2013	Duran 2011	Medina 2013
Control	6,66 ± 0,30 ^{A,a}	7,54 ± 0,30 ^{A,a}	163,60 ± 0,30 ^{A,a}	137,46 ± 0,30 ^{A,a}	39,37 ± 2,29^{a}	30,13 ± 1,73^{a}
1A	9,14 ± 0,30 ^{A}	9,28 ± 0,30^{a}	211,67 ± 0,30 ^{A,a}	154,13 ± 0,30 ^{A,a}	29,53 ± 0,67 ^{A,a}	19,84 ± 0,78^{A}
1B	9,25 ± 0,30 ^{A}	9,45 ± 0,30	294,67 ± 0,30 ^{A,a}	173,66 ± 0,30 ^{A,a}	28,68 ± 0,14 ^{A}	14,85 ± 0,63 ^{A,a}
1C	9,12 ± 0,30 ^{A}	9,67 ± 0,30	189,80 ± 0,30 ^{A,a}	164,33 ± 0,30 ^{A,a}	28,98 ± 1,75 ^{A}	13,77 ± 0,42 ^{A,a}
2A	8,31 ± 0,30 ^{A,a}	9,02 ± 0,30^{A}	90,00 ± 0,30 ^{A,a}	136,66 ± 0,30 ^{A,a}	26,03 ± 1,18 ^{A,a}	20,26 ± 0,71 ^{A,a}
2B	9,13 ± 0,30 ^{A,a}	9,07 ± 0,30	199,37 ± 0,30 ^{A,a}	117,06 ± 0,30 ^{A,a}	19,75 ± 6,15 ^{A,a}	12,74 ± 0,71 ^{A,a}
2C	7,97 ± 0,30 ^{A,a}	8,29 ± 0,30 ^{A,a}	179,57 ± 0,30 ^{A,a}	100,6 ± 0,30 ^{A,a}	34,89 ± 1,42 ^{A,a}	26,88 ± 0,62 ^{A,a}
3A	7 ± 0,30 ^{A}	7,84 ± 0,30^{a}	78,80 ± 0,31 ^{A,a}	64,33 ± 0,30 ^{A,a}	32,52 ± 2,50 ^{A,a}	23,52 ± 1,16 ^{A,a}
3B	7,41 ± 0,30 ^{A}	8,39 ± 0,30 ^{A,a}	183,60 ± 0,32 ^{A,a}	118,3 ± 0,30 ^{A,a}	31,36 ± 3,27 ^{A,a}	27,23 ± 0,23 ^{A,a}
3C	7,53 ± 0,30 ^{A}	8,10 ± 0,30 ^{A}	165,80 ± 0,30 ^{A,a}	138,43 ± 0,30 ^{A,a}	44,95 ± 4,45 ^{A,a}	31,00 ± 1,58 ^{A,a}
	Humedad (%)		**Materia Orgánica (%)**		**CIC (cmol/Kg suelo)**	
zona	Duran 2011	Medina 2013	Duran 2011	Medina 2013	Duran 2011	Medina 2013
Control	11,98 ± 0,36 ^{A}	5,18 ± 1,01 ^{A,a}	0,73 ± 0,06 ^{A,a}	8,423 ± 0,05 ^{A,a}	4,27 ± 0,6 ^{A}	16,24 ± 0,25 ^{A,a}
1A	12,46 ± 0,23 ^{A,a}	2,89 ± 0,83 ^{A}	0,39 ± 0,07 ^{A,a}	1,86 ± 0,01 ^{A}	4,01 ± 0,28 ^{A}	16,56 ± 0,27 ^{A}
1B	8,08 ± 0,05 ^{A,a}	2,49 ± 1,02 ^{A}	0,49 ± 0,03 ^{A,a}	1,88 ± 0,04 ^{A}	4,58 ± 0,34 ^{A}	20,26 ± 0,38 ^{A,a}
1C	13,47 ± 0,27 ^{A,a}	3,10 ± 1,22 ^{A,a}	0,27 ± 0,04 ^{A}	1,91 ± 0,07 ^{A}	3,85 ± 0,49 ^{A,a}	18,61 ± 0,6 ^{A,a}
2A	16,11 ± 2,27 ^{A,a}	4,11 ± 0,76 ^{A,a}	0,29 ± 0,02 ^{A,a}	1,03 ± 0,01 ^{A}	3,76 ± 0,25 ^{A}	21,56 ± 0,50 ^{A,a}
2B	18,49 ± 0,38 ^{A,a}	4,55 ± 0,48 ^{A}	1,53 ± 0,09 ^{A,a}	2,55 ± 0,06 ^{A,a}	6,48 ± 1,23 ^{A,a}	26,70 ± 0,4 ^{A,a}
2C	9,58 ± 0,15 ^{A,a}	5,41 ± 1,43 ^{A,a}	0,90 ± 0,06 ^{A,a}	2,56 ± 0,02 ^{A}	5,11 ± 1,17 ^{A,a}	20,35 ± 0,46 ^{A,a}
3A	14,87 ± 2,74 ^{A,a}	6,15 ± 1,29 ^{A,a}	0,55 ± 0,07 ^{A,a}	6,54 ± 0,06 ^{A,a}	5,43 ± 0,63 ^{A,}	22,68 ± 0,34 ^{A,a}
3B	19,05 ± 3,89 ^{A,a}	6,22 ± 1,44	1,68 ± 0,09 ^{A,a}	7,62 ± 0,05 ^{A,a}	15,37 ± 0,95 ^{A,a}	29,74 ± 0,72 ^{A,a}
3C	26,77 ± 4,15 ^{A,a}	7,35 ± 1,74 ^{A,a}	2,47 ± 0,09 ^{A,a}	8,42 ± 0,02 ^{A,a}	13,04 ± 0,44 ^{A,a}	27,47 ± 0,61 ^{A,a}

*Las letras diferentes indican valores con diferencia significativa. Letras mayúsculas comparación de medias de una misma zona entre las diferentes muestras. Letras minúsculas comparación de las distintas zonas en una misma época de muestreo.(Para observar comparación por pares de medias ver Apéndice K).

En el caso del contenido de humedad, según los resultados obtenidos en las zonas 1A, 1B y 1C (el área más cercana a la industria metalúrgica, que incluyen la escoria, chatarra y sílice), tienen los menores valores: 2,49 %, 2,89 %; 3,10 % respectivamente (Figura N° 2), en comparación con la zona control que tiene un valor de 5,18 %. Esto se debe a que las zonas que se encuentran más cercanas a la industria posee gran cantidad de escoria y arena de sílice; lo que puede afectar la correcta distribución del agua de origen fluvial, atrapada en los múltiples espacios de la escoria o fácilmente evaporada debido a que la sílice afecta la estructura del suelo (Duran, 2011).

La zona 3C presenta una textura arcillosa (Duran, 2011), en la cual los microporos atrapan el agua y es por ello que el suelo tiende a ser mas adhesivo en comparación con las zonas con textura arenosa, cuyas partículas son más grandes y el suelo es más suelto, de esta manera no solo el agua sino también las sales minerales pueden quedar retenidos con mayor facilidad.

Analizando la retención de humedad de las muestras por zona (Figura N° 3), tenemos que los suelos de textura arenosa como en el caso de la mayoría de las muestras, excepto la zona 3C (Duran, 2011), son generalmente permeables al aire y al agua, pero normalmente tienen sus limitaciones. Una de ellas es la baja capacidad de retener agua aprovechable para microorganismos, y la segunda, es que son suelos con baja capacidad de suministro de nutrimientos. Las texturas francas son más equilibradas, como es el caso del control (Duran, 2011), donde se muestra un nivel de retención de humedad intermedio (Casanova, 2005).

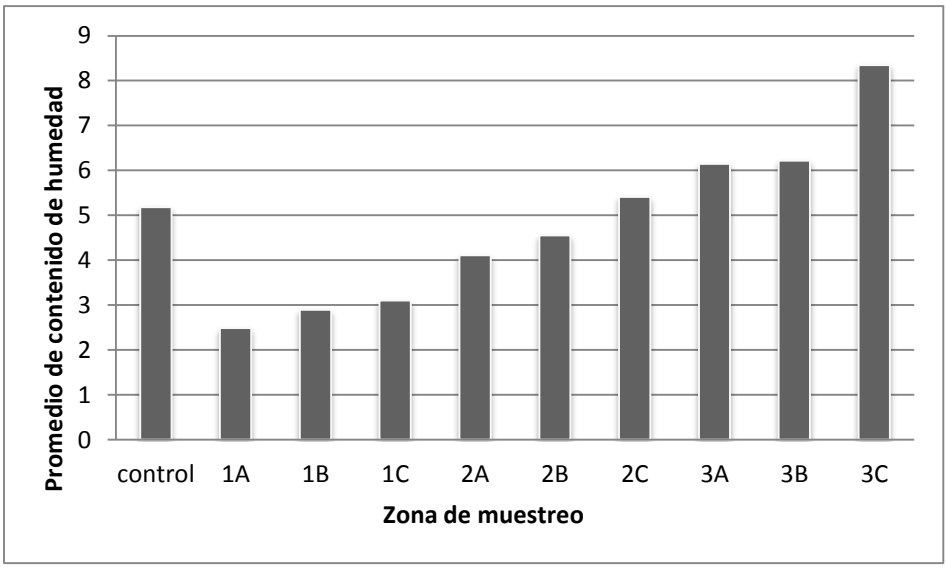

Figura N° 2. Valores de Contenido de humedad en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica.

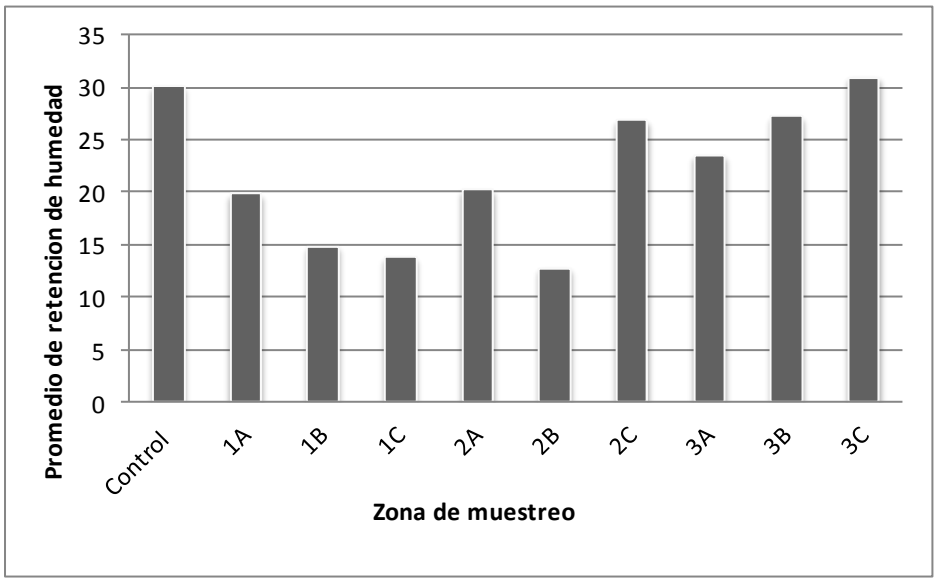

Figura N° 3. Retención humedad en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica.

El pH es considerado de acuerdo con Jackson (1970) como una de las propiedades químicas más importantes del suelo, debido al significativo efecto que ejerce tanto sobre las características físicas, químicas y biológicas de éste. Los resultados obtenidos al medir el pH muestran que la región más cercana a la industria presenta un aumento considerable de pH hasta de dos unidades en comparación con el suelo control (Tabla N° 2).

Como se observa en la Figura N° 4, los valores de pH en su mayoría son mayores de 7.0, considerándose suelos básicos. Según los valores obtenidos de las muestras de Mayo-2011, tenemos que estas tienen un pH ligeramente menos alcalino en comparación con las muestras de Enero-2013, esto es debido a la quema del terreno previo al muestreo, considerando que las cenizas vegetales suelen ser alcalinas, estas actúan como un encalado que aumenta el pH del suelo, ligado a la disponibilidad inmediata de cationes en la ceniza, el cual baja gradualmente con el tiempo debido a la lixiviación de las bases (calcio, magnesio y potasio) por efecto de las lluvias, (Mils, 2007). A su vez los bajos niveles de contenido de humedad en estas muestras afecta el crecimiento microbiano, considerando que los microorganismos requieren un contenido de agua necesaria para su crecimiento y actividad.

La zona control presenta un pH neutro, a diferencia de las secciones cercanas a la industria, las cuales presentan un pH alcalino, en comparación con las secciones 1A, 1B, 1C, 2A y 2B (Tabla N° 2) las cuales presentan altas diferencias con respecto al resto de las secciones y al control, lo cual nos indica la presencia de otro factor además de las sales disueltas que influye en los valores de reacción de suelo.

El aumento del pH en la sección 1A, 1B y 1C, puede deberse al reaccionar el sodio intercambiable con H_2O, dando origen a iones hidroxilo $(OH)^-$, donde, el Al^{+3} y el H^+ son reemplazados por elementos alcalinos y alcalinotérreos, como el K^+, Na^+, Ca^{+2} y Mg^{+2}, de esta manera aumenta la concentración de OH^- y el pH (Fassbender y Bornemisza, 1987).

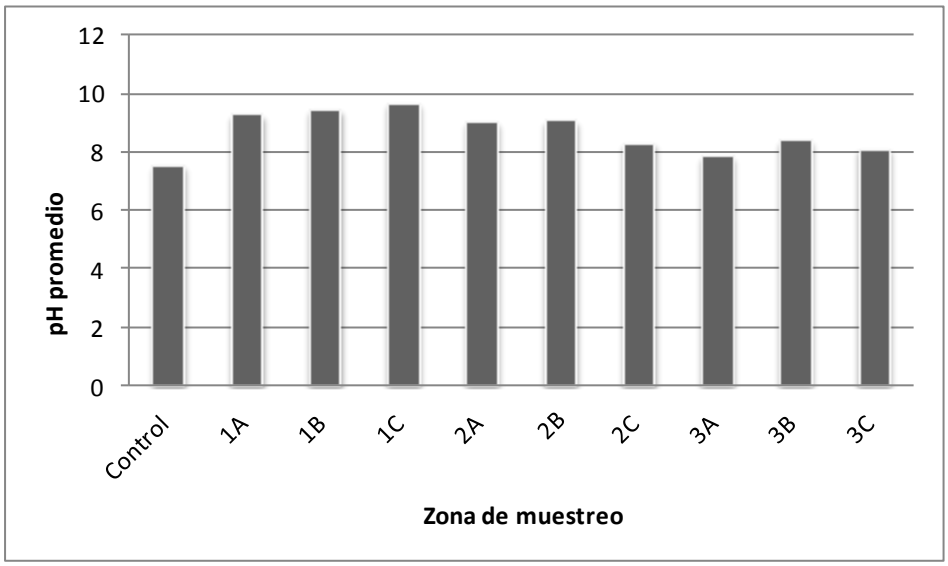

Figura N° 4. Valores de pH obtenidos en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica.

Para comprender mejor la variación del pH se estudia la capacidad de intercambio catiónico, ya que la concentración de iones intercambiables depende del pH. Como lo indican (Parra y col. 2002), los cationes actúan químicamente como bases (generando alcalinidad), y en consecuencia mientras mayor sea el porcentaje de dichos cationes en relación con la CIC, mayor es el pH; lo que coincide con los resultados obtenidos en los análisis de la capacidad de intercambio catiónico, en la Figura N° 5.

La capacidad de intercambio catiónico presenta valores entre (16,24 - 29,74) cmol/ kg suelo. Para un mismo cambiador (minerales) la amplitud del intervalo de valores se debe a los múltiples factores que influyen en la aparición de la carga: tamaño de las partículas, cristalinidad y tiempo de tratamiento (Porta y col, 2003). Analizando los valores de CIC (Tabla N° 2) para las muestras de Duran 2011, estas presentan la misma tendencia para cada zona estudiada.

Los valores de CIC (Tabla N° 2) nos indican que puede variar de acuerdo a la textura del suelo. Un suelo con composición arcillosa permite un mayor intercambio de cationes sin que se vea afectada por altos niveles de concentración de sodio o sales disueltas. Tenemos que en la sección 1, la zona con mayor disposición de los residuos, presenta una menor capacidad de

intercambio catiónico que las otras zonas, lo que demuestra la presencia de sales o iones que afectan directamente la CIC y el pH. Según los resultados obtenidos por Duran (2011), la mayor contribución en la CIC es debido a las bases totales y más específicamente al contenido de sodio que se encuentra en mayor proporción.

Figura N° 5. Valores de capacidad de intercambio catiónico en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica.

Con respecto a la conductividad eléctrica se observa para las zonas más cercanas a la contaminación presentan mayores valores en comparación con la zona control, como en el caso de las zonas 1A hasta la 2B (Figura N° 6). La conductividad se utiliza para analizar el nivel de sales disueltas en el suelo. Considerando los aspectos anteriores, este factor también se ve afectado por la distancia, siendo la sección 1 (la zona más cercana a la empresa) la zona con mayor nivel de conductividad.

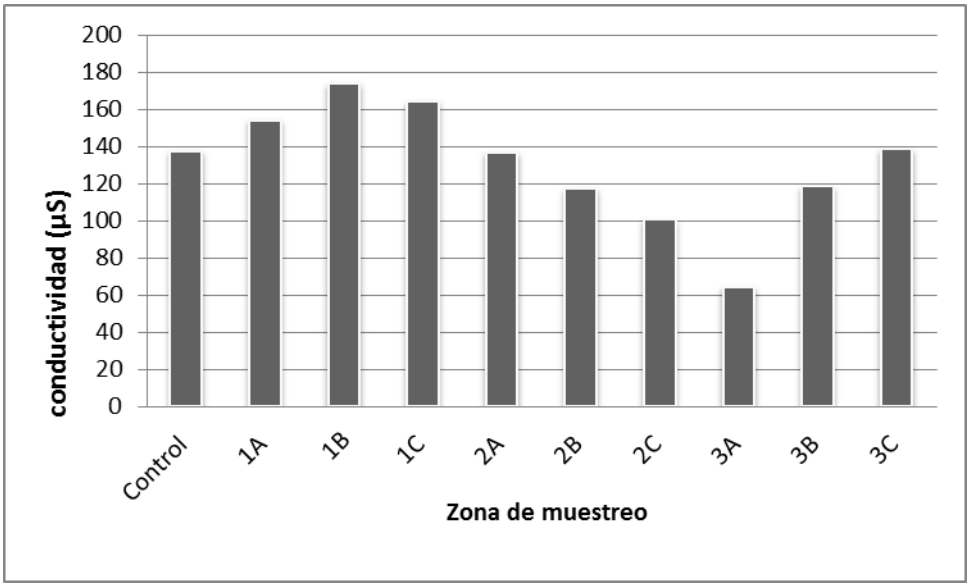

Figura N° 6. Conductividad eléctrica en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica.

Aun cuando los valores de CIC son bajos (valores) según Martínez y Becerra (2004), la CIC decrece cuando ocurre una quema, debido a la degradación de coloides orgánicos e inorgánicos. De tal manera, la CIC total permanecerá baja durante al menos un año después de la quema. En ese aspecto, es necesario señalar que, como consecuencia de la liberación de Ca, Mg, K y Na, la saturación de bases aumentará, e igualmente la conductividad eléctrica.

El porcentaje de la materia orgánica en todas las secciones presenta diferencias significativas en comparación con el suelo control, lo cual indica que el resto del terreno se ve afectado por el impacto de la industria (Tabla N° 2). En el caso de las muestras de Duran 2011, difieren notablemente la tendencia de los resultados ya que la MOT fue evaluada por el método de Walkey y Black modificado (Walinga y col., 1992), el cual se basa en la oxidación de la materia orgánica empleando dicromato en medio ácido, y el procedimiento empleado en esta investigación fue el de calcinación, por lo que no se puede establecer comparación entre resultados.

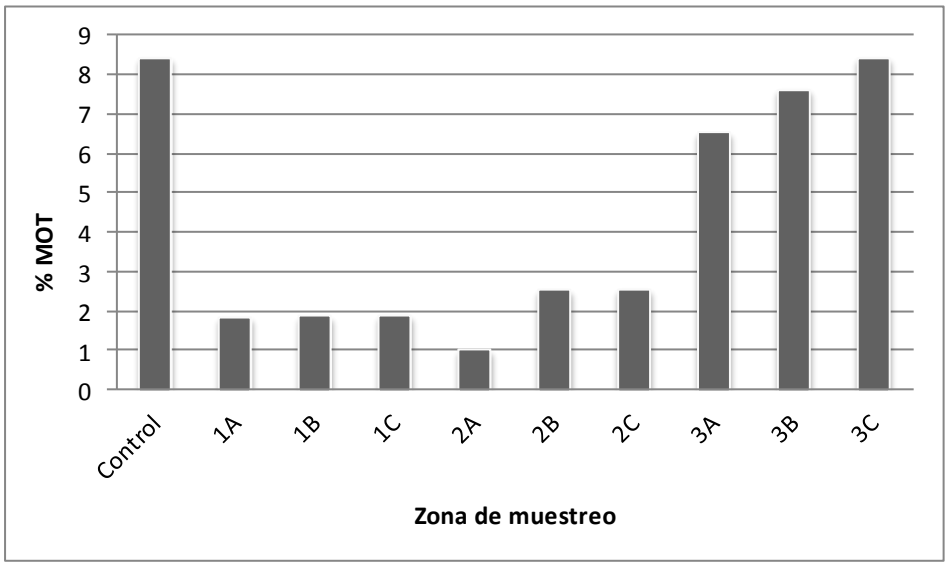

Figura N° 7. Porcentaje de materia orgánica en muestras de suelo tras contaminación metalúrgica.

Los valores obtenidos de la mayoría de las secciones son menores al de control, excepto en la zona 3C que se asemeja a la zona control (Figura N°7). Podemos observar que los valores más bajos se encuentran en la zona afectada por el alto contenido de los desechos de la industria, debido a la presencia de los desechos sólidos y en general, porque los microorganismos están siendo afectados por el agente contaminante. Por otro lado, los suelos con componentes arcillosos (secciones 3B, 3C y Control) permiten una mayor retención de humedad, de esta manera proporcionan un ambiente sustentable para el desarrollo de los microorganismos encargados de la fijación de la materia orgánica.

4.2. Carga bacteriana y fúngica cultivable

Para evaluar la diversidad microbiana se cuantificó la carga bacteriana y fúngica, tomando en cuenta la presencia de escoria metálica como contaminante y el tiempo de almacenamiento de las muestras, considerando que estos factores provocan distintos efectos, dependientes de las variables estudiadas y de la naturaleza de los organismos presentes.

Al realizar el conteo de las ufc para cada caso y haciendo el respectivo tratamiento matemático, se obtuvo la carga bacteriana y fúngica cultivables para cada una de las muestras (Mayo-2011 y Enero-2013) expresada como

Tabla Nº 3 Número de colonias aisladas por muestra analizada.

	Mayo-2011		Enero-2013	
Zona	Hongos	Bacterias	Hongos	Bacterias
Control	1	2	1	3
1A	2	3	3	1
1B	1	1	1	1
1C	1	2	1	1
2A	1	0	1	1
2B	2	1	0	1
2C	1	1	1	0
3A	0	1	0	1
3B	2	2	1	1
3C	1	1	1	0
Total	**12**	**14**	**9**	**10**

log (ufc/g suelo), expuestos en las Figuras Nº 8, 9,10 y 11 respectivamente, observando una carga bacteriana menor en relación a la de los hongos. Se observó menor crecimiento bacteriano y fúngico en la zona 1B, tanto para las muestras de mayo 2011, como las de enero 2013. Se eligieron y aislaron 24 colonias bacterianas y 21 colonias fúngicas con morfología diferente (Tabla N° 3).

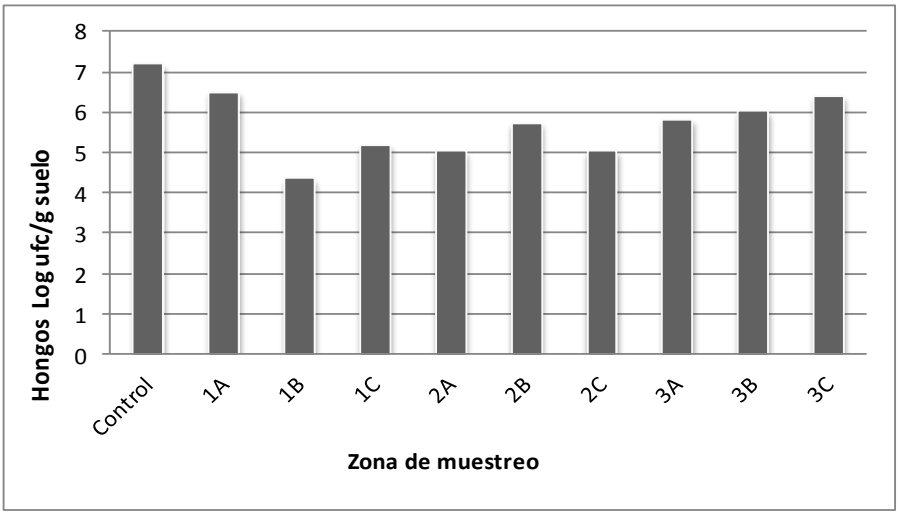

Figura N° 8. Carga fúngica cultivable (UFC/g suelo) presentes en las muestras de Mayo-2011.

En el muestreo de mayo 2011 (muestras almacenadas) el crecimiento de hongos y bacterias cultivables fue mayor, debido a que estas muestras presentaron mayores niveles de humedad, favoreciendo así el crecimiento y

reproducción de los microorganismos. El agua forma parte del protoplasma bacteriano y sirve como medio de transporte a través del cual los compuestos orgánicos y nutrientes son movilizados hasta el interior de las células (Porta y col, 2003).

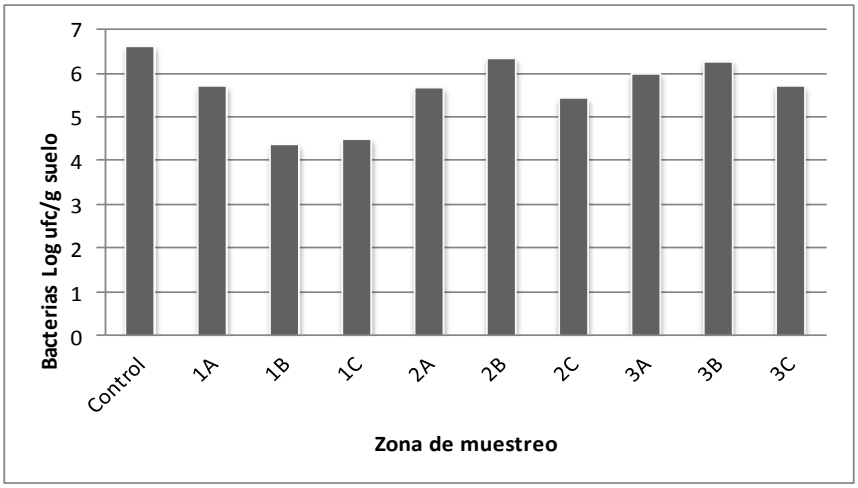

Figura N° 9. Carga bacteriana cultivable (UFC/g suelo) presentes en las muestras de Mayo-2011.

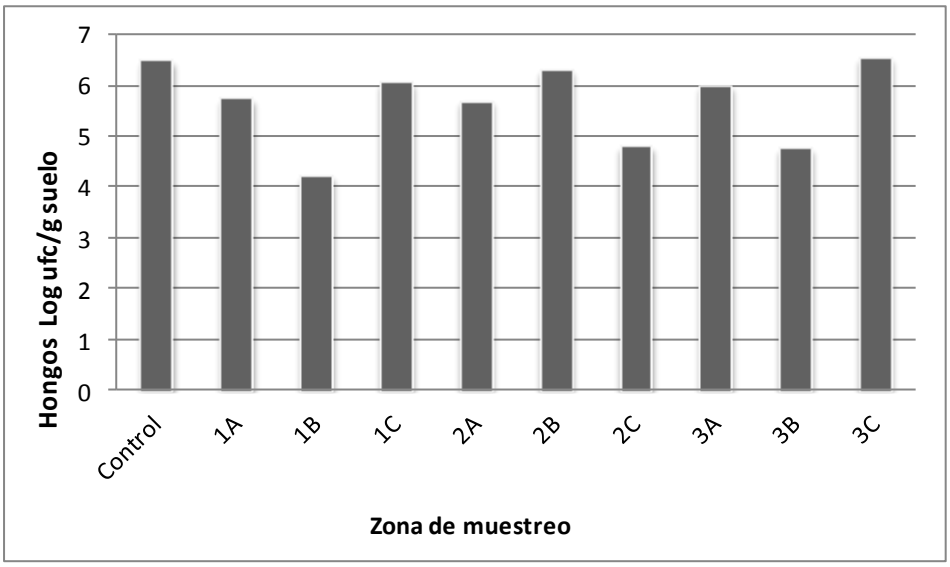

Figura N° 10. Carga fúngica cultivable (UFC/g suelo) presentes en las muestras de Enero-2013.

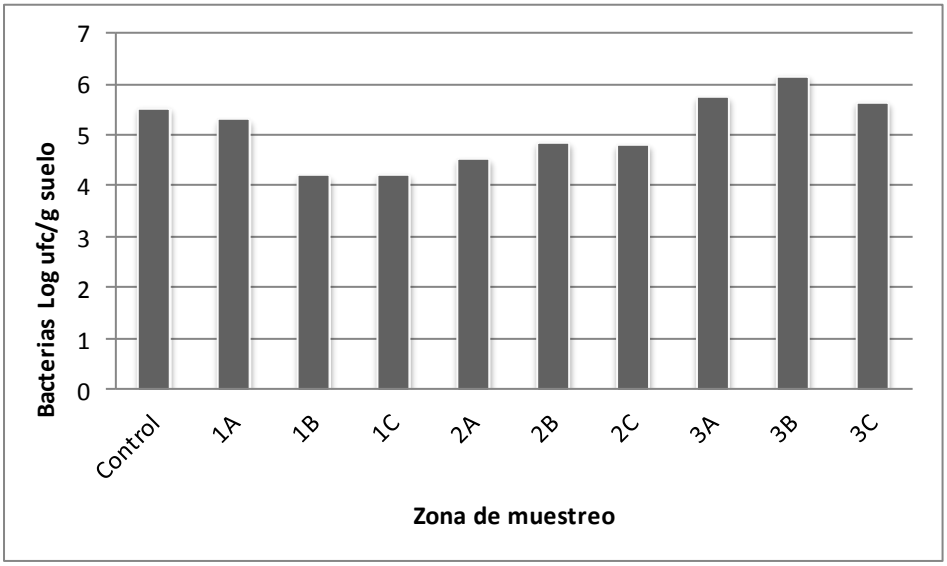

Figura N° 11. Carga bacteriana cultivable (UFC/g suelo) presentes en las muestras de Enero-2013.

Por otro lado, la composición de la comunidad microbiana del suelo es altamente dependiente del valor de pH del mismo. Esta variable puede determinar desde el punto de vista biológico el tipo de organismo que se desarrolle sobre un suelo, debido a su significativa influencia sobre la disponibilidad de nutrientes. Al respecto, Wild (1992) afirma que los hongos y las bacterias constituyen los dos grandes grupos de microorganismos del suelo y el predominio de uno u otro grupo dependen de las condiciones locales, especialmente del pH y del contenido de humedad.

Como podemos observar en la Tabla N° 2 la zona con mayor valor de pH es la 1B para ambos muestreos, por lo que el crecimiento de los organismos cultivables se vieron afectados por no estar en condiciones óptimas, debido a que algunas bacterias son incapaces de crecer a pH neutro o mayor a este.

El pH afecta en gran medida la composición de la membrana lipídica, y su fluidez (Lechevalier, 1977); se piensa que estos cambios en las células ocurren para mantener la integridad y funcionalidad de la misma ante las modificaciones de las condiciones externas. El principal mecanismo por el cual

las bacterias mantienen esta fluidez ideal de la membrana es cambiando la composición de los ácidos grasos.

En ambos muestreos (Mayo-2011 y Enero-2013) el crecimiento de los hongos fue mayor. Varios reportes mencionan que los hongos pueden establecerse y crecer en condiciones de estrés, como: suelos salinos y contaminados con metales pesados, (González y col, 2002). Según mencionó Jasper (1994) los hongos son importantes componentes microbianos que disminuyen las limitaciones y se acondicionan para su crecimiento en suelos contaminados.

Las muestras tomadas en Mayo-2011 fueron almacenadas por 18 meses, por lo que el cambio de temperatura y tiempo de almacenamiento pudieron haber afectado el crecimiento y proporción de los microorganismos originalmente presentes en ellas. Sin embargo, se obtuvo una misma tendencia que en las muestras recientemente tomadas (Enero-2013), los hongos están en mayor proporción que las bacterias Pero el crecimiento de microorganismos en general fue menor en las muestras de Enero-2013 en comparación con las muestras de Mayo-2011.

Referente a la estructura de las comunidades bacterianas, se estudió la micromorfología para así evaluar la diversidad de las mismas. Para ello, se realizó la tinción de Gram, obteniéndose que la mayor parte de las colonias bacterianas aisladas resultaran ser del tipo Gram negativo, siendo de mayor proporción los bacilos Gram negativos (Apéndice H).

En la Tabla N° 4 se encuentra el porcentaje de tinción de Gram para cada muestra, en los Apéndices C, D, E y F se describen las características de cada colonia y en los Apéndices G y H se encuentran las imágenes de algunas bacterias aisladas.

Como se mencionó anteriormente, tras el análisis de la morfología microscópica de las colonias de bacterias aisladas (Tabla N° 4), podemos observar que se obtuvo mayor proporción de bacterias Gram negativas para las

diferentes muestras, esto puede deberse en un principio a que el pH de las muestras sea alcalino (Tabla N° 2). A pesar de las condiciones de alcalinidad de las muestras, las bacterias Gram negativas tienen diversos mecanismos de resistencia a su disposición, que les permiten soportar estas condiciones, ya que pueden generar cambios de la bicapa lipídica, debido a que contienen proteínas integrales de membrana, suficientemente grandes para permitir procesos de difusión pasiva, por tanto actúan como canales que son específicos para diferentes tipos de moléculas, estas proteínas forman canales llenos de agua embebidos en la membrana externa que regulan la entrada de algunos elementos, siendo resistentes a muchos agentes, de esta manera pueden sobrevivir a cambios externos a la membrana, así como soportar cambios climáticos, agentes contaminantes, pH muy alcalinos, entre otros. (Klebba, 2005).

En el caso de los hongos, se aislaron un total de 21 colonias (12 para las muestras de Mayo 2011 y 9 para las muestras de Enero 2013). El apéndice F e I, muestra una vista macroscópica y microscópica, respectivamente, de las colonias fúngicas. Es importante destacar que el tiempo en el cual se recolectaron las muestras fue en época seca (Enero-2013), por lo que la humedad presente en los suelos fue muy poca, lo que reduce sustancialmente la materia orgánica, dificulta el crecimiento y disminuye la posibilidad de sobrevivencia de los hongos (Atlas y Bartha 2002), esto podemos tomarlo como una de las posibles razones de la baja diversidad de colonias fúngicas.

A pesar de que una gran cantidad de especies de hongos pueden ser aisladas de muestras de suelo, el patrón de distribución de los hongos se ve afectado por la calidad de la materia orgánica que entra al suelo (naturaleza y calidad de la vegetación) y las condiciones ambientales de humedad disponible y temperatura (Killham, 1994).

Tabla Nº 4 Morfología microscópica de las colonias de bacterias aisladas en las muestras analizadas.

Mayo-2011				
	Porcentaje de colonias (%)			
Zona	Bacilos Gram Positivos	Bacilos Gram Negativos	Coco Gram Positivos	Cocos Gram Negativos
Control	0	100	0	0
1A	0	0	0	0
1B	66	34	0	0
1C	0	100	0	0
2A	50	0	0	50
2B	28	0	0	72
2C	0	100	0	0
3A	0	100	0	0
3B	10	90	0	0
3C	0	0	0	0
Enero-2013				
	Porcentaje de colonias (%)			
Zona	Bacilos Gram Positivos	Bacilos Gram Negativos	Coco Gram Positivos	Cocos Gram Negativos
Control	10	90	0	0
1A	0	100	0	0
1B	50	50	0	0
1C	100	0	0	0
2A	0	0	0	0
2B	0	0	0	0
2C	0	0	0	0
3A	100	0	0	0
3B	0	0	0	0
3C	0	100	0	0

Por otro lado, el pH afecta el crecimiento de los hongos, y aunque se han registrado datos experimentales que indican un buen crecimiento a pH desde 3.2 hasta 6,5, el óptimo oscila entre 4,5 y 5,5 para la mayoría de los aislamientos probados, sin embargo, existen algunas especies con buen crecimiento a un pH de 6.8 y 8,3 (Hung y Trappe, 1983).

Se observa que hubo mayor crecimiento de microorganismos en las muestras de Mayo-2011, debido a que las muestras fueron recolectadas en

época de lluvia, por lo tanto estas eran más húmedas lo que favoreció el crecimiento y desarrollo de microorganismos. Además, en el caso de las muestras de Enero-2013 estas resultaron ser más alcalinas (Tabla N° 2) debido a la quema del terreno, como se mencionó anteriormente, a su vez la recolección de muestras fue en época de sequía, por lo que el contenido de humedad es menor en comparación de las muestras del 2011, entonces, el crecimiento de los microorganismos se vio afectado.

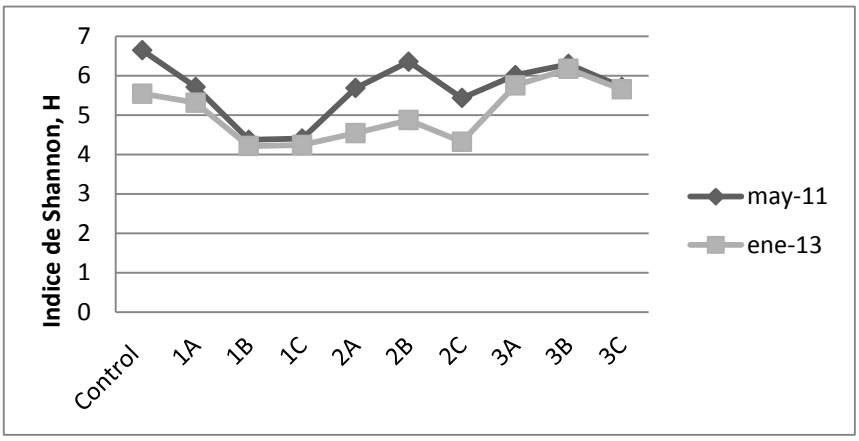

Figura Nº 12. Índice de Diversidad de Shannon para bacterias.

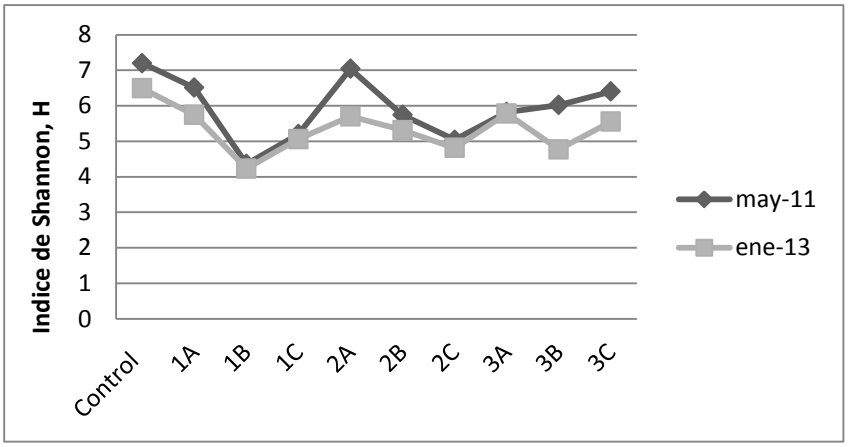

Figura Nº 13. Índice de Diversidad de Shannon para hongos.

Los índices de diversidad se calcularon mediante los procesos no paramétricos sugeridos por Shannon. En la Figura N° 14 para bacterias y la Figura N° 15 para hongos, se muestran los valores obtenidos del índice de Shannon calculados para ambas muestras. Los valores indicaron una menor diversidad en la zona 1B, tanto para hongos como para bacterias. Lo cual

significa que las zonas más alejadas a la industria, las cuales están menos contaminadas hay mayor diversidad, lo cual indica que la presencia de chatarra metálica impactó de manera negativa el crecimiento de las comunidades microbianas.

4.3. Determinación cuantitativa de la presencia de amilasas, proteasas y celulasas en organismos bacterianos cultivables

El análisis cualitativo para la determinación de amilasas, proteasas y celulasas se llevó a cabo mediante medios de cultivos selectivos para cada tipo de microorganismo, tras el conteo de las ufc para cada caso se les realizó el tratamiento matemático correspondiente, calculándose el Índice de Shannon para cada muestra obteniéndose los resultados mostrados en las Figuras N° 14 y 15.

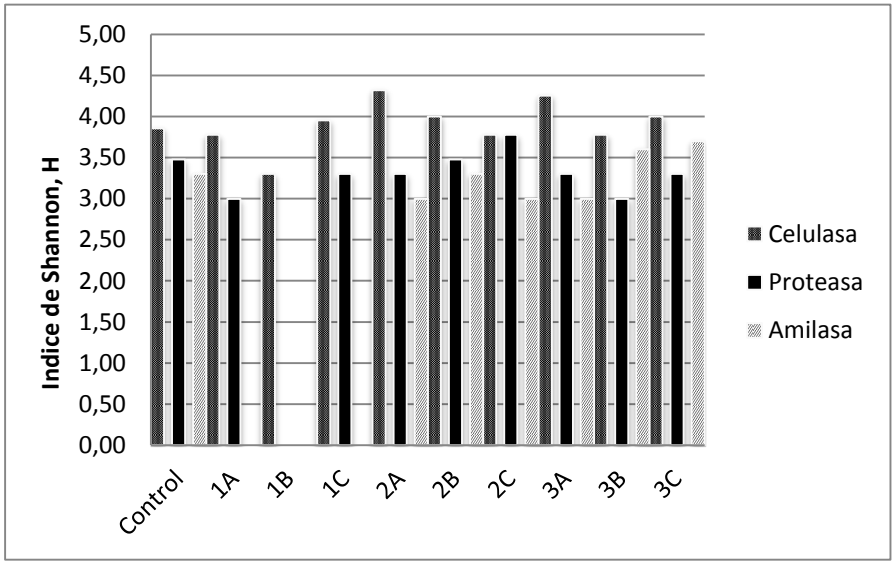

Figura Nº 14. Índice de diversidad de Shannon muestras 2011.

El análisis del índice de diversidad de Shannon mostró diferencias significativas entre las comunidades microbianas estudiadas, siendo significativamente menor para las muestras de suelo Enero-2013 (Figura Nº 15). Resultados similares fueron encontrados por Ushio y col. (2008), quienes encontraron que la composición de la comunidad microbiana mostró diferencias significativas entre estaciones del año y zonas contaminadas, atribuyendo

estas diferencias al efecto que pueden tener las propiedades del suelo tales como pH, C total y N sobre diversidad microbiana.

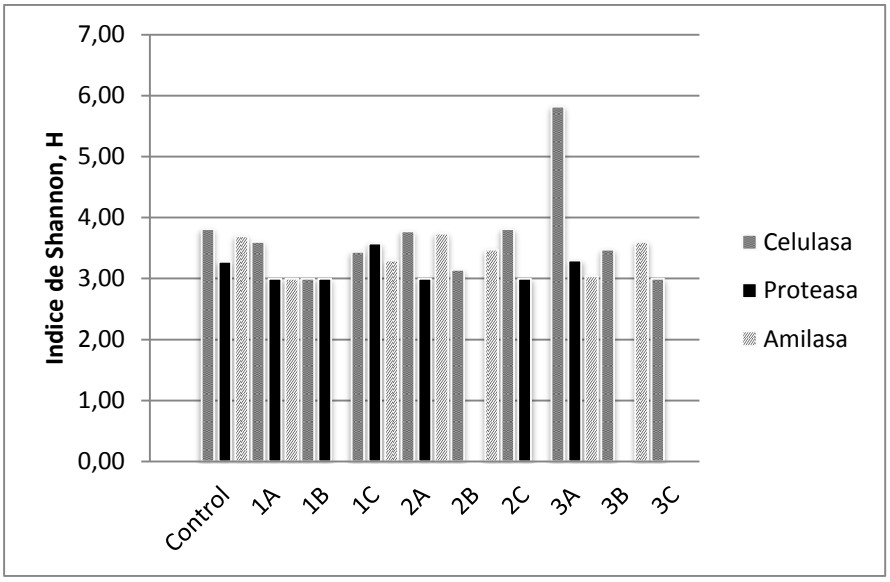

Figura Nº 15. Índice de diversidad de Shannon muestras 2013.

Se ha demostrado que los organismos celulolíticos están correlacionados positivamente con el contenido de humedad (Joshi y col. 1993), es por ello que las muestras del 2011 presentaron mayor crecimiento, debido a que los niveles de humedad son mayores para estas muestras, en este sentido, se observó menor crecimiento celulolítico en las muestras del 2013. Esto se corresponde con los resultados de Rosenbrock y col. (1995) quienes observan una disminución de crecimiento de las ufc en verano, atribuido a la menor humedad ambiental.

En relación a la proteasa se observaron bajos niveles de crecimiento en ambos muestreos, en este mismo sentido, la proteasa del suelo es la responsable de la descomposición progresiva del Nitrógeno contenido en las proteínas, considerando que la mayor parte del nitrógeno que está presente en los suelos se encuentra en forma orgánica, constituyéndose en un gran reservorio de este elemento, siendo en gran parte derivado de la degradación, por las enzimas proteasas, de las proteínas y péptidos (Mrkonjic y col., 2009). Considerando los bajos valores de MOT (Tabla N° 2), obtenidos en general en todas las muestras, es de esperarse la baja diversidad de estos microorganismos, los cuales no tienen suficiente sustrato para ser degradado.

A su vez, podemos observar que una de las zonas más afectadas es la 1B, la cual presenta bajo nivel de MOT.

Figura Nº 16. Determinación cualitativa de presencia de microorganismos degradadores de amilasas.

*La imagen a la izquierda indica respuesta negativa ante la tincion con lugol, en caso de la muestra de la derecha indica presencia de microorganismos amilolíticas

En el caso de microorganismos amilolíticos, estos presentaron poca diversidad para ambos muestreos, viéndose estas afectadas por el bajo aporte vegetal que tiene el terreno. Las secciones 1B y 1C para las muestras Mayo-2011 y las secciones 1B, 2B y 3C en muestras Enero-2013, no presentaron crecimiento de estos microorganismos.

Es importante considerar que debido a cambios climáticos la población microbiana presente en un suelo no es constante, y podría cambiar entre un año y otro. Se tendrá entonces que hacer una evaluación de los cambios normales que ocurren en un lugar, obteniendo así un porcentaje de variación con respecto al año anterior que debe considerarse como normal, de manera de no incurrir en errores de estimación de contaminación en un sitio (Alvear y col., 2007)

Los resultados del estudio permitieron demostrar que con el uso del índice de diversidad no sólo se puede determinar el impacto de la actividad metalúrgica en comunidades microbianas, sino también determinar la diversidad entre las muestras tomadas. Así mismo, el empleo de los índices de diversidad permitió analizar el efecto de las estaciones del año, variables

fisicoquímicas, contaminación y tiempo de almacenamiento en las comunidades de microorganismos estudiadas.

4.4. Coeficiente Lineal de Pearson para las variables seleccionadas

En la Tabla N° 5 se muestran las correlaciones entre los parámetros físicos, químicos y biológicos en relación al crecimiento de las comunidades microbianas evaluadas.

Los datos obtenidos muestran una correlación negativa con el pH y el crecimiento de microorganismos, lo cual evidencia el hecho de que el medio influye en el crecimiento de los mismos, tanto para hongos como bacterias. Referente a la materia orgánica y los microorganismos dependientes de la misma, observamos diferencias significativas, lo cual indica que la baja diversidad de microorganismos afecta la degradación de la misma, por ende los bajos niveles de MOT. Por otro lado, en el caso de las amilasas presentaron correlación significativa ($P<0.05$) con la MOT.

Al igual que el pH, MOT, el contenido de humedad tuvo una correlación negativa con los microorganismos cultivables, ya que en zonas con bajos niveles de humedad afectaron el crecimiento de los mismos. La capacidad de intercambio catiónico esta positivamente correlacionada con el pH, y un aumento en la capacidad de intercambio catiónico conlleva a un aumento significativo ($P< 0,05$) del pH, sin embargo, en el caso de la CIC y la conductividad no influyen en los indicadores biológicos evaluados.

Tabla Nº 5. Coeficiente Lineal de Pearson para las variables seleccionadas.

	pH	CE	Retención de humedad	Humedad	MOT	CIC
CE	0,6972					
	0,0368*					
Retención de humedad	-0,8648	-0,4545				
	0,0026*	0,2191				
Humedad	-0,8412	-0,8614	0,7112			
	0,0045*	0,0028*	0,0317*			
% MOT	-0,8328	-0,4524	0,7278	0,7423		
	0,0053*	0,2215	0,0262*	0,0220*		
CIC	-0,0613	-0,4274	-0,0405	0,5233	0,2214	
	0,8754	0,2512	0,9176	0,1483	0,5669	
Bacterias	-0,1897	-0,5057	-0,2758	-0,2806	0,0692	0,2852
	0,6249	0,1649	0,4726	-0,4646	0,8596	0,4569
Hongos	0,0421	0,1902	0,3590	-0,0414	-0,1629	0,0523
	0,9143	0,6239	0,3427	0,9158	0,6753	0,8936
Amilasas	-0,5264	-0,4009	0,5144	0,7539	0,6907	0,7291
	0,1454	0,2849	0,1566	0,0189*	0,0394*	0,0258*
Celulasa	-0,1712	-0,4941	-0,0247	0,3297	0,0428	0,2126
	0,6596	0,1764	0,9497	0,3862	0,9129	0,5829
Proteasa	-0,4170	-0,4758	0,3618	0,4352	-0,0085	-0,0865
	0,2642	0,1955	0,3387	0,2417	0,9826	0,8249

Se presenta el coeficiente Lineal de Pearson y el P-valor que muestra si existe o no una correlación significativa entre o pares de variables. Los valores en **rojo*** indican correlación significativa ($P<0.05$). CIC: Capacidad de intercambio catiónico. MOT: Materia Orgánica total. CE: Conductividad Eléctrica.

CAPITULO V:

Conclusiones y Recomendaciones

5.1. Conclusiones

- En las muestras de la zona 1B, la cual está más impactada visualmente, se obtuvo menor crecimiento de microorganismos cultivables, se observó la misma tendencia tanto para las muestras Mayo-2011 como para Enero-2013. En general, se encontró mayor crecimiento de microorganismos cultivables en las muestras control que en las impactadas por la escoria metálica, lo que implica un efecto tóxico del contaminante. Además la cuantificación de la carga bacteriana y fúngica cultivable fue mayor en las muestras de Mayo-2011 en comparación con las de Enero-2013.

- En referencia a la caracterización macro y micro morfológicamente de las bacterias se obtuvo que las bacterias Gram-negativas resultaron en mayor proporción que las bacterias Gram-positivas, para las diferentes muestras.

- En cuanto a los organismos degradadores de celulosa, almidón y proteínas, se obtuvo mayor crecimiento de microorganismos celulolíticos en comparación a los amilolíticos y proteolíticos, para ambos muestreos.

- Tras la determinación del índice de Shannon y el estudio macro y micro-morfológico se observó que la diversidad microbiológica disminuyó con la presencia de la escoria metálica. Adicionalmente, los valores del índice de diversidad en las muestras de Enero-2013 fueron menores en relación con las de Mayo-2011.

- Los altos niveles de pH y Na, el bajo contenido de humedad y materia orgánica, asociados a la presencia del contaminante, afectaron el crecimiento de microorganismos cultivables.

- La época climática puede constituir un factor influyente de los cambios en la composición de la diversidad microbiana.

5.2. Recomendaciones

- Realizar el análisis de la diversidad a través de métodos moleculares para tener una mejor perspectiva de los organismos presentes.
- Complementar este estudio con análisis los ácidos grasos metil esterificados (FAME).
- Reutilizar los excesos de arena de sílice en la fabricación de moldes y vidrios.
- Reutilizar la chatarra en nuevos procesos de fundición.
- El análisis de estos resultados se podría continuar incorporando otro tipo de variables físicoquímicas y biológicas que permitan interpretar aún mejor las diferencias entre los tratamientos estudiados.

Bibliografía

- García , A. B. (2004). Diversidad de los Organismos del Suelo y Transformaciones de la Materia Organica. *I Conferencia Internacional ECO-BÍOLOGIA del SUELO y el COMPOST.* Madrid, España.
- Atlas, R. and Bartha, R. 1998. Microbial Ecology Fundamentals and Applications. Fourth Edition. Benjamin Cummings Publishing Company. Menlo Park, Ca. USA. pp:694.
- Baker K. H. and Herson D. S. 1994. Bioremediation. McGraw Hill Inc.
- Bajsa, N. (2008) Efecto del Pastoreo bovino sobre la comunidad bacteriana en un suelo de pradera natrual. Facultad de Ciencias, Universodad de la Reoublica. Montevideo, Uruguay.
- Bucheli T, Fent K (1995) Induction of cytochrome P-450 as a biomarker for environmental contamination. *Crit. Rev. Env. Sci. Technol. 25*: 201-268.
- Carrasco L. (2003) Métodos de estudio de los cambios estructurales en ecosistemas microbianos edáficos y su aplicación ambiental.
- Casanova, Eduardo.2005. Introducción a la ciencia del suelo. Universidad central de Venezuela,Consejo de desarrollo cientifico y humanistico, Caracas, Venezuela.
- Dick, M. E. (2000). Comparasion of Fatty Acid Methyl Ester (FAME) Methods for Characterizing MIcrobial Communities. Soil Science Society of America Journal .
- Duran, D. (2011). *Determinación del impacto de la actividad metalúrgica sobre propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo.* Tinquillo, Edo. Cojedes, Venezuela: Universidad de Carabobo, facultad de Ciencias y Tecnologías, Departamento de Química.
- Figueroa, F. J. (2008). *Efecto de un disturbio natural en el perfil de acidos grasos de comunidades microbianas en el bosque experimental de luquillo.* Gurabo, Puerto Rico.
- Frostergard, A.; Baath, E. and Tunlid, A. (1993) Shifts in the structure of soil microbial communities in limed forests as revealed by phospholipids fatty acid analysis. Soil Biol. Biochem., 25: 723-730
- Frioni, L. (1999). *Procesos microbianos.* Montevide, Uruguay: Editorial de la Fundacion Universidad Nacional de Río Cuarto.

- Gangadwala, Jignesh y col. (2003). “Etherification of Acetic Acid with Butanolin the Presence of Ion-Exchange Resins as Catalysts”. En: *Ind. Eng. Chem. Res*. Vol. 10.No. 42. pp. 2146-2155.3
- Germida J. J. (1993). Culltural methods for soil microorganisms. In: Soilsampling and methods of analysis. M. R. Carter editor. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers, pp. 263-275.
- González Humberto y Fierro Reyna. 2009. ¿Sabías que existen microorganismos que no hemos podido cultivar? http://www.izt.uam.mx/newpage/contactos/anterior/n71ne/organismos.pdf, Visto el 22 de marzo de 2013.
- Hansel, C.M., Fendorf, S., Jardine, P.M., Francis, C.A. 2008. Changes in bacterial and archaeal community structure and functional diversity along a geochemically variable soil profile. Appl. Environ. Microbiol. 74:1620–1633.
- Hunter-Cevera, J.C. 1998. The value of microbial diversity. Current Opinion in Microbiology. 1: 278-285.
- Jackson, M. L. (1970) Análisis químico de suelos. 2ª Ed. Ediciones Omega, S. A. Barcelona, España. (p.p. 66).
- Jaramillo, D. (2002). Introduccion a la ciencia del suelo. Universidad nacional de Colombia. Facultad de Ciencias.
- Jenkinson D. (1992). La Materia Orgánica del Suelo:Evolución. En: Wild A. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas. Madrid. Mundi-Prensa.
- JOSHI SR, GD SHARMA & RR MISHRA (1993) Microbial enzyme activities related to litter decomposition near a highway in a sub-tropical forest of north east India. Soil Biology & Biochemistry 25: 1763-1770.
- Klebba, Phillip E. 2005. The Porinologist. Journal of Bacteriology. Washington DC.
- Kirk, J.L., L.A. Beaudette, M. Hart, P. Moutoglis, J.N. Klironomos, H. Lee y J.T. Trevors. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiological Methods*. **58:**169-188.
- KJØLLER A & S STRUWE (1980) Microfungi of decomposing red alder leaves and their substrate utilization. Soil Biology & Biochemistry 12: 425-431.
- Kuske, C.R., L.O. Ticknor, M.E. Miller, J.M. Dunbar, J.A. Davis, S.M. Barns y J. Belnap. 2002. Comparison of soil bacterial communities in the rhizospheres of three plant species and the interspaces in an arid grassland. *Applied and Environmental Microbiology*. **68:**1854-1863.

- Lechevalier, M.P 1977, Lipids in bacterial taxonomy- a taxonomist´s view. CRC Crit. Rev. Microbiol. 5: 109-210
- Lilly, V.G. y H.L. Barnett, 1951. Physiology of the fungi. Mc Graw-Hill, New York.
- Livingstone D (1993) Biotechnology and pollution monitoring: use of molecular biomarkers in the aquatic environment. *J. Chem. Technol. Biotechnol. 57*: 195-211.
- Malaver, D. N. (Septiembre de 2011). *Aspectos ecológicos de comunidades microbianas heterotroficas.* Caracas: Universidad Central de Venezuela, facultad de Ciencias, Postgrado de Ecología.
- Markowiccz, T. P.-S. (2010). Response of bacteria to Heavy Metals Measured as Changes in FAME Profiles. Polish Journal of Environmental Studies.
- Mazo, P., Galeno L., Restrepo G., Rios L.,(2007) Esterificación de los ácidos grasos libres (FFA) del aceite crudo de palma. Calentamiento convencional vs microondas. Universidad tecnológica de Pereira 461-467.
- Matsushita, M.; Ito, S.; Meguro, S. and Kawachi, S. (2007) Strucure of soil microbial communities in plantations and semi natural broad-leaved forests with different land-use history. Can. J. For. Res. 37: 236-246.
- Michael A. Cavigelli, G. R. (1995). Fatty acid Methyl Ester (FAME) profiles as Measures of soil microbial community structure. (G. R. H.O. Collins, Ed.) *The Significance and regulation of soil biodriversity*, 99-113.
- Montaner, L. (2011). *Diversidad Microbiológica de Bacterias y Hongos en Suelos Impactados con Desechos Urbanos Provenientes del Sector "El Ereigüe".* San Joaquin. Carabobo, Venezuela.
- Universidad de Carabobo, Facultad Experimental de Ciencia y Tecnología.
- Oropeza, J. (2010). *Diversidad Microbiológica de Bacterias y Hongos en Suelos Impactados con Petróleo, provenientes de Yaracal, Estado falcón Venezuela.*
- Porta, D., Bullerjahn, G. S., Durham, K. A., Wilhelm, S. W., Twiss,M. R., McKay, R. M. L., 2003. Physiological characterizationof a Synechococcus sp. (Cyanophyceae) strain PCC 7942 irondependentbioreporter for freshwater environments. J. Phycol.39, 64–73.
- Pla, Idefonso.1977. Origen. Origen, distribución y diagnostico de suelos afectados por sales en Venezuela. Consulta de expertos sobre identificación y recuperacion de suelos afectados por sales. Roma, Italia.

- Prescott, L. M., Harley, J. P., y Klein, D. A. (2004). Microbiología. Quinta Edición. McGraw-Hill Interamericana de España, S. A. U. España. Págs. 28, 62, 64, 67,112, 113, 114, 457, 458, 604, 663, 722.
- Ratledge C, Wilkinson SG. 1988. Microbial lipids. In: An overview of microbial lipids. Ratledge. C y Wilkinson SG. Editores. Vol 1. London, Great Britain: Academic Press. p3-22.
- Ramírez G. R. M., Luna M. B., Mejía Ch. A., Velázquez M. O., TsuzukiR. G., Vierna G. L., üggenburg I. 1992. En: Manual de prácticasde microbiología general. Laboratorio de microbiología experimental. Facultad de Química, UNAM.
- Rivera y col, 2006. METODOS PARA MEDIR LA HUMEDAD DEL SUELO. Visto el 15 de Marzo de 2013 en: www.ece.uprm.edu/~m_goyal/gota2006/cap02humedad.pdf.
- Rondon, M. R., Goodman, R. M., Handelsman, J. 1999. The AsPac J. Mol. Biol. Biotechnlogy 17: 403-409.
- ROSENBROCK P, F BUSCOT & JC MUNCH (1995) Fungal succession and changes in the fungal degradation potential during the initial stage of litter decomposition in a black alder forest (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.). European Journal of Soil Biology 31: 1-11.
- Sanchez, C. (2012). *Evaluacion de suelos impactados por la actividad metaúrgica .* Tinaquillo, Edo. Cojedes.
- Srivastava, R., Roseta, D., and Sharma, A. K. (2007). The evaluation of microbial diversity in a vegetable based cropping system Ander organic framing practices. Appl. Soil Ecol. 36: 116-123.
- Schinner, F. & R. Sonnleitner. 1996. En: Bodenökologie: Microbiologie und Bodenenzymatic. Springer Verlag. 450 pp.
- Schutter M E, Dick RP. 2000. Comparison of fatty acid methyl ester (FAME) methods for characterizing microbial communities. Soil Scientists of America Journal 64:1659-1668.
- Tiessen H. and Moir J. O. 1993. Total and organic carbon. In: Soil sampling and methods of analysis. Martin R. Carter Editor. Canadian Society of Soil Science. Lewis Publishers. pp. 187-199.
- Toro, D. (2004). La biodiversidad Microbiana del Suelo, un mundo por descubrir. Universidad de Caldas.

- Wild A. 1992. La población microbiana del suelo. Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Madrid,España. Ediciones Mundi-Prensa. p. 471-494.
- Zelles, L (1999). Fatty acids patterns of phospholipids and lipopolysaccarides in the characterization of microbial communities in soil: a review. Biol. Fertil. Soils., 29. 111-129.

APÉNDICES

Apéndice A. Macro y Micro morfología Microbiana

Apéndice A.1 Metodología para realizar la morfología de las colonias microbianas

El crecimiento de colonias sobre la superficie de agar permite identificar las colonias por que las especies forman a menudo colonias de una forma y aspecto característico. La Figura Nº A.1 muestra las diferentes características utilizadas para describir la morfología de colonias bacterianas reportadas por Prescott y col. (2004).

Figura A.1. Morfología de colonias bacterianas (Prescott y col., 2004)

Apéndice A.2 Descripción del método de tinción de Gram

La caracterización micromorfologica de las bacterias se realizó mediante la tinción de Gram, de acuerdo al procedimiento descrito por Prescott y col. 2004 (Figura Nº A-2) como sigue:

1. Se incubaron todos los microorganismos a los cuales se les iba a realizar la tinción en 5 mL de medio LB Broth, por 24 horas.

2. Se tomo un asa de cultivo y se coloco en un porta objeto, haciendo movimientos circulares de manera de expandirlo por la mayor cantidad de la superficie del porta objeto. Se dejo evaporar la solución y se fijaron las células flameando los portaobjetos.

3. Se agregó una solución de cristal violeta (Apéndice A.3), sobre las células y se dejó actuar por 45 segundos. Se eliminó el cristal violeta mediante lavado con agua.

4. Se añadió lugol (Apéndice A.3) y se dejó actuar por 45 segundos. Se lavó con agua. Después se agregó la solución de etanol (Apéndice A.3) hasta la desaparición del color azul. Inmediatamente se lavó con agua.

5. Se agregó una solución de safranina (Apéndice A.3) y se dejó actuar por 45 segundos y se lavó con agua.

6. Una vez lista la tinción se observaron las células por el microscopio en aceite de inmersión.

Figura Nº A-2. Resumen de la Tinción de Gram.

Apéndice A.3 Soluciones empleadas para la tinción de Gram

Solución de Cristal violeta: 2 g de cristal violeta en 30 mL de etanol.

Solución de Lugol: 1g de Yodo, 2g de yoduro de potasio en 200 mL de agua destilada.

Solución alcohol: Etanol al 97 %

Solución de Safranina: 0.10 gramos de fucsina básica en 100 mL de agua destilada

Apéndice C. Morfología de las colonias bacterianas

Origen	**Forma**	**Elevación**	**Margen**	**Color**	**Tono**
Control $^{-3}$	circular	plana	irregular	blancuzca	mate
Control $^{-4}$	circular	elevada	irregular	blancuzca	brillante

Control $^{-5}$	circular	plana	irregular	blancuzca	opaca
1A^{-3}	irregular	elevada	irregular	blancuzca	opaca
1A^{-4}	circular	plana	irregular	crema	brillante
1B^{-3}	circular	convexa	irregular	blanca	opaca
1B^{-4}	circular	elevada	entero	blanca	opaca
1B^{-5}	circular	plana	entero	blancuzca	opaca
1C^{-4}	circular	plana	ondulado	crema	opaca
2A^{-3}	irregular	pulvinada	erosionado	blanca	brillante
2A^{-4}	irregular	convexa	ondulado	blanca	brillante
2B^{-3}	filamentosa	elevada	filamentoso	blancuzca	brillante
2B^{-4}	circular	elevada	entero	blanca	opaca
2B^{-5}	circular	plana	ondulado	blancuzca	brillante
2C^{-3}	circular	convexa	ondulado	blanca	brillante
2C^{-4}	irregular	elevada	ondulado	blanca	brillante
3A^{-3}	circular	convexa	entero	blancuzca	brillante
3A^{-4}	irregular	elevada	entero	blancuzca	brillante
3A^{-5}	circular	plana	ondulado	crema	opaca
3B^{-3}	circular	elevada	irregular	crema	brillante
3B^{-4}	puntiforme	elevada	entero	blancuzca	opaca
3B^{-5}	circular	convexa	ondulado	blanca	opaca
3C^{-5}	circular	convexa	lobulado	blancuzca	opaca

Apéndice D. Macro morfología de las colonias fúngicas. Muestras Mayo-2011

Origen	**Forma**	**Elevación**	**Margen**	**Color**
Control $^{-3}$	circular	elevado	irregular	blanco
Control $^{-4}$	circular	elevado	irregular	blanco
Control $^{-5}$	circular	elevado	irregular	blanco
1A^{-3}	irregular	elevada	entero	Verde oscuro
1A^{-4}	circular	plana	irregular	crema
1B^{-3}	circular	convexa	irregular	blanco
1B^{-4}	circular	elevada	entero	blanco
1B^{-5}	circular	Hundida en el centro	ondulado	crema

$1C^{-4}$	puntiforme	plana	ondulado	Borde blanco, centro verde
$2A^{-3}$	irregular	umbonada	erosionado	blanco
$2A^{-4}$	irregular	convexa	ondulado	blanco
$2B^{-3}$	filamentosa	elevada	filamentoso	marfil
$2B^{-4}$	circular	elevada	entero	blanca
$2B^{-5}$	rizoide	plana	ondulado	verde
$2C^{-3}$	circular	convexa	ondulado	blanco
$2C^{-4}$	irregular	elevada	ondulado	blanco
$3A^{-3}$	circular	convexa	entero	Crema claro
$3A^{-4}$	irregular	elevada	entero	blanco
$3A^{-5}$	circular	umbonada	ondulado	crema
$3B^{-3}$	circular	elevada	irregular	crema
$3B^{-4}$	puntiforme	elevada	entero	Borde blanco
$3B^{-5}$	circular	convexa	ondulado	blanco
$3C^{-5}$	circular	convexa	lobulado	marfil

Apéndice D. Macromorfología de las colonias fúngicas. Muestras Enero-2013.

Origen	**Forma**	**Elevación**	**Margen**	**Color**	**Tono**
Control $^{-3}$	circular	plana	irregular	blancuzca	mate
$1A^{-3}$	irregular	elevada	irregular	blancuzca	opaca
$1A^{-4}$	puntiforme	plana	irregular	crema	brillante
$1B^{-4}$	circular	elevada	entero	blanca	opaca
$1B^{-5}$	circular	plana	entero	blancuzca	opaca
$1C^{-4}$	circular	plana	ondulado	crema	opaca
$2A^{-3}$	irregular	elevada	erosionado	blanca	brillante
$2A^{-4}$	irregular	convexa	ondulado	blanca	brillante
$2C^{-3}$	circular	convexa	ondulado	blanca	brillante
$2C^{-4}$	irregular	elevada	ondulado	blanca	brillante
$3A^{-3}$	circular	convexa	entero	blancuzca	brillante
$3A^{-4}$	irregular	elevada	entero	blancuzca	brillante
$3A^{-5}$	circular	plana	ondulado	crema	opaca
$3C^{-5}$	circular	convexa	lobulado	blancuzca	opaca

Apéndice F. Macromorfología de las colonias fúngicas. Muestras Enero-2013.

Origen	Forma	Elevación	Margen	Color
Control $^{-3}$	circular	elevado	irregular	blanco
Control $^{-4}$	circular	elevada	irregular	blanco
Control $^{-5}$	circular	elevado	irregular	blanco
1A^{-3}	irregular	elevada	entero	Verde oscuro
1A^{-4}	circular	plana	irregular	verde
1B^{-3}	circular	convexa	irregular	blanco
1B^{-4}	circular	elevada	entero	Borde blanco, centro verde
1C^{-4}	puntiforme	plana	ondulado	coral
2A^{-3}	irregular	umbonada	erosionado	blanco
2A^{-4}	irregular	convexa	ondulado	Verde oscuro
2B^{-4}	circular	elevada	entero	blanco
2B^{-5}	rizoide	plana	ondulado	verde
2C^{-3}	circular	convexa	ondulado	coral
2C^{-4}	irregular	elevada	ondulado	blanco
3A^{-3}	circular	convexa	entero	verde
3A^{-4}	irregular	elevada	entero	crema
3A^{-5}	circular	umbonada	ondulado	crema
3B^{-3}	circular	elevada	irregular	crema
3B^{-4}	puntiforme	elevada	entero	Borde blanco
3B^{-5}	circular	convexa	ondulado	blanco
3C^{-5}	circular	plano	lobulado	verde

Apéndice G. Índice de Shannon

El índice de Shannon (Srivastava y col. 2007) es un parámetro de diversidad utilizado para relacionar la existencia individual de individuos de acuerdo a una población existente. Este índice se calcula de acuerdo a las siguientes ecuaciones:

Primero se calcula el número total de muestras de acuerdo a cada especie en estudio y se suman, obteniendo un $N_{total.}$

$$Nt_{otal} = N_{bacterias} + N_{hongos}$$

Luego se calcula Pi que es la abundancia relativa o proporción de cada especie en la población, de acuerdo a:

$Pi = \frac{n_i}{N_{total}}$ donde n_i es el valor de cada muestra

Por último se determina el Log10 de Pi y este valor se le multiplica a Pi y se suman todos los valores (donde esto es igual a Q), en este caso para las bacterias y para los hongos.

El índice de Shannon, H, se calcula con el inverso negativo de Q.

$$Q = \Sigma\ Pi * logPi \qquad H = -\frac{1}{Q}$$

Con H se realizará el gráfico de diversidad de acuerdo a cada muestra.

Apéndice H. Microfotografía de algunas bacterias aisladas, tras la tinción de Gram.

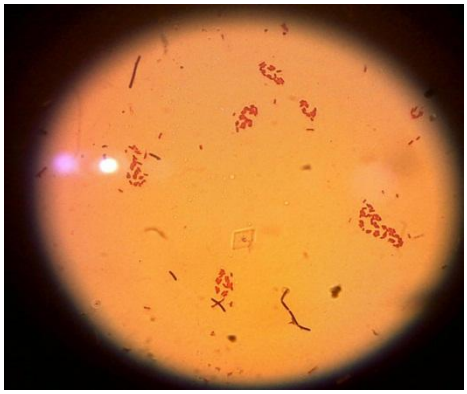

Figura H.1 Muestra $2A^{-3}$, Coco Negativo. Mayo-2011.

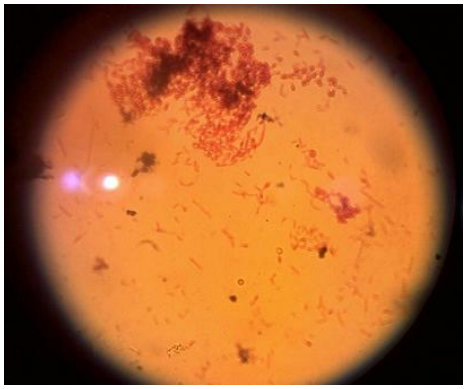

Figura H.2 Muestra $3B^{-5}$, bacilo negativo. Mayo-2011.

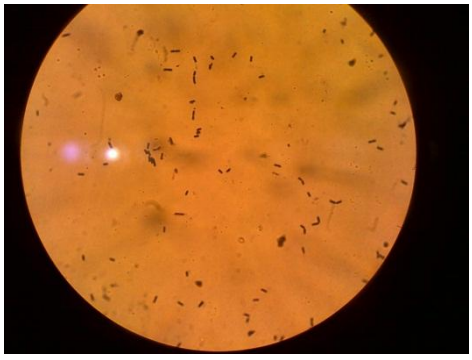

Figura H.3 Muestra $Control^{-5}$, bacilo negativo. Mayo-2011

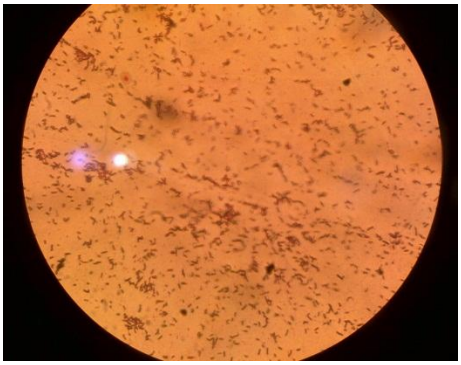

Figura H.4 Muestra $3A^{-3}$, bacilo negativo. Enero-2013.

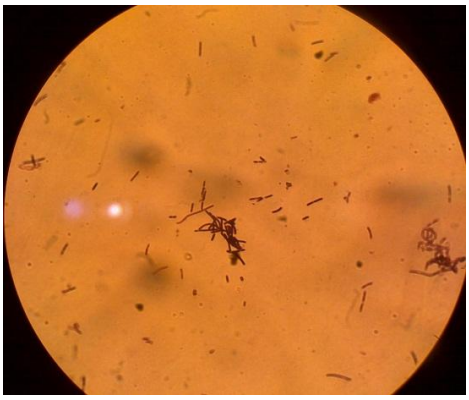

Figura H.5 Muestra 1C-4, bacilo positivo. Enero-2013.

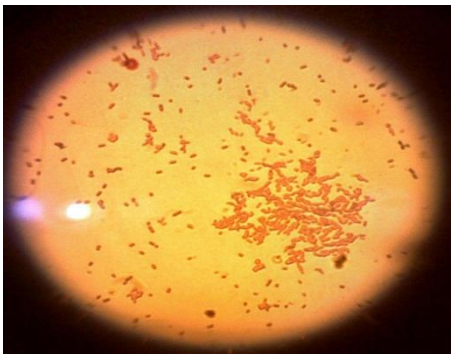

Figura H.6 Muestra 1B-5, bacilo negativo. Enero-2013

Apéndice I. Fotos de algunos hongos aislados.

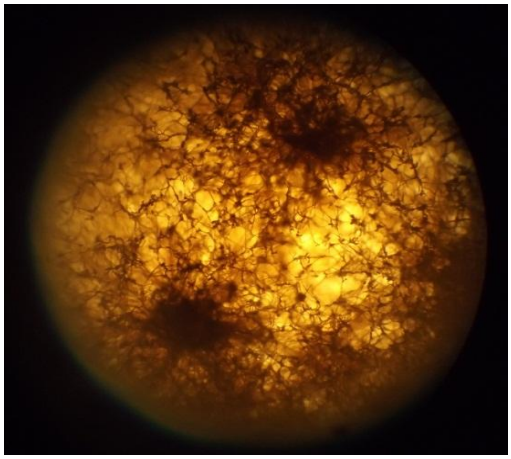

Figura I. 1 Muestra $1C^{-3}$. Mayo-2011.

Figura I.4 Muestra $1B^{-4}$. Mayo-2011.

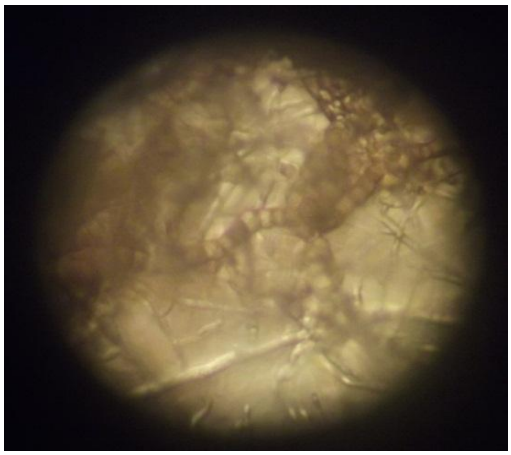

Figura I.2 Muestra 1A-5. Mayo-2011.

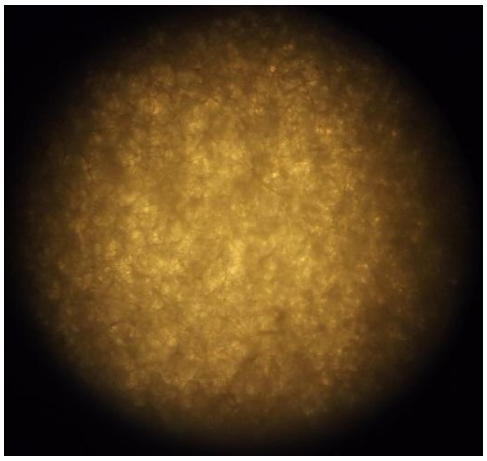

Figura I.5 Muestra $1C^{-3}$. Enero-2013.

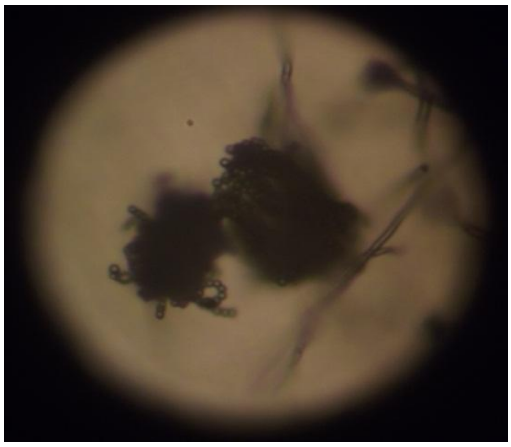

Figura I.3 Muestra 1C-4. Mayo-2011.

Figura I.5 Muestra $1A^{-4}$. Enero-2013

Apéndice J. Coeficiente de Correlación de Pearson

Como expresa el autor (Camacho C. 2007), el coeficiente de correlación de Pearson viene definido por la siguiente expresión:

$$r_{xy} = \frac{\sum Z_x Z_y}{N}$$

Una vez calculado el valor del coeficiente de correlación, interesa determinar si tal valor obtenido muestra que las variables X e Y están relacionadas en realidad o tan solo presentan dicha relación como consecuencia del azar. Desde el supuesto de la Hipótesis nula, se demuestra que la distribución muestral de correlaciones procedentes de una población caracterizada por una correlación igual a cero sigue una ley de Student con N-2 grados de libertad, con media del valor poblacional y desviación tipo:

$$S_r = \sqrt{\frac{1-{r_{xy}}^2}{N-2}}$$

A efectos prácticos, se calcula el número de desviaciones tipo, donde se encuentra el coeficiente obtenido del centro de la distribución, según la fórmula conocida:

$$t = \frac{r_{xy}}{\sqrt{\frac{1-{r_{xy}}^2}{N-2}}}$$

Y se compara el valor obtenido con el existente en las Tablas para un cierto nivel de significación α y N-2 grados de libertad - $t_{(\alpha,N-2)}$ -, que como se sabe, marca el límite de baja probabilidad de ocurrencia, según la Hipótesis nula:

$t > t_{(\alpha,N-2)}$: Se rechaza la Hipótesis nula. La correlación obtenida no procede de una población cuyo valor $\rho_{xy}= 0$. Por tanto las variables están relacionadas.

$t_{(\alpha,N-2)} > t$: Se acepta la Hipótesis nula. La correlación obtenida procede de una población cuyo valor $\rho_{xy}= 0$. Por tanto ambas variables no están relacionadas.

Apéndice K. Análisis estadístico comparativo entre las diferentes muestras.

Análisis estadístico pH

Prueba de múltiple rango

Metodo: 95,0 porciento LSD

	Count	*Mean*	*Homogeneous Groups*
pH control 2011	3	6,66333	X
pH 3A 2011	3	7,0	X
pH 3B 2011	3	7,41	X
pH 3C 2011	3	7,53333	X
pH control 2013	3	7,54	X
pH 3A 2013	3	7,84333	X
pH 2C 2011	3	7,97	XX
pH 3C 2013	3	8,10333	X
pH 2C 2013	3	8,29667	X
pH 2A 2011	3	8,31	X
pH 3B 2013	3	8,39333	X
pH 2A 2013	3	9,02667	X
pH 2B 2013	3	9,07333	X
pH 1C 2011	3	9,12	XX
pH 2B 2011	3	9,12667	XX
pH 1A 2011	3	9,13667	XX
pH 1B 2011	3	9,25	X
pH 1A 2013	3	9,28	XX
pH 1B 2013	3	9,45	X
pH 1C 2013	3	9,67333	X

Contrast	*Sig.*	*Difference*	*+/- Limits*
pH control 2011 - pH control 2013	*	-0,876667	0,175406
pH control 2011 - pH 1A 2011	*	-2,47333	0,175406
pH control 2011 - pH 1A 2013	*	-2,61667	0,175406
pH control 2011 - pH 1B 2011	*	-2,58667	0,175406
pH control 2011 - pH 1B 2013	*	-2,78667	0,175406
pH control 2011 - pH 1C 2011	*	-2,45667	0,175406
pH control 2011 - pH 1C 2013	*	-3,01	0,175406
pH control 2011 - pH 2A 2011	*	-1,64667	0,175406
pH control 2011 - pH 2A 2013	*	-2,36333	0,175406
pH control 2011 - pH 2B 2011	*	-2,46333	0,175406
pH control 2011 - pH 2B 2013	*	-2,41	0,175406
pH control 2011 - pH 2C 2011	*	-1,30667	0,175406
pH control 2011 - pH 2C 2013	*	-1,63333	0,175406
pH control 2011 - pH 3A 2011	*	-0,336667	0,175406
pH control 2011 - pH 3A 2013	*	-1,18	0,175406
pH control 2011 - pH 3B 2011	*	-0,746667	0,175406
pH control 2011 - pH 3B 2013	*	-1,73	0,175406
pH control 2011 - pH 3C 2011	*	-0,87	0,175406
pH control 2011 - pH 3C 2013	*	-1,44	0,175406

pH control 2013 - pH 1A 2011	*	-1,59667	0,175406
pH control 2013 - pH 1A 2013	*	-1,74	0,175406
pH control 2013 - pH 1B 2011	*	-1,71	0,175406
pH control 2013 - pH 1B 2013	*	-1,91	0,175406
pH control 2013 - pH 1C 2011	*	-1,58	0,175406
pH control 2013 - pH 1C 2013	*	-2,13333	0,175406
pH control 2013 - pH 2A 2011	*	-0,77	0,175406
pH control 2013 - pH 2A 2013	*	-1,48667	0,175406
pH control 2013 - pH 2B 2011	*	-1,58667	0,175406
pH control 2013 - pH 2B 2013	*	-1,53333	0,175406
pH control 2013 - pH 2C 2011	*	-0,43	0,175406
pH control 2013 - pH 2C 2013	*	-0,756667	0,175406
pH control 2013 - pH 3A 2011	*	0,54	0,175406
pH control 2013 - pH 3A 2013	*	-0,303333	0,175406
pH control 2013 - pH 3B 2011		0,13	0,175406
pH control 2013 - pH 3B 2013	*	-0,853333	0,175406
pH control 2013 - pH 3C 2011		0,00666667	0,175406
pH control 2013 - pH 3C 2013	*	-0,563333	0,175406
pH 1A 2011 - pH 1A 2013		-0,143333	0,175406
pH 1A 2011 - pH 1B 2011		-0,113333	0,175406
pH 1A 2011 - pH 1B 2013	*	-0,313333	0,175406
pH 1A 2011 - pH 1C 2011		0,0166667	0,175406
pH 1A 2011 - pH 1C 2013	*	-0,536667	0,175406
pH 1A 2011 - pH 2A 2011	*	0,826667	0,175406
pH 1A 2011 - pH 2A 2013		0,11	0,175406
pH 1A 2011 - pH 2B 2011		0,01	0,175406
pH 1A 2011 - pH 2B 2013		0,0633333	0,175406
pH 1A 2011 - pH 2C 2011	*	1,16667	0,175406
pH 1A 2011 - pH 2C 2013	*	0,84	0,175406
pH 1A 2011 - pH 3A 2011	*	2,13667	0,175406
pH 1A 2011 - pH 3A 2013	*	1,29333	0,175406
pH 1A 2011 - pH 3B 2011	*	1,72667	0,175406
pH 1A 2011 - pH 3B 2013	*	0,743333	0,175406
pH 1A 2011 - pH 3C 2011	*	1,60333	0,175406
pH 1A 2011 - pH 3C 2013	*	1,03333	0,175406
pH 1A 2013 - pH 1B 2011		0,03	0,175406
pH 1A 2013 - pH 1B 2013		-0,17	0,175406
pH 1A 2013 - pH 1C 2011		0,16	0,175406
pH 1A 2013 - pH 1C 2013	*	-0,393333	0,175406
pH 1A 2013 - pH 2A 2011	*	0,97	0,175406
pH 1A 2013 - pH 2A 2013	*	0,253333	0,175406
pH 1A 2013 - pH 2B 2011		0,153333	0,175406
pH 1A 2013 - pH 2B 2013	*	0,206667	0,175406
pH 1A 2013 - pH 2C 2011	*	1,31	0,175406
pH 1A 2013 - pH 2C 2013	*	0,983333	0,175406
pH 1A 2013 - pH 3A 2011	*	2,28	0,175406
pH 1A 2013 - pH 3A 2013	*	1,43667	0,175406
pH 1A 2013 - pH 3B 2011	*	1,87	0,175406
pH 1A 2013 - pH 3B 2013	*	0,886667	0,175406
pH 1A 2013 - pH 3C 2011	*	1,74667	0,175406
pH 1A 2013 - pH 3C 2013	*	1,17667	0,175406
pH 1B 2011 - pH 1B 2013	*	-0,2	0,175406
pH 1B 2011 - pH 1C 2011		0,13	0,175406
pH 1B 2011 - pH 1C 2013	*	-0,423333	0,175406

pH 1B 2011 - pH 2A 2011	*	0,94	0,175406
pH 1B 2011 - pH 2A 2013	*	0,223333	0,175406
pH 1B 2011 - pH 2B 2011		0,123333	0,175406
pH 1B 2011 - pH 2B 2013	*	0,176667	0,175406
pH 1B 2011 - pH 2C 2011	*	1,28	0,175406
pH 1B 2011 - pH 2C 2013	*	0,953333	0,175406
pH 1B 2011 - pH 3A 2011	*	2,25	0,175406
pH 1B 2011 - pH 3A 2013	*	1,40667	0,175406
pH 1B 2011 - pH 3B 2011	*	1,84	0,175406
pH 1B 2011 - pH 3B 2013	*	0,856667	0,175406
pH 1B 2011 - pH 3C 2011	*	1,71667	0,175406
pH 1B 2011 - pH 3C 2013	*	1,14667	0,175406
pH 1B 2013 - pH 1C 2011	*	0,33	0,175406
pH 1B 2013 - pH 1C 2013	*	-0,223333	0,175406
pH 1B 2013 - pH 2A 2011	*	1,14	0,175406
pH 1B 2013 - pH 2A 2013	*	0,423333	0,175406
pH 1B 2013 - pH 2B 2011	*	0,323333	0,175406
pH 1B 2013 - pH 2B 2013	*	0,376667	0,175406
pH 1B 2013 - pH 2C 2011	*	1,48	0,175406
pH 1B 2013 - pH 2C 2013	*	1,15333	0,175406
pH 1B 2013 - pH 3A 2011	*	2,45	0,175406
pH 1B 2013 - pH 3A 2013	*	1,60667	0,175406
pH 1B 2013 - pH 3B 2011	*	2,04	0,175406
pH 1B 2013 - pH 3B 2013	*	1,05667	0,175406
pH 1B 2013 - pH 3C 2011	*	1,91667	0,175406
pH 1B 2013 - pH 3C 2013	*	1,34667	0,175406
pH 1C 2011 - pH 1C 2013	*	-0,553333	0,175406
pH 1C 2011 - pH 2A 2011	*	0,81	0,175406
pH 1C 2011 - pH 2A 2013		0,0933333	0,175406
pH 1C 2011 - pH 2B 2011		-0,00666667	0,175406
pH 1C 2011 - pH 2B 2013		0,0466667	0,175406
pH 1C 2011 - pH 2C 2011	*	1,15	0,175406
pH 1C 2011 - pH 2C 2013	*	0,823333	0,175406
pH 1C 2011 - pH 3A 2011	*	2,12	0,175406
pH 1C 2011 - pH 3A 2013	*	1,27667	0,175406
pH 1C 2011 - pH 3B 2011	*	1,71	0,175406
pH 1C 2011 - pH 3B 2013	*	0,726667	0,175406
pH 1C 2011 - pH 3C 2011	*	1,58667	0,175406
pH 1C 2011 - pH 3C 2013	*	1,01667	0,175406
pH 1C 2013 - pH 2A 2011	*	1,36333	0,175406
pH 1C 2013 - pH 2A 2013	*	0,646667	0,175406
pH 1C 2013 - pH 2B 2011	*	0,546667	0,175406
pH 1C 2013 - pH 2B 2013	*	0,6	0,175406
pH 1C 2013 - pH 2C 2011	*	1,70333	0,175406
pH 1C 2013 - pH 2C 2013	*	1,37667	0,175406
pH 1C 2013 - pH 3A 2011	*	2,67333	0,175406
pH 1C 2013 - pH 3A 2013	*	1,83	0,175406
pH 1C 2013 - pH 3B 2011	*	2,26333	0,175406
pH 1C 2013 - pH 3B 2013	*	1,28	0,175406
pH 1C 2013 - pH 3C 2011	*	2,14	0,175406
pH 1C 2013 - pH 3C 2013	*	1,57	0,175406
pH 2A 2011 - pH 2A 2013	*	-0,716667	0,175406
pH 2A 2011 - pH 2B 2011	*	-0,816667	0,175406
pH 2A 2011 - pH 2B 2013	*	-0,763333	0,175406

pH 2A 2011 - pH 2C 2011	*	0,34	0,175406
pH 2A 2011 - pH 2C 2013		0,0133333	0,175406
pH 2A 2011 - pH 3A 2011	*	1,31	0,175406
pH 2A 2011 - pH 3A 2013	*	0,466667	0,175406
pH 2A 2011 - pH 3B 2011	*	0,9	0,175406
pH 2A 2011 - pH 3B 2013		-0,0833333	0,175406
pH 2A 2011 - pH 3C 2011	*	0,776667	0,175406
pH 2A 2011 - pH 3C 2013	*	0,206667	0,175406
pH 2A 2013 - pH 2B 2011		-0,1	0,175406
pH 2A 2013 - pH 2B 2013		-0,0466667	0,175406
pH 2A 2013 - pH 2C 2011	*	1,05667	0,175406
pH 2A 2013 - pH 2C 2013	*	0,73	0,175406
pH 2A 2013 - pH 3A 2011	*	2,02667	0,175406
pH 2A 2013 - pH 3A 2013	*	1,18333	0,175406
pH 2A 2013 - pH 3B 2011	*	1,61667	0,175406
pH 2A 2013 - pH 3B 2013	*	0,633333	0,175406
pH 2A 2013 - pH 3C 2011	*	1,49333	0,175406
pH 2A 2013 - pH 3C 2013	*	0,923333	0,175406
pH 2B 2011 - pH 2B 2013		0,0533333	0,175406
pH 2B 2011 - pH 2C 2011	*	1,15667	0,175406
pH 2B 2011 - pH 2C 2013	*	0,83	0,175406
pH 2B 2011 - pH 3A 2011	*	2,12667	0,175406
pH 2B 2011 - pH 3A 2013	*	1,28333	0,175406
pH 2B 2011 - pH 3B 2011	*	1,71667	0,175406
pH 2B 2011 - pH 3B 2013	*	0,733333	0,175406
pH 2B 2011 - pH 3C 2011	*	1,59333	0,175406
pH 2B 2011 - pH 3C 2013	*	1,02333	0,175406
pH 2B 2013 - pH 2C 2011	*	1,10333	0,175406
pH 2B 2013 - pH 2C 2013	*	0,776667	0,175406
pH 2B 2013 - pH 3A 2011	*	2,07333	0,175406
pH 2B 2013 - pH 3A 2013	*	1,23	0,175406
pH 2B 2013 - pH 3B 2011	*	1,66333	0,175406
pH 2B 2013 - pH 3B 2013	*	0,68	0,175406
pH 2B 2013 - pH 3C 2011	*	1,54	0,175406
pH 2B 2013 - pH 3C 2013	*	0,97	0,175406
pH 2C 2011 - pH 2C 2013	*	-0,326667	0,175406
pH 2C 2011 - pH 3A 2011	*	0,97	0,175406
pH 2C 2011 - pH 3A 2013		0,126667	0,175406
pH 2C 2011 - pH 3B 2011	*	0,56	0,175406
pH 2C 2011 - pH 3B 2013	*	-0,423333	0,175406
pH 2C 2011 - pH 3C 2011	*	0,436667	0,175406
pH 2C 2011 - pH 3C 2013		-0,133333	0,175406
pH 2C 2013 - pH 3A 2011	*	1,29667	0,175406
pH 2C 2013 - pH 3A 2013	*	0,453333	0,175406
pH 2C 2013 - pH 3B 2011	*	0,886667	0,175406
pH 2C 2013 - pH 3B 2013		-0,0966667	0,175406
pH 2C 2013 - pH 3C 2011	*	0,763333	0,175406
pH 2C 2013 - pH 3C 2013	*	0,193333	0,175406
pH 3A 2011 - pH 3A 2013	*	-0,843333	0,175406
pH 3A 2011 - pH 3B 2011	*	-0,41	0,175406
pH 3A 2011 - pH 3B 2013	*	-1,39333	0,175406
pH 3A 2011 - pH 3C 2011	*	-0,533333	0,175406
pH 3A 2011 - pH 3C 2013	*	-1,10333	0,175406
pH 3A 2013 - pH 3B 2011	*	0,433333	0,175406

pH 3A 2013 - pH 3B 2013	*	-0,55	0,175406
pH 3A 2013 - pH 3C 2011	*	0,31	0,175406
pH 3A 2013 - pH 3C 2013	*	-0,26	0,175406
pH 3B 2011 - pH 3B 2013	*	-0,983333	0,175406
pH 3B 2011 - pH 3C 2011		-0,123333	0,175406
pH 3B 2011 - pH 3C 2013	*	-0,693333	0,175406
pH 3B 2013 - pH 3C 2011	*	0,86	0,175406
pH 3B 2013 - pH 3C 2013	*	0,29	0,175406
pH 3C 2011 - pH 3C 2013	*	-0,57	0,175406

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 164 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95,0% confidence level. At the top of the page, 10 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Conductividad eléctrica

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent LSD

	Count	*Mean*	*Homogeneous Groups*
µS 3C 2013	3	40,6667	X
µS 3B 2013	3	55,6667	XX
µS 3A 2013	3	64,3333	XX
µS 3A 2011	3	78,8	XX
µS control 2013	3	85,0	X
µS 2C 2013	3	89,3333	X
µS 2A 2011	3	89,9333	XX
µS 2B 2013	3	109,667	X
µS 2A 2013	3	136,667	X
µS 1A 2013	3	141,667	X
µS control 2011	3	163,6	X
µS 1C 2013	3	164,333	XX
µS 3C 2011	3	165,867	XX
µS 1B 2013	3	173,667	XXX
µS 2C 2011	3	179,567	XXXX
µS 3B 2011	3	183,6	XXX
µS 1C 2011	3	189,8	XX
µS 2B 2011	3	199,367	XX
µS 1A 2011	3	211,667	X
µS 1B 2011	3	294,667	X

Contrast	*Sig.*	*Difference*	*+/- Limits*
µS control 2011 - µS control 2013	*	78,6	19,9245
µS control 2011 - µS 1A 2011	*	-48,0667	19,9245
µS control 2011 - µS 1A 2013	*	21,9333	19,9245

µS control 2011 - µS 1B 2011	*	-131,067	19,9245
µS control 2011 - µS 1B 2013		-10,0667	19,9245
µS control 2011 - µS 1C 2011	*	-26,2	19,9245
µS control 2011 - µS 1C 2013		-0,733333	19,9245
µS control 2011 - µS 2A 2011	*	73,6667	19,9245
µS control 2011 - µS 2A 2013	*	26,9333	19,9245
µS control 2011 - µS 2B 2011	*	-35,7667	19,9245
µS control 2011 - µS 2B 2013	*	53,9333	19,9245
µS control 2011 - µS 2C 2011		-15,9667	19,9245
µS control 2011 - µS 2C 2013	*	74,2667	19,9245
µS control 2011 - µS 3A 2011	*	84,8	19,9245
µS control 2011 - µS 3A 2013	*	99,2667	19,9245
µS control 2011 - µS 3B 2011	*	-20,0	19,9245
µS control 2011 - µS 3B 2013	*	107,933	19,9245
µS control 2011 - µS 3C 2011		-2,26667	19,9245
µS control 2011 - µS 3C 2013	*	122,933	19,9245
µS control 2013 - µS 1A 2011	*	-126,667	19,9245
µS control 2013 - µS 1A 2013	*	-56,6667	19,9245
µS control 2013 - µS 1B 2011	*	-209,667	19,9245
µS control 2013 - µS 1B 2013	*	-88,6667	19,9245
µS control 2013 - µS 1C 2011	*	-104,8	19,9245
µS control 2013 - µS 1C 2013	*	-79,3333	19,9245
µS control 2013 - µS 2A 2011		-4,93333	19,9245
µS control 2013 - µS 2A 2013	*	-51,6667	19,9245
µS control 2013 - µS 2B 2011	*	-114,367	19,9245
µS control 2013 - µS 2B 2013	*	-24,6667	19,9245
µS control 2013 - µS 2C 2011	*	-94,5667	19,9245
µS control 2013 - µS 2C 2013		-4,33333	19,9245
µS control 2013 - µS 3A 2011		6,2	19,9245
µS control 2013 - µS 3A 2013	*	20,6667	19,9245
µS control 2013 - µS 3B 2011	*	-98,6	19,9245
µS control 2013 - µS 3B 2013	*	29,3333	19,9245
µS control 2013 - µS 3C 2011	*	-80,8667	19,9245
µS control 2013 - µS 3C 2013	*	44,3333	19,9245
µS 1A 2011 - µS 1A 2013	*	70,0	19,9245
µS 1A 2011 - µS 1B 2011	*	-83,0	19,9245
µS 1A 2011 - µS 1B 2013	*	38,0	19,9245
µS 1A 2011 - µS 1C 2011	*	21,8667	19,9245
µS 1A 2011 - µS 1C 2013	*	47,3333	19,9245
µS 1A 2011 - µS 2A 2011	*	121,733	19,9245
µS 1A 2011 - µS 2A 2013	*	75,0	19,9245
µS 1A 2011 - µS 2B 2011		12,3	19,9245
µS 1A 2011 - µS 2B 2013	*	102,0	19,9245
µS 1A 2011 - µS 2C 2011	*	32,1	19,9245
µS 1A 2011 - µS 2C 2013	*	122,333	19,9245
µS 1A 2011 - µS 3A 2011	*	132,867	19,9245
µS 1A 2011 - µS 3A 2013	*	147,333	19,9245
µS 1A 2011 - µS 3B 2011	*	28,0667	19,9245
µS 1A 2011 - µS 3B 2013	*	156,0	19,9245
µS 1A 2011 - µS 3C 2011	*	45,8	19,9245
µS 1A 2011 - µS 3C 2013	*	171,0	19,9245
µS 1A 2013 - µS 1B 2011	*	-153,0	19,9245
µS 1A 2013 - µS 1B 2013	*	-32,0	19,9245
µS 1A 2013 - µS 1C 2011	*	-48,1333	19,9245

µS 1A 2013 - µS 1C 2013	*	-22,6667	19,9245
µS 1A 2013 - µS 2A 2011	*	51,7333	19,9245
µS 1A 2013 - µS 2A 2013		5,0	19,9245
µS 1A 2013 - µS 2B 2011	*	-57,7	19,9245
µS 1A 2013 - µS 2B 2013	*	32,0	19,9245
µS 1A 2013 - µS 2C 2011	*	-37,9	19,9245
µS 1A 2013 - µS 2C 2013	*	52,3333	19,9245
µS 1A 2013 - µS 3A 2011	*	62,8667	19,9245
µS 1A 2013 - µS 3A 2013	*	77,3333	19,9245
µS 1A 2013 - µS 3B 2011	*	-41,9333	19,9245
µS 1A 2013 - µS 3B 2013	*	86,0	19,9245
µS 1A 2013 - µS 3C 2011	*	-24,2	19,9245
µS 1A 2013 - µS 3C 2013	*	101,0	19,9245
µS 1B 2011 - µS 1B 2013	*	121,0	19,9245
µS 1B 2011 - µS 1C 2011	*	104,867	19,9245
µS 1B 2011 - µS 1C 2013	*	130,333	19,9245
µS 1B 2011 - µS 2A 2011	*	204,733	19,9245
µS 1B 2011 - µS 2A 2013	*	158,0	19,9245
µS 1B 2011 - µS 2B 2011	*	95,3	19,9245
µS 1B 2011 - µS 2B 2013	*	185,0	19,9245
µS 1B 2011 - µS 2C 2011	*	115,1	19,9245
µS 1B 2011 - µS 2C 2013	*	205,333	19,9245
µS 1B 2011 - µS 3A 2011	*	215,867	19,9245
µS 1B 2011 - µS 3A 2013	*	230,333	19,9245
µS 1B 2011 - µS 3B 2011	*	111,067	19,9245
µS 1B 2011 - µS 3B 2013	*	239,0	19,9245
µS 1B 2011 - µS 3C 2011	*	128,8	19,9245
µS 1B 2011 - µS 3C 2013	*	254,0	19,9245
µS 1B 2013 - µS 1C 2011		-16,1333	19,9245
µS 1B 2013 - µS 1C 2013		9,33333	19,9245
µS 1B 2013 - µS 2A 2011	*	83,7333	19,9245
µS 1B 2013 - µS 2A 2013	*	37,0	19,9245
µS 1B 2013 - µS 2B 2011	*	-25,7	19,9245
µS 1B 2013 - µS 2B 2013	*	64,0	19,9245
µS 1B 2013 - µS 2C 2011		-5,9	19,9245
µS 1B 2013 - µS 2C 2013	*	84,3333	19,9245
µS 1B 2013 - µS 3A 2011	*	94,8667	19,9245
µS 1B 2013 - µS 3A 2013	*	109,333	19,9245
µS 1B 2013 - µS 3B 2011		-9,93333	19,9245
µS 1B 2013 - µS 3B 2013	*	118,0	19,9245
µS 1B 2013 - µS 3C 2011		7,8	19,9245
µS 1B 2013 - µS 3C 2013	*	133,0	19,9245
µS 1C 2011 - µS 1C 2013	*	25,4667	19,9245
µS 1C 2011 - µS 2A 2011	*	99,8667	19,9245
µS 1C 2011 - µS 2A 2013	*	53,1333	19,9245
µS 1C 2011 - µS 2B 2011		-9,56667	19,9245
µS 1C 2011 - µS 2B 2013	*	80,1333	19,9245
µS 1C 2011 - µS 2C 2011		10,2333	19,9245
µS 1C 2011 - µS 2C 2013	*	100,467	19,9245
µS 1C 2011 - µS 3A 2011	*	111,0	19,9245
µS 1C 2011 - µS 3A 2013	*	125,467	19,9245
µS 1C 2011 - µS 3B 2011		6,2	19,9245
µS 1C 2011 - µS 3B 2013	*	134,133	19,9245
µS 1C 2011 - µS 3C 2011	*	23,9333	19,9245

µS 1C 2011 - µS 3C 2013	*	149,133	19,9245
µS 1C 2013 - µS 2A 2011	*	74,4	19,9245
µS 1C 2013 - µS 2A 2013	*	27,6667	19,9245
µS 1C 2013 - µS 2B 2011	*	-35,0333	19,9245
µS 1C 2013 - µS 2B 2013	*	54,6667	19,9245
µS 1C 2013 - µS 2C 2011		-15,2333	19,9245
µS 1C 2013 - µS 2C 2013	*	75,0	19,9245
µS 1C 2013 - µS 3A 2011	*	85,5333	19,9245
µS 1C 2013 - µS 3A 2013	*	100,0	19,9245
µS 1C 2013 - µS 3B 2011		-19,2667	19,9245
µS 1C 2013 - µS 3B 2013	*	108,667	19,9245
µS 1C 2013 - µS 3C 2011		-1,53333	19,9245
µS 1C 2013 - µS 3C 2013	*	123,667	19,9245
µS 2A 2011 - µS 2A 2013	*	-46,7333	19,9245
µS 2A 2011 - µS 2B 2011	*	-109,433	19,9245
µS 2A 2011 - µS 2B 2013		-19,7333	19,9245
µS 2A 2011 - µS 2C 2011	*	-89,6333	19,9245
µS 2A 2011 - µS 2C 2013		0,6	19,9245
µS 2A 2011 - µS 3A 2011		11,1333	19,9245
µS 2A 2011 - µS 3A 2013	*	25,6	19,9245
µS 2A 2011 - µS 3B 2011	*	-93,6667	19,9245
µS 2A 2011 - µS 3B 2013	*	34,2667	19,9245
µS 2A 2011 - µS 3C 2011	*	-75,9333	19,9245
µS 2A 2011 - µS 3C 2013	*	49,2667	19,9245
µS 2A 2013 - µS 2B 2011	*	-62,7	19,9245
µS 2A 2013 - µS 2B 2013	*	27,0	19,9245
µS 2A 2013 - µS 2C 2011	*	-42,9	19,9245
µS 2A 2013 - µS 2C 2013	*	47,3333	19,9245
µS 2A 2013 - µS 3A 2011	*	57,8667	19,9245
µS 2A 2013 - µS 3A 2013	*	72,3333	19,9245
µS 2A 2013 - µS 3B 2011	*	-46,9333	19,9245
µS 2A 2013 - µS 3B 2013	*	81,0	19,9245
µS 2A 2013 - µS 3C 2011	*	-29,2	19,9245
µS 2A 2013 - µS 3C 2013	*	96,0	19,9245
µS 2B 2011 - µS 2B 2013	*	89,7	19,9245
µS 2B 2011 - µS 2C 2011		19,8	19,9245
µS 2B 2011 - µS 2C 2013	*	110,033	19,9245
µS 2B 2011 - µS 3A 2011	*	120,567	19,9245
µS 2B 2011 - µS 3A 2013	*	135,033	19,9245
µS 2B 2011 - µS 3B 2011		15,7667	19,9245
µS 2B 2011 - µS 3B 2013	*	143,7	19,9245
µS 2B 2011 - µS 3C 2011	*	33,5	19,9245
µS 2B 2011 - µS 3C 2013	*	158,7	19,9245
µS 2B 2013 - µS 2C 2011	*	-69,9	19,9245
µS 2B 2013 - µS 2C 2013	*	20,3333	19,9245
µS 2B 2013 - µS 3A 2011	*	30,8667	19,9245
µS 2B 2013 - µS 3A 2013	*	45,3333	19,9245
µS 2B 2013 - µS 3B 2011	*	-73,9333	19,9245
µS 2B 2013 - µS 3B 2013	*	54,0	19,9245
µS 2B 2013 - µS 3C 2011	*	-56,2	19,9245
µS 2B 2013 - µS 3C 2013	*	69,0	19,9245
µS 2C 2011 - µS 2C 2013	*	90,2333	19,9245
µS 2C 2011 - µS 3A 2011	*	100,767	19,9245
µS 2C 2011 - µS 3A 2013	*	115,233	19,9245

µS 2C 2011 - µS 3B 2011		-4,03333	19,9245
µS 2C 2011 - µS 3B 2013	*	123,9	19,9245
µS 2C 2011 - µS 3C 2011		13,7	19,9245
µS 2C 2011 - µS 3C 2013	*	138,9	19,9245
µS 2C 2013 - µS 3A 2011		10,5333	19,9245
µS 2C 2013 - µS 3A 2013	*	25,0	19,9245
µS 2C 2013 - µS 3B 2011	*	-94,2667	19,9245
µS 2C 2013 - µS 3B 2013	*	33,6667	19,9245
µS 2C 2013 - µS 3C 2011	*	-76,5333	19,9245
µS 2C 2013 - µS 3C 2013	*	48,6667	19,9245
µS 3A 2011 - µS 3A 2013		14,4667	19,9245
µS 3A 2011 - µS 3B 2011	*	-104,8	19,9245
µS 3A 2011 - µS 3B 2013	*	23,1333	19,9245
µS 3A 2011 - µS 3C 2011	*	-87,0667	19,9245
µS 3A 2011 - µS 3C 2013	*	38,1333	19,9245
µS 3A 2013 - µS 3B 2011	*	-119,267	19,9245
µS 3A 2013 - µS 3B 2013		8,66667	19,9245
µS 3A 2013 - µS 3C 2011	*	-101,533	19,9245
µS 3A 2013 - µS 3C 2013	*	23,6667	19,9245
µS 3B 2011 - µS 3B 2013	*	127,933	19,9245
µS 3B 2011 - µS 3C 2011		17,7333	19,9245
µS 3B 2011 - µS 3C 2013	*	142,933	19,9245
µS 3B 2013 - µS 3C 2011	*	-110,2	19,9245
µS 3B 2013 - µS 3C 2013		15,0	19,9245
µS 3C 2011 - µS 3C 2013	*	125,2	19,9245

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 158 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95,0% confidence level. At the top of the page, 12 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Retención de humedad

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent LSD

	Count	*Mean*	*Homogeneous Groups*
RH 2B 2013	3	12,74	X
RH 1C 2013	3	12,81	X
RH 1B 2013	3	14,8533	XX
RH 2B 2011	3	19,73	XX
RH 1A 2013	3	19,84	XX
RH 2A 2013	3	20,2567	XXX
RH 3C 2013	3	21,0	XXX
RH 3A 2013	3	23,52	XXXX
RH 2A 2011	3	26,1033	XXXX
RH 2C 2013	3	26,8933	XXXX

RH 3B 2013	3	27,23	XXX
RH 1B 2011	3	28,5967	XXX
RH 1C 2011	3	28,9067	XXXX
RH 1A 2011	3	29,1667	XXXX
RH Control 2013	3	30,12	XXX
RH 3B 2011	3	31,3133	XXX
RH 3A 2011	3	32,54	XX
RH 2C 2011	3	34,8333	XX
RH Control 2011	3	38,88	X
RH 3C 2011	3	44,9133	X

Contrast	*Sig.*	*Difference*	*+/- Limits*
RH Control 2011 - RH Control 2013	*	8,76	5,97603
RH Control 2011 - RH 1A 2011	*	9,71333	5,97603
RH Control 2011 - RH 1A 2013	*	19,04	5,97603
RH Control 2011 - RH 1B 2011	*	10,2833	5,97603
RH Control 2011 - RH 1B 2013	*	24,0267	5,97603
RH Control 2011 - RH 1C 2011	*	9,97333	5,97603
RH Control 2011 - RH 1C 2013	*	26,07	5,97603
RH Control 2011 - RH 2A 2011	*	12,7767	5,97603
RH Control 2011 - RH 2A 2013	*	18,6233	5,97603
RH Control 2011 - RH 2B 2011	*	19,15	5,97603
RH Control 2011 - RH 2B 2013	*	26,14	5,97603
RH Control 2011 - RH 2C 2011		4,04667	5,97603
RH Control 2011 - RH 2C 2013	*	11,9867	5,97603
RH Control 2011 - RH 3A 2011	*	6,34	5,97603
RH Control 2011 - RH 3A 2013	*	15,36	5,97603
RH Control 2011 - RH 3B 2011	*	7,56667	5,97603
RH Control 2011 - RH 3B 2013	*	11,65	5,97603
RH Control 2011 - RH 3C 2011	*	-6,03333	5,97603
RH Control 2011 - RH 3C 2013	*	17,88	5,97603
RH Control 2013 - RH 1A 2011		0,953333	5,97603
RH Control 2013 - RH 1A 2013	*	10,28	5,97603
RH Control 2013 - RH 1B 2011		1,52333	5,97603
RH Control 2013 - RH 1B 2013	*	15,2667	5,97603
RH Control 2013 - RH 1C 2011		1,21333	5,97603
RH Control 2013 - RH 1C 2013	*	17,31	5,97603
RH Control 2013 - RH 2A 2011		4,01667	5,97603
RH Control 2013 - RH 2A 2013	*	9,86333	5,97603
RH Control 2013 - RH 2B 2011	*	10,39	5,97603
RH Control 2013 - RH 2B 2013	*	17,38	5,97603
RH Control 2013 - RH 2C 2011		-4,71333	5,97603
RH Control 2013 - RH 2C 2013		3,22667	5,97603
RH Control 2013 - RH 3A 2011		-2,42	5,97603
RH Control 2013 - RH 3A 2013	*	6,6	5,97603
RH Control 2013 - RH 3B 2011		-1,19333	5,97603
RH Control 2013 - RH 3B 2013		2,89	5,97603
RH Control 2013 - RH 3C 2011	*	-14,7933	5,97603
RH Control 2013 - RH 3C 2013	*	9,12	5,97603
RH 1A 2011 - RH 1A 2013	*	9,32667	5,97603
RH 1A 2011 - RH 1B 2011		0,57	5,97603
RH 1A 2011 - RH 1B 2013	*	14,3133	5,97603
RH 1A 2011 - RH 1C 2011		0,26	5,97603
RH 1A 2011 - RH 1C 2013	*	16,3567	5,97603

RH 1A 2011 - RH 2A 2011		3,06333	5,97603
RH 1A 2011 - RH 2A 2013	*	8,91	5,97603
RH 1A 2011 - RH 2B 2011	*	9,43667	5,97603
RH 1A 2011 - RH 2B 2013	*	16,4267	5,97603
RH 1A 2011 - RH 2C 2011		-5,66667	5,97603
RH 1A 2011 - RH 2C 2013		2,27333	5,97603
RH 1A 2011 - RH 3A 2011		-3,37333	5,97603
RH 1A 2011 - RH 3A 2013		5,64667	5,97603
RH 1A 2011 - RH 3B 2011		-2,14667	5,97603
RH 1A 2011 - RH 3B 2013		1,93667	5,97603
RH 1A 2011 - RH 3C 2011	*	-15,7467	5,97603
RH 1A 2011 - RH 3C 2013	*	8,16667	5,97603
RH 1A 2013 - RH 1B 2011	*	-8,75667	5,97603
RH 1A 2013 - RH 1B 2013		4,98667	5,97603
RH 1A 2013 - RH 1C 2011	*	-9,06667	5,97603
RH 1A 2013 - RH 1C 2013	*	7,03	5,97603
RH 1A 2013 - RH 2A 2011	*	-6,26333	5,97603
RH 1A 2013 - RH 2A 2013		-0,416667	5,97603
RH 1A 2013 - RH 2B 2011		0,11	5,97603
RH 1A 2013 - RH 2B 2013	*	7,1	5,97603
RH 1A 2013 - RH 2C 2011	*	-14,9933	5,97603
RH 1A 2013 - RH 2C 2013	*	-7,05333	5,97603
RH 1A 2013 - RH 3A 2011	*	-12,7	5,97603
RH 1A 2013 - RH 3A 2013		-3,68	5,97603
RH 1A 2013 - RH 3B 2011	*	-11,4733	5,97603
RH 1A 2013 - RH 3B 2013	*	-7,39	5,97603
RH 1A 2013 - RH 3C 2011	*	-25,0733	5,97603
RH 1A 2013 - RH 3C 2013		-1,16	5,97603
RH 1B 2011 - RH 1B 2013	*	13,7433	5,97603
RH 1B 2011 - RH 1C 2011		-0,31	5,97603
RH 1B 2011 - RH 1C 2013	*	15,7867	5,97603
RH 1B 2011 - RH 2A 2011		2,49333	5,97603
RH 1B 2011 - RH 2A 2013	*	8,34	5,97603
RH 1B 2011 - RH 2B 2011	*	8,86667	5,97603
RH 1B 2011 - RH 2B 2013	*	15,8567	5,97603
RH 1B 2011 - RH 2C 2011	*	-6,23667	5,97603
RH 1B 2011 - RH 2C 2013		1,70333	5,97603
RH 1B 2011 - RH 3A 2011		-3,94333	5,97603
RH 1B 2011 - RH 3A 2013		5,07667	5,97603
RH 1B 2011 - RH 3B 2011		-2,71667	5,97603
RH 1B 2011 - RH 3B 2013		1,36667	5,97603
RH 1B 2011 - RH 3C 2011	*	-16,3167	5,97603
RH 1B 2011 - RH 3C 2013	*	7,59667	5,97603
RH 1B 2013 - RH 1C 2011	*	-14,0533	5,97603
RH 1B 2013 - RH 1C 2013		2,04333	5,97603
RH 1B 2013 - RH 2A 2011	*	-11,25	5,97603
RH 1B 2013 - RH 2A 2013		-5,40333	5,97603
RH 1B 2013 - RH 2B 2011		-4,87667	5,97603
RH 1B 2013 - RH 2B 2013		2,11333	5,97603
RH 1B 2013 - RH 2C 2011	*	-19,98	5,97603
RH 1B 2013 - RH 2C 2013	*	-12,04	5,97603
RH 1B 2013 - RH 3A 2011	*	-17,6867	5,97603
RH 1B 2013 - RH 3A 2013	*	-8,66667	5,97603
RH 1B 2013 - RH 3B 2011	*	-16,46	5,97603

RH 1B 2013 - RH 3B 2013	*	-12,3767	5,97603
RH 1B 2013 - RH 3C 2011	*	-30,06	5,97603
RH 1B 2013 - RH 3C 2013	*	-6,14667	5,97603
RH 1C 2011 - RH 1C 2013	*	16,0967	5,97603
RH 1C 2011 - RH 2A 2011		2,80333	5,97603
RH 1C 2011 - RH 2A 2013	*	8,65	5,97603
RH 1C 2011 - RH 2B 2011	*	9,17667	5,97603
RH 1C 2011 - RH 2B 2013	*	16,1667	5,97603
RH 1C 2011 - RH 2C 2011		-5,92667	5,97603
RH 1C 2011 - RH 2C 2013		2,01333	5,97603
RH 1C 2011 - RH 3A 2011		-3,63333	5,97603
RH 1C 2011 - RH 3A 2013		5,38667	5,97603
RH 1C 2011 - RH 3B 2011		-2,40667	5,97603
RH 1C 2011 - RH 3B 2013		1,67667	5,97603
RH 1C 2011 - RH 3C 2011	*	-16,0067	5,97603
RH 1C 2011 - RH 3C 2013	*	7,90667	5,97603
RH 1C 2013 - RH 2A 2011	*	-13,2933	5,97603
RH 1C 2013 - RH 2A 2013	*	-7,44667	5,97603
RH 1C 2013 - RH 2B 2011	*	-6,92	5,97603
RH 1C 2013 - RH 2B 2013		0,07	5,97603
RH 1C 2013 - RH 2C 2011	*	-22,0233	5,97603
RH 1C 2013 - RH 2C 2013	*	-14,0833	5,97603
RH 1C 2013 - RH 3A 2011	*	-19,73	5,97603
RH 1C 2013 - RH 3A 2013	*	-10,71	5,97603
RH 1C 2013 - RH 3B 2011	*	-18,5033	5,97603
RH 1C 2013 - RH 3B 2013	*	-14,42	5,97603
RH 1C 2013 - RH 3C 2011	*	-32,1033	5,97603
RH 1C 2013 - RH 3C 2013	*	-8,19	5,97603
RH 2A 2011 - RH 2A 2013		5,84667	5,97603
RH 2A 2011 - RH 2B 2011	*	6,37333	5,97603
RH 2A 2011 - RH 2B 2013	*	13,3633	5,97603
RH 2A 2011 - RH 2C 2011	*	-8,73	5,97603
RH 2A 2011 - RH 2C 2013		-0,79	5,97603
RH 2A 2011 - RH 3A 2011	*	-6,43667	5,97603
RH 2A 2011 - RH 3A 2013		2,58333	5,97603
RH 2A 2011 - RH 3B 2011		-5,21	5,97603
RH 2A 2011 - RH 3B 2013		-1,12667	5,97603
RH 2A 2011 - RH 3C 2011	*	-18,81	5,97603
RH 2A 2011 - RH 3C 2013		5,10333	5,97603
RH 2A 2013 - RH 2B 2011		0,526667	5,97603
RH 2A 2013 - RH 2B 2013	*	7,51667	5,97603
RH 2A 2013 - RH 2C 2011	*	-14,5767	5,97603
RH 2A 2013 - RH 2C 2013	*	-6,63667	5,97603
RH 2A 2013 - RH 3A 2011	*	-12,2833	5,97603
RH 2A 2013 - RH 3A 2013		-3,26333	5,97603
RH 2A 2013 - RH 3B 2011	*	-11,0567	5,97603
RH 2A 2013 - RH 3B 2013	*	-6,97333	5,97603
RH 2A 2013 - RH 3C 2011	*	-24,6567	5,97603
RH 2A 2013 - RH 3C 2013		-0,743333	5,97603
RH 2B 2011 - RH 2B 2013	*	6,99	5,97603
RH 2B 2011 - RH 2C 2011	*	-15,1033	5,97603
RH 2B 2011 - RH 2C 2013	*	-7,16333	5,97603
RH 2B 2011 - RH 3A 2011	*	-12,81	5,97603
RH 2B 2011 - RH 3A 2013		-3,79	5,97603

RH 2B 2011 - RH 3B 2011	*	-11,5833	5,97603
RH 2B 2011 - RH 3B 2013	*	-7,5	5,97603
RH 2B 2011 - RH 3C 2011	*	-25,1833	5,97603
RH 2B 2011 - RH 3C 2013		-1,27	5,97603
RH 2B 2013 - RH 2C 2011	*	-22,0933	5,97603
RH 2B 2013 - RH 2C 2013	*	-14,1533	5,97603
RH 2B 2013 - RH 3A 2011	*	-19,8	5,97603
RH 2B 2013 - RH 3A 2013	*	-10,78	5,97603
RH 2B 2013 - RH 3B 2011	*	-18,5733	5,97603
RH 2B 2013 - RH 3B 2013	*	-14,49	5,97603
RH 2B 2013 - RH 3C 2011	*	-32,1733	5,97603
RH 2B 2013 - RH 3C 2013	*	-8,26	5,97603
RH 2C 2011 - RH 2C 2013	*	7,94	5,97603
RH 2C 2011 - RH 3A 2011		2,29333	5,97603
RH 2C 2011 - RH 3A 2013	*	11,3133	5,97603
RH 2C 2011 - RH 3B 2011		3,52	5,97603
RH 2C 2011 - RH 3B 2013	*	7,60333	5,97603
RH 2C 2011 - RH 3C 2011	*	-10,08	5,97603
RH 2C 2011 - RH 3C 2013	*	13,8333	5,97603
RH 2C 2013 - RH 3A 2011		-5,64667	5,97603
RH 2C 2013 - RH 3A 2013		3,37333	5,97603
RH 2C 2013 - RH 3B 2011		-4,42	5,97603
RH 2C 2013 - RH 3B 2013		-0,336667	5,97603
RH 2C 2013 - RH 3C 2011	*	-18,02	5,97603
RH 2C 2013 - RH 3C 2013		5,89333	5,97603
RH 3A 2011 - RH 3A 2013	*	9,02	5,97603
RH 3A 2011 - RH 3B 2011		1,22667	5,97603
RH 3A 2011 - RH 3B 2013		5,31	5,97603
RH 3A 2011 - RH 3C 2011	*	-12,3733	5,97603
RH 3A 2011 - RH 3C 2013	*	11,54	5,97603
RH 3A 2013 - RH 3B 2011	*	-7,79333	5,97603
RH 3A 2013 - RH 3B 2013		-3,71	5,97603
RH 3A 2013 - RH 3C 2011	*	-21,3933	5,97603
RH 3A 2013 - RH 3C 2013		2,52	5,97603
RH 3B 2011 - RH 3B 2013		4,08333	5,97603
RH 3B 2011 - RH 3C 2011	*	-13,6	5,97603
RH 3B 2011 - RH 3C 2013	*	10,3133	5,97603
RH 3B 2013 - RH 3C 2011	*	-17,6833	5,97603
RH 3B 2013 - RH 3C 2013	*	6,23	5,97603
RH 3C 2011 - RH 3C 2013	*	23,9133	5,97603

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 124 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95,0% confidence level. At the top of the page, 11 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Contenido de Humedad

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent LSD

	Count	*Mean*	*Homogeneous Groups*
Hum. 3A 2013	2	2,15	X
Hum. 1B 2013	2	2,16	X
Hum. 2B 2013	2	2,555	X
Hum. 1C 2013	2	4,105	XX
Hum. 2A 2013	2	4,115	XX
Hum. 1A 2013	2	5,09	XXX
Hum. Control 2013	2	5,185	XXXX
Hum. 3B 2013	2	6,22	XXX
Hum. 2C 2013	2	7,415	XXX
Hum. 1B 2011	2	8,12	XXX
Hum. 3C 2013	2	8,35	XX
Hum. 2C 2011	2	9,695	XX
Hum. Control 2011	2	12,1	XX
Hum. 1A 2011	2	12,295	XX
Hum. 3A 2011	2	12,815	XX
Hum. 1C 2011	2	13,265	XX
Hum. 2A 2011	2	14,525	XX
Hum. 3B 2011	2	16,125	XX
Hum. 2B 2011	2	18,2	X
Hum. 3C 2011	2	28,86	X

Contrast	*Sig.*	*Difference*	*+/- Limits*
Hum. Control 2011 - Hum. Control 2013	*	6,915	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 1A 2011		-0,195	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 1A 2013	*	7,01	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 1B 2011	*	3,98	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 1B 2013	*	9,94	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 1C 2011		-1,165	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 1C 2013	*	7,995	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 2A 2011		-2,425	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 2A 2013	*	7,985	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 2B 2011	*	-6,1	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 2B 2013	*	9,545	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 2C 2011		2,405	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 2C 2013	*	4,685	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 3A 2011		-0,715	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 3A 2013	*	9,95	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 3B 2011	*	-4,025	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 3B 2013	*	5,88	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 3C 2011	*	-16,76	3,17529
Hum. Control 2011 - Hum. 3C 2013	*	3,75	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 1A 2011	*	-7,11	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 1A 2013		0,095	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 1B 2011		-2,935	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 1B 2013		3,025	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 1C 2011	*	-8,08	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 1C 2013		1,08	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 2A 2011	*	-9,34	3,17529

Hum. Control 2013 - Hum. 2A 2013		1,07	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 2B 2011	*	-13,015	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 2B 2013		2,63	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 2C 2011	*	-4,51	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 2C 2013		-2,23	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 3A 2011	*	-7,63	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 3A 2013		3,035	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 3B 2011	*	-10,94	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 3B 2013		-1,035	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 3C 2011	*	-23,675	3,17529
Hum. Control 2013 - Hum. 3C 2013		-3,165	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 1A 2013	*	7,205	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 1B 2011	*	4,175	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 1B 2013	*	10,135	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 1C 2011		-0,97	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 1C 2013	*	8,19	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 2A 2011		-2,23	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 2A 2013	*	8,18	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 2B 2011	*	-5,905	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 2B 2013	*	9,74	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 2C 2011		2,6	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 2C 2013	*	4,88	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 3A 2011		-0,52	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 3A 2013	*	10,145	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 3B 2011	*	-3,83	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 3B 2013	*	6,075	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 3C 2011	*	-16,565	3,17529
Hum. 1A 2011 - Hum. 3C 2013	*	3,945	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 1B 2011		-3,03	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 1B 2013		2,93	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 1C 2011	*	-8,175	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 1C 2013		0,985	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 2A 2011	*	-9,435	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 2A 2013		0,975	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 2B 2011	*	-13,11	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 2B 2013		2,535	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 2C 2011	*	-4,605	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 2C 2013		-2,325	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 3A 2011	*	-7,725	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 3A 2013		2,94	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 3B 2011	*	-11,035	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 3B 2013		-1,13	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 3C 2011	*	-23,77	3,17529
Hum. 1A 2013 - Hum. 3C 2013	*	-3,26	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 1B 2013	*	5,96	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 1C 2011	*	-5,145	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 1C 2013	*	4,015	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 2A 2011	*	-6,405	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 2A 2013	*	4,005	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 2B 2011	*	-10,08	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 2B 2013	*	5,565	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 2C 2011		-1,575	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 2C 2013		0,705	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 3A 2011	*	-4,695	3,17529

Hum. 1B 2011 - Hum. 3A 2013	*	5,97	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 3B 2011	*	-8,005	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 3B 2013		1,9	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 3C 2011	*	-20,74	3,17529
Hum. 1B 2011 - Hum. 3C 2013		-0,23	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 1C 2011	*	-11,105	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 1C 2013		-1,945	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 2A 2011	*	-12,365	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 2A 2013		-1,955	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 2B 2011	*	-16,04	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 2B 2013		-0,395	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 2C 2011	*	-7,535	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 2C 2013	*	-5,255	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 3A 2011	*	-10,655	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 3A 2013		0,01	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 3B 2011	*	-13,965	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 3B 2013	*	-4,06	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 3C 2011	*	-26,7	3,17529
Hum. 1B 2013 - Hum. 3C 2013	*	-6,19	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 1C 2013	*	9,16	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 2A 2011		-1,26	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 2A 2013	*	9,15	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 2B 2011	*	-4,935	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 2B 2013	*	10,71	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 2C 2011	*	3,57	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 2C 2013	*	5,85	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 3A 2011		0,45	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 3A 2013	*	11,115	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 3B 2011		-2,86	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 3B 2013	*	7,045	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 3C 2011	*	-15,595	3,17529
Hum. 1C 2011 - Hum. 3C 2013	*	4,915	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 2A 2011	*	-10,42	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 2A 2013		-0,01	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 2B 2011	*	-14,095	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 2B 2013		1,55	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 2C 2011	*	-5,59	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 2C 2013	*	-3,31	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 3A 2011	*	-8,71	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 3A 2013		1,955	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 3B 2011	*	-12,02	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 3B 2013		-2,115	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 3C 2011	*	-24,755	3,17529
Hum. 1C 2013 - Hum. 3C 2013	*	-4,245	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 2A 2013	*	10,41	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 2B 2011	*	-3,675	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 2B 2013	*	11,97	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 2C 2011	*	4,83	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 2C 2013	*	7,11	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 3A 2011		1,71	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 3A 2013	*	12,375	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 3B 2011		-1,6	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 3B 2013	*	8,305	3,17529
Hum. 2A 2011 - Hum. 3C 2011	*	-14,335	3,17529

Hum. 2A 2011 - Hum. 3C 2013	*	6,175	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 2B 2011	*	-14,085	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 2B 2013		1,56	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 2C 2011	*	-5,58	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 2C 2013	*	-3,3	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 3A 2011	*	-8,7	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 3A 2013		1,965	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 3B 2011	*	-12,01	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 3B 2013		-2,105	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 3C 2011	*	-24,745	3,17529
Hum. 2A 2013 - Hum. 3C 2013	*	-4,235	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 2B 2013	*	15,645	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 2C 2011	*	8,505	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 2C 2013	*	10,785	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 3A 2011	*	5,385	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 3A 2013	*	16,05	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 3B 2011		2,075	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 3B 2013	*	11,98	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 3C 2011	*	-10,66	3,17529
Hum. 2B 2011 - Hum. 3C 2013	*	9,85	3,17529
Hum. 2B 2013 - Hum. 2C 2011	*	-7,14	3,17529
Hum. 2B 2013 - Hum. 2C 2013	*	-4,86	3,17529
Hum. 2B 2013 - Hum. 3A 2011	*	-10,26	3,17529
Hum. 2B 2013 - Hum. 3A 2013		0,405	3,17529
Hum. 2B 2013 - Hum. 3B 2011	*	-13,57	3,17529
Hum. 2B 2013 - Hum. 3B 2013	*	-3,665	3,17529
Hum. 2B 2013 - Hum. 3C 2011	*	-26,305	3,17529
Hum. 2B 2013 - Hum. 3C 2013	*	-5,795	3,17529
Hum. 2C 2011 - Hum. 2C 2013		2,28	3,17529
Hum. 2C 2011 - Hum. 3A 2011		-3,12	3,17529
Hum. 2C 2011 - Hum. 3A 2013	*	7,545	3,17529
Hum. 2C 2011 - Hum. 3B 2011	*	-6,43	3,17529
Hum. 2C 2011 - Hum. 3B 2013	*	3,475	3,17529
Hum. 2C 2011 - Hum. 3C 2011	*	-19,165	3,17529
Hum. 2C 2011 - Hum. 3C 2013		1,345	3,17529
Hum. 2C 2013 - Hum. 3A 2011	*	-5,4	3,17529
Hum. 2C 2013 - Hum. 3A 2013	*	5,265	3,17529
Hum. 2C 2013 - Hum. 3B 2011	*	-8,71	3,17529
Hum. 2C 2013 - Hum. 3B 2013		1,195	3,17529
Hum. 2C 2013 - Hum. 3C 2011	*	-21,445	3,17529
Hum. 2C 2013 - Hum. 3C 2013		-0,935	3,17529
Hum. 3A 2011 - Hum. 3A 2013	*	10,665	3,17529
Hum. 3A 2011 - Hum. 3B 2011	*	-3,31	3,17529
Hum. 3A 2011 - Hum. 3B 2013	*	6,595	3,17529
Hum. 3A 2011 - Hum. 3C 2011	*	-16,045	3,17529
Hum. 3A 2011 - Hum. 3C 2013	*	4,465	3,17529
Hum. 3A 2013 - Hum. 3B 2011	*	-13,975	3,17529
Hum. 3A 2013 - Hum. 3B 2013	*	-4,07	3,17529
Hum. 3A 2013 - Hum. 3C 2011	*	-26,71	3,17529
Hum. 3A 2013 - Hum. 3C 2013	*	-6,2	3,17529
Hum. 3B 2011 - Hum. 3B 2013	*	9,905	3,17529
Hum. 3B 2011 - Hum. 3C 2011	*	-12,735	3,17529
Hum. 3B 2011 - Hum. 3C 2013	*	7,775	3,17529
Hum. 3B 2013 - Hum. 3C 2011	*	-22,64	3,17529

Hum. 3B 2013 - Hum. 3C 2013		-2,13	3,17529
Hum. 3C 2011 - Hum. 3C 2013	*	20,51	3,17529

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 135 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95,0% confidence level. At the top of the page, 10 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

% material organica

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent LSD

	Count	*Mean*	*Homogeneous Groups*
% MOT 2A 2013	2	1,03	X
% MOT 1A 2013	2	1,86	X
% MOT 1B 2013	2	1,885	X
% MOT 1C 2013	2	1,90505	X
% MOT 2B 2013	2	2,555	X
% MOT 2C 2013	2	2,5655	X
% MOT 3A 2013	2	6,54	X
% MOT 3B 2013	2	7,615	X
% MOT 3C 2013	2	8,423	X
% MOT Control 2013	2	8,423	X

Contrast	*Sig.*	*Difference*	*+/- Limits*
% MOT Control 2013 - % MOT 1A 2013	*	6,563	0,117985
% MOT Control 2013 - % MOT 1B 2013	*	6,538	0,117985
% MOT Control 2013 - % MOT 1C 2013	*	6,51795	0,117985
% MOT Control 2013 - % MOT 2A 2013	*	7,393	0,117985
% MOT Control 2013 - % MOT 2B 2013	*	5,868	0,117985
% MOT Control 2013 - % MOT 2C 2013	*	5,8575	0,117985
% MOT Control 2013 - % MOT 3A 2013	*	1,883	0,117985
% MOT Control 2013 - % MOT 3B 2013	*	0,808	0,117985
% MOT Control 2013 - % MOT 3C 2013		0	0,117985
% MOT 1A 2013 - % MOT 1B 2013		-0,025	0,117985
% MOT 1A 2013 - % MOT 1C 2013		-0,04505	0,117985
% MOT 1A 2013 - % MOT 2A 2013	*	0,83	0,117985
% MOT 1A 2013 - % MOT 2B 2013	*	-0,695	0,117985
% MOT 1A 2013 - % MOT 2C 2013	*	-0,7055	0,117985
% MOT 1A 2013 - % MOT 3A 2013	*	-4,68	0,117985
% MOT 1A 2013 - % MOT 3B 2013	*	-5,755	0,117985
% MOT 1A 2013 - % MOT 3C 2013	*	-6,563	0,117985
% MOT 1B 2013 - % MOT 1C 2013		-0,02005	0,117985
% MOT 1B 2013 - % MOT 2A 2013	*	0,855	0,117985
% MOT 1B 2013 - % MOT 2B 2013	*	-0,67	0,117985
% MOT 1B 2013 - % MOT 2C 2013	*	-0,6805	0,117985
% MOT 1B 2013 - % MOT 3A 2013	*	-4,655	0,117985

% MOT 1B 2013 - % MOT 3B 2013	*	-5,73	0,117985
% MOT 1B 2013 - % MOT 3C 2013	*	-6,538	0,117985
% MOT 1C 2013 - % MOT 2A 2013	*	0,87505	0,117985
% MOT 1C 2013 - % MOT 2B 2013	*	-0,64995	0,117985
% MOT 1C 2013 - % MOT 2C 2013	*	-0,66045	0,117985
% MOT 1C 2013 - % MOT 3A 2013	*	-4,63495	0,117985
% MOT 1C 2013 - % MOT 3B 2013	*	-5,70995	0,117985
% MOT 1C 2013 - % MOT 3C 2013	*	-6,51795	0,117985
% MOT 2A 2013 - % MOT 2B 2013	*	-1,525	0,117985
% MOT 2A 2013 - % MOT 2C 2013	*	-1,5355	0,117985
% MOT 2A 2013 - % MOT 3A 2013	*	-5,51	0,117985
% MOT 2A 2013 - % MOT 3B 2013	*	-6,585	0,117985
% MOT 2A 2013 - % MOT 3C 2013	*	-7,393	0,117985
% MOT 2B 2013 - % MOT 2C 2013		-0,0105	0,117985
% MOT 2B 2013 - % MOT 3A 2013	*	-3,985	0,117985
% MOT 2B 2013 - % MOT 3B 2013	*	-5,06	0,117985
% MOT 2B 2013 - % MOT 3C 2013	*	-5,868	0,117985
% MOT 2C 2013 - % MOT 3A 2013	*	-3,9745	0,117985
% MOT 2C 2013 - % MOT 3B 2013	*	-5,0495	0,117985
% MOT 2C 2013 - % MOT 3C 2013	*	-5,8575	0,117985
% MOT 3A 2013 - % MOT 3B 2013	*	-1,075	0,117985
% MOT 3A 2013 - % MOT 3C 2013	*	-1,883	0,117985
% MOT 3B 2013 - % MOT 3C 2013	*	-0,808	0,117985

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 40 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95,0% confidence level. At the top of the page, 6 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.

Valores de CIC

Multiple Range Tests

Method: 95,0 percent LSD

	Count	*Mean*	*Homogeneous Groups*
CIC 2A 2011	3	2,2	X
CIC 1B 2011	3	2,93333	X
CIC 2B 2011	3	3,6	X
CIC 3A 2011	3	4,5	X
CIC 3B 2011	3	7,03333	X
CIC 1C 2011	3	9,0	X
CIC 2C 2011	3	12,8333	X
CIC Control 2011	3	13,8667	X
CIC 3C 2011	3	15,4333	X
CIC 1A 2011	3	15,6667	X
CIC 1A 2013	3	16,2433	X
CIC 1B 2013	3	16,4733	X

CIC 2A 2013	3	18,4267	X
CIC 3A 2013	3	20,22	X
CIC 1C 2013	3	20,5567	X
CIC 2B 2013	3	21,29	X
CIC 3B 2013	3	22,5333	X
CIC 2C 2013	3	26,45	X
CIC Control 2013	3	27,4	X
CIC 3C 2013	3	29,55	X

Contrast	*Sig.*	*Difference*	*+/- Limits*
CIC Control 2011 - CIC Control 2013	*	-13,5333	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 1A 2011	*	-1,8	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 1A 2013	*	-2,37667	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 1B 2011	*	10,9333	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 1B 2013	*	-2,60667	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 1C 2011	*	4,86667	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 1C 2013	*	-6,69	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 2A 2011	*	11,6667	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 2A 2013	*	-4,56	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 2B 2011	*	10,2667	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 2B 2013	*	-7,42333	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 2C 2011	*	1,03333	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 2C 2013	*	-12,5833	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 3A 2011	*	9,36667	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 3A 2013	*	-6,35333	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 3B 2011	*	6,83333	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 3B 2013	*	-8,66667	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 3C 2011	*	-1,56667	0,462788
CIC Control 2011 - CIC 3C 2013	*	-15,6833	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 1A 2011	*	11,7333	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 1A 2013	*	11,1567	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 1B 2011	*	24,4667	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 1B 2013	*	10,9267	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 1C 2011	*	18,4	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 1C 2013	*	6,84333	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 2A 2011	*	25,2	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 2A 2013	*	8,97333	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 2B 2011	*	23,8	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 2B 2013	*	6,11	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 2C 2011	*	14,5667	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 2C 2013	*	0,95	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 3A 2011	*	22,9	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 3A 2013	*	7,18	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 3B 2011	*	20,3667	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 3B 2013	*	4,86667	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 3C 2011	*	11,9667	0,462788
CIC Control 2013 - CIC 3C 2013	*	-2,15	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 1A 2013	*	-0,576667	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 1B 2011	*	12,7333	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 1B 2013	*	-0,806667	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 1C 2011	*	6,66667	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 1C 2013	*	-4,89	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 2A 2011	*	13,4667	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 2A 2013	*	-2,76	0,462788

CIC 1A 2011 - CIC 2B 2011	*	12,0667	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 2B 2013	*	-5,62333	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 2C 2011	*	2,83333	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 2C 2013	*	-10,7833	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 3A 2011	*	11,1667	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 3A 2013	*	-4,55333	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 3B 2011	*	8,63333	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 3B 2013	*	-6,86667	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 3C 2011		0,233333	0,462788
CIC 1A 2011 - CIC 3C 2013	*	-13,8833	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 1B 2011	*	13,31	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 1B 2013		-0,23	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 1C 2011	*	7,24333	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 1C 2013	*	-4,31333	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 2A 2011	*	14,0433	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 2A 2013	*	-2,18333	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 2B 2011	*	12,6433	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 2B 2013	*	-5,04667	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 2C 2011	*	3,41	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 2C 2013	*	-10,2067	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 3A 2011	*	11,7433	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 3A 2013	*	-3,97667	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 3B 2011	*	9,21	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 3B 2013	*	-6,29	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 3C 2011	*	0,81	0,462788
CIC 1A 2013 - CIC 3C 2013	*	-13,3067	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 1B 2013	*	-13,54	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 1C 2011	*	-6,06667	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 1C 2013	*	-17,6233	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 2A 2011	*	0,733333	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 2A 2013	*	-15,4933	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 2B 2011	*	-0,666667	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 2B 2013	*	-18,3567	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 2C 2011	*	-9,9	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 2C 2013	*	-23,5167	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 3A 2011	*	-1,56667	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 3A 2013	*	-17,2867	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 3B 2011	*	-4,1	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 3B 2013	*	-19,6	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 3C 2011	*	-12,5	0,462788
CIC 1B 2011 - CIC 3C 2013	*	-26,6167	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 1C 2011	*	7,47333	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 1C 2013	*	-4,08333	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 2A 2011	*	14,2733	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 2A 2013	*	-1,95333	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 2B 2011	*	12,8733	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 2B 2013	*	-4,81667	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 2C 2011	*	3,64	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 2C 2013	*	-9,97667	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 3A 2011	*	11,9733	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 3A 2013	*	-3,74667	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 3B 2011	*	9,44	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 3B 2013	*	-6,06	0,462788
CIC 1B 2013 - CIC 3C 2011	*	1,04	0,462788

CIC 1B 2013 - CIC 3C 2013	*	-13,0767	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 1C 2013	*	-11,5567	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 2A 2011	*	6,8	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 2A 2013	*	-9,42667	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 2B 2011	*	5,4	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 2B 2013	*	-12,29	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 2C 2011	*	-3,83333	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 2C 2013	*	-17,45	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 3A 2011	*	4,5	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 3A 2013	*	-11,22	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 3B 2011	*	1,96667	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 3B 2013	*	-13,5333	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 3C 2011	*	-6,43333	0,462788
CIC 1C 2011 - CIC 3C 2013	*	-20,55	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 2A 2011	*	18,3567	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 2A 2013	*	2,13	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 2B 2011	*	16,9567	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 2B 2013	*	-0,733333	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 2C 2011	*	7,72333	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 2C 2013	*	-5,89333	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 3A 2011	*	16,0567	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 3A 2013		0,336667	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 3B 2011	*	13,5233	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 3B 2013	*	-1,97667	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 3C 2011	*	5,12333	0,462788
CIC 1C 2013 - CIC 3C 2013	*	-8,99333	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 2A 2013	*	-16,2267	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 2B 2011	*	-1,4	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 2B 2013	*	-19,09	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 2C 2011	*	-10,6333	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 2C 2013	*	-24,25	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 3A 2011	*	-2,3	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 3A 2013	*	-18,02	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 3B 2011	*	-4,83333	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 3B 2013	*	-20,3333	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 3C 2011	*	-13,2333	0,462788
CIC 2A 2011 - CIC 3C 2013	*	-27,35	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 2B 2011	*	14,8267	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 2B 2013	*	-2,86333	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 2C 2011	*	5,59333	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 2C 2013	*	-8,02333	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 3A 2011	*	13,9267	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 3A 2013	*	-1,79333	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 3B 2011	*	11,3933	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 3B 2013	*	-4,10667	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 3C 2011	*	2,99333	0,462788
CIC 2A 2013 - CIC 3C 2013	*	-11,1233	0,462788
CIC 2B 2011 - CIC 2B 2013	*	-17,69	0,462788
CIC 2B 2011 - CIC 2C 2011	*	-9,23333	0,462788
CIC 2B 2011 - CIC 2C 2013	*	-22,85	0,462788
CIC 2B 2011 - CIC 3A 2011	*	-0,9	0,462788
CIC 2B 2011 - CIC 3A 2013	*	-16,62	0,462788
CIC 2B 2011 - CIC 3B 2011	*	-3,43333	0,462788
CIC 2B 2011 - CIC 3B 2013	*	-18,9333	0,462788

CIC 2B 2011 - CIC 3C 2011	*	-11,8333	0,462788
CIC 2B 2011 - CIC 3C 2013	*	-25,95	0,462788
CIC 2B 2013 - CIC 2C 2011	*	8,45667	0,462788
CIC 2B 2013 - CIC 2C 2013	*	-5,16	0,462788
CIC 2B 2013 - CIC 3A 2011	*	16,79	0,462788
CIC 2B 2013 - CIC 3A 2013	*	1,07	0,462788
CIC 2B 2013 - CIC 3B 2011	*	14,2567	0,462788
CIC 2B 2013 - CIC 3B 2013	*	-1,24333	0,462788
CIC 2B 2013 - CIC 3C 2011	*	5,85667	0,462788
CIC 2B 2013 - CIC 3C 2013	*	-8,26	0,462788
CIC 2C 2011 - CIC 2C 2013	*	-13,6167	0,462788
CIC 2C 2011 - CIC 3A 2011	*	8,33333	0,462788
CIC 2C 2011 - CIC 3A 2013	*	-7,38667	0,462788
CIC 2C 2011 - CIC 3B 2011	*	5,8	0,462788
CIC 2C 2011 - CIC 3B 2013	*	-9,7	0,462788
CIC 2C 2011 - CIC 3C 2011	*	-2,6	0,462788
CIC 2C 2011 - CIC 3C 2013	*	-16,7167	0,462788
CIC 2C 2013 - CIC 3A 2011	*	21,95	0,462788
CIC 2C 2013 - CIC 3A 2013	*	6,23	0,462788
CIC 2C 2013 - CIC 3B 2011	*	19,4167	0,462788
CIC 2C 2013 - CIC 3B 2013	*	3,91667	0,462788
CIC 2C 2013 - CIC 3C 2011	*	11,0167	0,462788
CIC 2C 2013 - CIC 3C 2013	*	-3,1	0,462788
CIC 3A 2011 - CIC 3A 2013	*	-15,72	0,462788
CIC 3A 2011 - CIC 3B 2011	*	-2,53333	0,462788
CIC 3A 2011 - CIC 3B 2013	*	-18,0333	0,462788
CIC 3A 2011 - CIC 3C 2011	*	-10,9333	0,462788
CIC 3A 2011 - CIC 3C 2013	*	-25,05	0,462788
CIC 3A 2013 - CIC 3B 2011	*	13,1867	0,462788
CIC 3A 2013 - CIC 3B 2013	*	-2,31333	0,462788
CIC 3A 2013 - CIC 3C 2011	*	4,78667	0,462788
CIC 3A 2013 - CIC 3C 2013	*	-9,33	0,462788
CIC 3B 2011 - CIC 3B 2013	*	-15,5	0,462788
CIC 3B 2011 - CIC 3C 2011	*	-8,4	0,462788
CIC 3B 2011 - CIC 3C 2013	*	-22,5167	0,462788
CIC 3B 2013 - CIC 3C 2011	*	7,1	0,462788
CIC 3B 2013 - CIC 3C 2013	*	-7,01667	0,462788
CIC 3C 2011 - CIC 3C 2013	*	-14,1167	0,462788

* denotes a statistically significant difference.

The StatAdvisor

This table applies a multiple comparison procedure to determine which means are significantly different from which others. The bottom half of the output shows the estimated difference between each pair of means. An asterisk has been placed next to 187 pairs, indicating that these pairs show statistically significant differences at the 95,0% confidence level. At the top of the page, 17 homogenous groups are identified using columns of X's. Within each column, the levels containing X's form a group of means within which there are no statistically significant differences. The method currently being used to discriminate among the means is Fisher's least significant difference (LSD) procedure. With this method, there is a 5,0% risk of calling each pair of means significantly different when the actual difference equals 0.