

FSII

# Universidad Autónoma Agraria "ANTONIO NARRO"

COLEGIO DE GRADUADOS



FECHA DE ADQUISICION	
NUM. DE INVENTARIO	00950-7
PROCEBENCIA	UAAAN
NUM. DE CLASIFICACION	QR
PRECIO	111 .137
DIST:	1981

C.1

"ANALISIS COMPARATIVO DEL METODO CLASICO Y EL METODO M G C  
PARA RECUENTOS BACTERIANOS EN SUELOS AGRICOLAS"

## TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

EN LA ESPECIALIDAD DE SUELOS

PRESENTA

**ERNESTO MARTINEZ MEZA**

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. 1981

Universidad Autónoma Agraria  
"ANTONIO NARRO"



BIBLIOTECA



T00950  
CID UAAAN

"ANALISIS COMPARATIVO DEL METODO CLASICO Y EL METODO MGC  
PARA RECUNTOS BACTERIANOS EN SUELOS AGRICOLAS"

Tesis presentada por Ernesto Martínez Reza, como requisito  
parcial para optar el grado académico de Maestro en Ciencias.



BIBLIOTECA  
EGIDIO G. REBONATO  
BANCO DE TESIS  
U.A.A.A.N.

Comité Examinador

Presidente del Jurado

Ing. F.C. Rommel de la Garza Garza

G.F.B. M.A. Mercedes de la Garza Curcho de de la Garza

Dr. Eduardo Narro Farías

Buenavista, Saitilla, Cuch., 27 de Enero 1981

Fecha

## RECONOCIMIENTOS

Mi más profundo agradecimiento y admiración a la Q.F.B. F.A. Mercedes de la Garza Curcho de de la Garza, por su dirección, colaboración y consejos para la realización del presente estudio.

Asimismo agradezco al Ing. E.C. Rommel de la Garza Garza y al Dr. Eduardo Narro Farías, por sus correcciones, sugerencias y amistad.

Mi reconocimiento al Colegio de Graduados de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", por haberme brindado la oportunidad de superación profesional. Igualmente al H. Cuerpo de Catedráticos, por el cúmulo de conocimientos transmitidos.

Un especial reconocimiento a mi esposa Sra. Ana Rosa Villalpando de Martínez, por el trabajo original de mecanografía.

Finalmente hago patente mi agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra manera intervinieron para la realización de esta investigación.

## DEDICATORIAS

Con profundo amor, por la motivación  
para buscar mi superación.

A mi esposa:

Sra. Profra. Ana Rosa Villalpando de Martínez

A mi hijo:

Ernesto Carlos Martínez Villalpando

Con respeto e inmensa gratitud.

A mis padres:

Sr. Gregorio Martínez Jiménez

Sra. Ma. Eugenia Peza de Martínez

Con especial afecto a:

Mis hermanos

Familiares y

Amigos

## INDICE GENERAL

	Página
INDICE DE CUADROS	vi
INDICE DE CUADROS DEL APENDICE	vii
I.- INTRODUCCION - - - - -	1
II.- REVISION DE LITERATURA - - - - -	3
III.- MATERIALES Y METODOS - - - - -	11
3.1 Recolección de muestras de suelo - - - - -	11
3.2 Preparación de muestras de suelo - - - - -	11
3.3 Lavado y esterilización del material de laboratorio	12
3.4 Preparación del medio de cultivo - - - - -	15
3.5 Preparación de diluciones - - - - -	16
3.6 Siembra - - - - -	17
3.6.1 Método clásico - - - - -	17
3.6.2. Método MGC - - - - -	18
3.7 Análisis estadístico - - - - -	19
3.8 Recomendaciones generales - - - - -	20
IV.- RESULTADOS Y DISCUSION - - - - -	21
4.1 Conteo de colonias - - - - -	21
4.2 Análisis Físico-químico de las muestras de suelo. -	23
4.3 Análisis estadístico de los resultados - - - - -	26
V.- CONCLUSIONES - - - - -	32
VI.- RESUMEN - - - - -	36
VII.- BIBLIOGRAFIA - - - - -	38
VIII.- APENDICE - - - - -	42

## INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Composición del medio de cultivo propuesto por Thornton (1957). . . . .	15
2	Preparación de diluciones utilizadas en el método clásico y el MGC. . . . .	17
3	Resultados de la cuenta bacteriana en placa por los métodos clásico y MGC, con sus respectivas diluciones empleadas . . . . .	21
4	Resultados de los análisis granulométrico (porcentos de arena, limo y arcilla) y contenidos de Materia orgánica (M.O), Nitrogeno total ( $N_t$ ), Fósforo (P), Potasio (K), porcentos de Carbonatos totales (C.T) y Humedad gravimétrica (H), pH con relación de saturación 1:2, Conductividad eléctrica (C.E), practicados en 40 muestras de suelo. . . . .	24

## INDICE DE CUADROS DEL APENDICE

Cuadro		Página
1A	Prueba "t" de Student (Probabilidad=0.05), para los resultados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones $1 \times 10^{-7}$ y $1 \times 10^{-6}$ , para los métodos clásico (A) y FGC (B), respectivamente. 1980 . . . . .	43
2A	Análisis de Varianza . . . . .	45
3A	Prueba "t" de Student ( $P=0.05$ ), para los resultados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones $1 \times 10^{-6}$ y $1 \times 10^{-5}$ , para los métodos clásico (A) y FGC (B), respectivamente. 1980 . . . . .	46
4A	Análisis de Varianza . . . . .	48
5A	Prueba "t" de Student ( $P=0.05$ ), para los resultados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones $1 \times 10^{-5}$ y $1 \times 10^{-4}$ , para los métodos clásico (A) y FGC (B), respectivamente. 1980 . . . . .	49

6A	Análisis de Varianza . . . . .	51
7A	Prueba "t" de Student ( $P=0.05$ ), sin tomar en cuenta los datos disparados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones $1 \times 10^{-7}$ y $1 \times 10^{-6}$ , para los métodos clásico (A) y FGC (B), respectivamente. 1980 . . .	52
8A	Análisis de Varianza . . . . .	54
9A	Prueba "t" de Student ( $P=0.05$ ), sin tomar en cuenta los datos disparados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones $1 \times 10^{-6}$ y $1 \times 10^{-5}$ , para los métodos clásico (A) y MGC (B), respectivamente. 1980 . . .	55
10A	Análisis de Varianza . . . . .	57
11A	Interpretación de los resultados de análisis físico-químicos para los suelos estudiados. Laboratorio de Fertilidad de Suelos U.A.A.A.N. 1980. . . . .	58



## I. INTRODUCCION

La microbiología de suelos y especialmente la bacteriología de suelos, no es una disciplina nueva. Hace aproximadamente ocho décadas, se inició su estudio formal, por el interés de algunos investigadores de conocer las poblaciones bacterianas del suelo.

Los resultados de esos trabajos, sentaron las bases para su desarrollo científico e hicieron conocer que la corteza superficial de la tierra no es solamente una matriz físico-química estática, sino también un sistema biológico dinámico en equilibrio continuo, en el cual algunas sustancias no asimilables por las plantas, son transformadas en utilizables a través de la actividad microbiana.

A pesar de la gran importancia que tienen los microorganismos en la fertilidad de los suelos, su estudio ha sido relegado a un segundo plano, posiblemente por lo laborioso, tardado, poco preciso y costoso de los métodos existentes de análisis cuantitativo y clasificación de los microorganismos del suelo.

El recuento bacteriano en cajas de Petri ó método de dilución en placa, ha sido la forma tradicional de realizar aná

lisis cuantitativos de bacterias de suelos agrícolas; esta técnica tiene serias limitaciones de metodología y exactitud.

El método \*MGC tiene su origen en bacteriología médica y es el resultado de una serie de modificaciones realizadas por la autora a la técnica de Kass para urocultivos hasta llegar a recuentos bacterianos en medios líquidos (De la Garza y Zertuche, 1974). La técnica mencionada, por primera ocasión se utiliza en este tipo de trabajos, para conocer la población bacteriana en suelos agrícolas; esta adaptación nos presenta una alternativa para realizar dichos estudios bacteriológicos, con una mayor ventaja en cuanto a metodología y exactitud, lo que nos viene a abreviar tiempo, costos y un mayor rendimiento técnico, sin menoscabo de su calidad.

El objetivo del presente trabajo de investigación es hacer un análisis comparativo entre los métodos clásico y MGC propuesto, para observar las posibilidades de uso de éste último, para estudios cuantitativos de bacterias del suelo.

---

\* Las siglas MGC se refieren a Mercedes de la Garza Curcho, autora de este método.

## II. REVISION DE LITERATURA

La microbiología, a pesar de ser una ciencia nueva, ha contribuido más que ninguna otra en beneficio de la humanidad. Con los procesos microbiológicos se mejora la producción agrícola por mayor fertilidad de los suelos; la cual depende de la actividad de los microorganismos y por el control de numerosos patógenos de las plantas. Asimismo, cuando una bacteria se siembra en un medio de cultivo conveniente, sólido ó semisólido y a una temperatura y grado de humedad adecuados, se multiplicará rápidamente, produciendo un cúmulo de organismos cuya formación se denomina "colonia". Esto sucede por lo general entre las 24 y 48 horas de incubación, aunque algunas bacterias requieren de mayor tiempo. Teóricamente se considera que una colonia es producto de una sola célula bacteriana (Divo, 1971).

[Sin un mecanismo de mineralización, la superficie de la tierra hace mucho tiempo que habría sido agotada en los sulfatos, nitratos y bióxido de carbono (elementos necesarios para el crecimiento de las plantas) y la vida sobre la tierra habría cesado. Sin embargo, tal mecanismo existe en la forma de actividades metabólicas de los microorganismos, así, el nitrógeno, el azufre y el carbono, constantemente pasan

por ciclos de transformación casi perfectos, de la forma oxidada inorgánica hacia la forma reducida orgánica, repitiéndose continuamente este proceso. Estos ciclos y de ahí toda la vida sobre la tierra, dependen parcialmente de la acción microbiana (Jawetz, Melnick y Adelberg, 1977).

La fertilidad del suelo depende en gran parte de la actividad bacteriana. Las bacterias del suelo son esenciales para todos los procesos vitales, ya que sin los procesos de putrefacción, desintegración y mineralización, no habría descomposición de la materia vegetal y animal muerta, ni reducción de nitratos a nitritos y otros, respectivamente. La naturaleza y la magnitud de la población bacteriana del suelo dependen de las condiciones ambientales que la rodean. El desarrollo y reproducción de microorganismos se puede realizar en el laboratorio, utilizando medios de cultivo, a los cuales se les incorpora las sustancias nutritivas necesarias; con la humedad, presión osmótica, tensión superficial, que mejor convengan a los requerimientos específicos de las bacterias que se cultivan. Muchas bacterias requieren sólo los medios ordinarios de cultivo, otras necesitan medios especiales para ayudar a la identificación cuando las características del cultivo y las reacciones específicas son los factores determinantes (Bryan y colaboradores, 1974).

Las bacterias del suelo, son los más pequeños y numerosos microorganismos que viven libremente en el suelo; tomados colectivamente, su serie de capacidades autotróficas y heterotróficas no es igualada por ningún otro de los grupos principales de seres vivientes del suelo, generalmente, las bacterias del suelo son estudiadas teniendo en cuenta su participación en los ciclos del nitrógeno y del carbono o en otras transformaciones. También pueden realizarse estudios sobre su morfología y taxonomía, sus tolerancias ambientales, su distribución en el suelo y desde el punto de vista de sus relaciones bióticas con otros microorganismos o con plantas superiores. Con la metodología existente, la población bacteriana no puede determinarse con precisión en ninguna muestra dada de suelo, por lo que se efectúan estimaciones, no mediciones. Estas estimaciones se realizan en cultivos o mediante examen microscópico directo. El método que se emplea generalmente es la técnica de dilución en placa. Una primera suposición de la técnica, es que cada bacteria viable de la suspensión del suelo usada como inoculante, desarrollará una colonia visible durante la incubación (Clark, 1971).

La capa superior del suelo fértil (los primeros centímetros de la superficie), se ha descrito como un verdadero universo, en donde incontables criaturas (bacterias verdaderas, actinomicetos, algas, etc), viven y mueren sólo para ser reemplazadas continuamente por sus descendientes, en un proceso que se ha ido repitiendo durante millones de años. Las especies de microorganismos que se pueden cultivar de una muestra cualquiera de suelo y su número, varían considerablemente de acuerdo con las características del terreno, humedad, alimento, etc. Las distintas mezclas de sustancias nutritivas empleadas en el laboratorio para el cultivo de microbios, se denomina genéricamente medios de cultivo. Los cultivos en agar u otros medios sólidos en cajas de Petri, se llaman cultivos en placa (placas vertidas, placas por estría). Con frecuencia, cuando aludimos a las cajas de Petri, las llamamos simplemente placas (Burdon y Williams, 1978). Una célula viva se define como aquella capaz de dividirse. Generalmente se hace una enumeración viable determinando el número de células de una población capaces de dividirse y formar colonias. La enumeración viable se realiza tan frecuentemente en investigación y en la microbiología aplicada, que el conocimiento de este método es importante para

todo microbiólogo. La enumeración en placas es muy sensible porque en principio, cualquier célula viable, cuando se coloca en un medio apropiado origina una colonia, además permite la identificación positiva del organismo que se cuenta y su diferenciación en cuanto a forma, tamaño, textura y color, ya que en una mezcla se pueden encontrar varios tipos de organismos. Las enumeraciones viables están habitualmente sujetas a errores grandes y una enumeración precisa requiere gran atención para normalizar todos los aspectos de la técnica. Sin embargo, como se ha indicado, este método aporta una información que no puede obtenerse de ninguna otra manera (Brock, 1976).

La porción viviente del suelo, constituye apreciablemente menos del 1% del volumen total, sin embargo, es indudablemente esencial para la producción y para la fertilidad del suelo. Una determinación del número de bacterias viables en cultivo puro, es un procedimiento relativamente simple, por medio del recuento en placas o por otros métodos. Se torna complicado cuando se trata de un medio tan heterogéneo como es el suelo, en donde las técnicas bacteriológicas convencionales estiman solamente una porción del número total de bacterias, debido a que los requisitos de crecimiento para

muchas cepas son desconocidos. Los métodos de examen del suelo para cuentas viables arrojan a menudo resultados variables y los errores en el muestreo y en la preparación de la muestra, son frecuentemente mayores que las variaciones inherentes al procedimiento de recuento. El recuento en placas probablemente subestima la densidad real de la población bacteriana, ya que muchas bacterias del suelo no se desarrollan en los medios convencionales. Sin embargo, la viable bilidad y el potencial bioquímico del microorganismo detectado como colonias sobre agar, es en la actualidad el modelo ecológico más útil (Alexander, 1977).

Son varios los factores que determinan la precisión del método del recuento bacteriano en placas, entre los que destacan principalmente: a) el uso de un medio adecuado, b) la temperatura de incubación debe ser cuidadosamente controlada, c) el tiempo de incubación y d) la manera de contar las colonias. Un medio de cultivo satisfactorio debe ser uniforme, debe dar resultados reproducibles y suprimir el desarrollo de las grandes colonias que se extienden por el mismo medio (Allen, 1957).

El número y la clase de los microorganismos del suelo dependen de la naturaleza del mismo, la profundidad, la estación



del año, la reacción pH, la cantidad de materia orgánica, la temperatura y la humedad, entre otros. Los microorganismos bacterianos se encuentran sobre todo en la capa de materia coloidal que envuelve las partículas de suelo. Las bacterias en contacto con los coloides del suelo adsorben cationes y es difícil eliminar ó separar los microorganismos de esta capa coloidal, es por éso que el número de colonias que aparezca en una placa de agar no nos da idea exacta de la población de una muestra de suelo. Así como tampoco hay un solo medio de cultivo satisfactorio para el desarrollo de todas las especies que el suelo contiene. Para la determinación cuantitativa de los microorganismos del suelo, se emplean generalmente dos métodos: el de la placa de agar y el del microscopio ó directo, el primero es el más usado. - El número de microorganismos de un suelo, incluso en una extensión pequeña, no es uniforme. Para aumentar la exactitud del análisis, hay que tomar varias muestras de una misma parcela y considerar como una cifra representativa el promedio de todas las determinaciones. Un simple recuento puede considerarse desprovisto de valor para computar la población bacteriana del suelo examinado (Salle, 1961).

Por lo general, las cifras obtenidas con los métodos directos ó microscópicos de recuentos bacterianos, son mucho más altas que las obtenidas con los métodos indirectos. Debido a que en el primer caso se toman en cuenta todos los microorganismos, sin diferenciar si se encuentran con vida o sin ella, no obstante las desventajas que presenta este método, las cuentas obtenidas con su ayuda son de gran utilidad y se consideran complementarias de las obtenidas con el método de placas, el cual los analistas consideran más satisfactorio para determinar la abundancia relativa de los microorganismos (Leal, 1955).¶

### III. MATERIALES Y METODOS

El presente trabajo de investigación, se llevó a cabo en el laboratorio de Fertilidad de Suelos de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro", localizada en Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

#### 3.1 Recolección de muestras de suelo.

Para este trabajo, se tomaron cuarenta muestras de suelo de diferentes terrenos agrícolas del área de influencia de la misma Universidad (bajío, sur de la estación agrometeorológica, etc) en diferentes épocas del año recolectando cuatro muestras por semana a una profundidad de 30 cm, por ser esta zona donde ejercen más influencia los microorganismos.

#### 3.2 Preparación de muestras de suelo.

Inmediatamente después de obtenidas las muestras, se trasladaron al laboratorio, donde se tamizaron con malla de 2 mm de diámetro. Posteriormente se pesaron dos muestras de 10 g de suelo, una de las cuales se usa en la inoculación y otra se pone a secar en la estufa a  $110^{\circ}$  C, por 24 horas, para determinar el porcentaje de humedad por el método gravimétrico (Narro, 1979). El resto de la muestra cribada, se uti

lizó para realizar los análisis físico-químicos de rutina en el laboratorio (textura, N.C., pH, C.E, carbonatos totales, N, P y K), por métodos conocidos (Chapman y Pratt, 1979).

### 3.3 Lavado y esterilización del material de laboratorio.

Es imprescindible para el trabajo de investigación en microbiología, el lavar y esterilizar previamente el material y equipo de laboratorio que se va a utilizar, para evitar contaminaciones; los medios de cultivo empleados deben ser estériles también.

Primeramente, la cristalería usada se lava perfectamente con agua y jabón, es decir, tanto las cajas de Petri como las de Felsen, se lavan con jabón y en seguida se sumergen en una solución de hipoclorito de calcio, por 60 minutos, se sacan y se enjuagan con agua corriente, se secan y se envuelven en papel de estrasa. Asimismo se lavan las pipetas serológicas (10 ml y de 1 ml), de manera que no quede nada adherido en su interior, después se coloca un tapón de algodón en la boquilla de cada una de las pipetas y se envuelven en papel de estrasa. Igualmente los \*boliagitadores se enjuagan en agua corriente y se colocan dentro de un tubo

---

\* El boliagitador es un invento de la autora del método RGC y su función es sustituir el asa de cultivo.

de ensayo, tapándolo con algodón. La punta esférica del bolíagitador permite esparcir el inóculo de manera uniforme y sin hacer estrias sobre la superficie del medio de cultivo, en seguida se procede a esterilizar el material.

Existen diversos métodos para esterilizar (Divo, 1971), los aquí empleados fueron:

- a) El del calor húmedo. Este tiene gran poder de penetración y causa la muerte de los microorganismos por coagulación de las proteínas y del protoplasma.

#### Procedimiento:

Una vez lavado el material de vidrio, se coloca sobre la parrilla de la olla de presión, la cual debe tener un poco de agua (que no sobrepase la parrilla), se tapa la olla y se coloca al fuego dejando abierta la válvula de escape de vapor, cuando el vapor salga uniforme y constante, se cierra la válvula y se deja que la presión suba a 15 libras por pulgada cuadrada. En este momento, se empieza a tomar tiempo, pues se debe mantener una presión de 15 libras por pulgada cuadrada durante 15 minutos. Para ésto, será necesario disminuir el fuego y vigilar cuidadosamente la presión a fin de que se mantenga constante; después del tiempo indicado se retira la olla del fuego y se espera a que baje la

presión a cero, se abre la válvula de escape de vapor y se quita la tapadera de la olla y se extrae el material ya esterilizado, en caso de que se humedezca la envoltura del papel de estrasa, se coloca el material en el horno a 60-70°C para secarlo y una vez seco está listo para utilizarlo.

b) Radiaciones ultravioleta. Este método actúa realizando modificaciones moleculares, con cambio de funcionalidad intracelular por absorción de la radiación electromagnética, especialmente al nivel de DNA nuclear y el RNA citoplasmático.

#### Procedimiento:

Una vez lavadas las cajas de Felsen, se colocan por espacio de 60-120 minutos en una cámara, donde se tiene una lámpara que emite radiación ultravioleta. Una vez pasado el tiempo indicado, se extraen las cajas y se tienen listas para usar. Este tipo de esterilización se utilizó preferentemente en cajas de Felsen desechables (material de plástico), para recuperarlo y volverlo a utilizar, dando un buen resultado.

#### 4 Preparación del medio de cultivo.

El medio de cultivo utilizado fue el de Thornton (Allen, 1957), cuya composición se describe en el cuadro 1.

Cuadro 1. Composición del medio de cultivo propuesto por Thornton (1957).

---

Fosfato de Potasio Dibásico ( $K_2HPO_4$ )	1.0	g
Sulfato de Magnesio ( $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ )	0.2	g
Cloruro de Calcio ( $CaCl_2$ )	0.1	g
Cloruro de Sodio (NaCl)	0.1	g
Tricloruro de Hierro ( $FeCl_3$ )	0.002	g
Nitrato de Potasio ( $KNO_3$ )	0.5	g
Asparagina	0.5	g
Mannitol	1.0	g
Agar	15.0	g
Agua destilada	1000	ml

---

El procedimiento de preparación consiste en disolver el fosfato y el nitrato de potasio con la asparagina en un poco de agua destilada, se agrega el cloruro de calcio, el cloruro de sodio y el tricloruro férrico. Agregamos el agar, di-

solviéndolo por calentamiento a  $100^{\circ}$  C, dejándolo enfriar posteriormente a  $60^{\circ}$  C y se añade el manitol. Ajustar con azul de bromotimol necesario para tener un pH de 7.4. Colocamos en frascos de 75 ml y se esteriliza por calor húmedo, como se describió anteriormente.

### 3.5 Preparación de diluciones.

Se toman los 10 g de suelo previamente pesados, de la muestra para análisis. Se prepara una serie de 7 botellas con 90 ml de agua de grifo y estéril. En la primera botella se colocan los 10 g de suelo y se hace la primera suspensión y se agita por 3 minutos a 150 R.P.M. en un agitador mecánico para homogeneizarla. De la primera botella bien homogeneizada se transfieren 10 ml. por medio de una pipeta serológica a una segunda botella, la cual se agita mecánicamente por 3 minutos. De esta segunda botella se toma la misma cantidad y se transfiere a una tercera y así sucesivamente, hasta obtener una dilución  $10^{-7}$  (cambiando pipeta en cada dilución y tomando las mismas precauciones de homogeneización).



Cuadro 2. Preparación de diluciones utilizadas en el método clásico y el MGC.

Muestra de Suelo	H <sub>2</sub> O	Dilución
10 g -----> +	90 ml =	1:10 ó $1 \times 10^{-1}$
10 ml (1:10) -----> +	90 ml =	1:100 ó $1 \times 10^{-2}$
10 ml (1:100) -----> +	90 ml =	1:1000 ó $1 \times 10^{-3}$
10 ml (1:1000) -----> +	90 ml =	1:10000 ó $1 \times 10^{-4}$
10 ml (1:10000) -----> +	90 ml =	1:100000 ó $1 \times 10^{-5}$
10 ml (1:100000) -----> +	90 ml =	1:1000000 ó $1 \times 10^{-6}$
10 ml (1:1000000) -----> +	90 ml =	1:10000000 ó $1 \times 10^{-7}$

### 3.6 Siembra.

La siembra de los inóculos se realizó en forma simultánea para los dos métodos.

#### 3.6.1 Método clásico.

En el método clásico se siembran inóculos de 1 ml (con una pipeta serológica de 1 ml), de las diluciones  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$  y  $10^{-7}$ , estos inóculos se colocan en el fondo de las

cajas de Petri estériles, usando 4 cajas para cada dilución (repeticiones), sumando 16, en seguida se les vierte el medio de Thornton, previamente fundido en baño maría a  $45^{\circ}$  C de temperatura, aproximadamente, se agitan las cajas con movimientos circulares contrarios a las manecillas del reloj, hasta que se solidifique el medio de cultivo.

Se etiquetan las cajas y se ponen a incubar en una estufa bacteriológica a una temperatura entre 25 y  $30^{\circ}$  C, posteriormente se hacen recuentos de colonias (a simple vista ó con una lupa), desechando aquellos conteos marcados como innumerables (más de 300 colonias por caja).

### 3.6.2 Método MGC.

En el método MGC, se utilizan 4 placas de Felsen (una por cada cuatro de Petri, usadas en el método clásico), con el medio de Thornton servido e incubado cuando menos 24 horas antes de su utilización, para con ello comprobar su esterilidad. Utilizando pipetas de 1 ml en cada cuadrante (las cajas de Felsen están divididas en 4 cuadrantes), se siembra un inóculo de 0.1 ml de las diluciones  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$  y  $10^{-6}$ , esparciendo el inóculo con un boliagitador estéril, pudiendo utilizar únicamente uno por caja, si en ésta se pone una misma dilución en todos los cuadrantes, de otra mane

ra podremos utilizar uno para diferentes diluciones en la misma caja (una dilución diferente por cuadrante), si comenzamos a extender el inóculo del cuadrante en donde la dilución es mayor hasta el cuadrante donde la dilución es menor, siempre que el ejecutante tenga práctica para no salpicar los cuadrantes adjuntos.

Después de etiquetar las cajas, se colocan en donde se encuentran las cajas de Petri, ésto con el fin de que el tiempo de incubación, temperatura y demás condiciones generales sean las mismas para ambos métodos, asimismo el recuento de colonias se realiza simultáneamente al método clásico, es decir, en la misma fecha, desechando aquellos conteos marcados como innumerables.

Ambos métodos se basan en el hecho de que una célula bacteriana dará origen, al reproducirse, a una colonia bacteriana o dicho de otra manera, que cada colonia derivará de una sola célula bacteriana.

### 3.7 Análisis estadístico.

El análisis estadístico para comparar ambos métodos, se realizó mediante una prueba de "t" de Student para una probabilidad de 0.05 .

Se establecieron cuatro repeticiones para cada dilución empleada, en cada una de las cuarenta muestras de suelo recolectadas; efectuándose por lo tanto 640 observaciones para cada uno de los métodos empleados, siendo un total de 1280 observaciones para los dos métodos.

### 3.8 Recomendaciones generales.

Se sugiere cuando se realicen trabajos subsecuentes de tipo comparativo en microbiología de suelos, realizar un control en:

- a. El lavado y esterilización del material que se vaya a emplear.
- b. Contar con un sitio adecuado y exclusivo, donde se pueda realizar el trabajo experimental y que no influyan efectos de contaminación y otros en los resultados.

#### IV. RESULTADOS Y DISCUSION

##### 4.1 Conteo de colonias.

Efectuadas las diluciones para cada muestra de suelo, se realizó la siembra del inóculo en sus respectivas placas (Felsen y Petri) y se colocaron éstas en incubación hasta completar un período de 120 horas. Una vez pasado el tiempo mencionado, se realizó el recuento del número de colonias tanto en las placas de Petri como en las de Felsen, para cada una de las repeticiones, por los métodos clásico y BGC, respectivamente; los resultados obtenidos para cada una de las diluciones utilizadas, con excepción de los recuentos denominados innumerables (aglomeración excesiva de colonias que impide contar), en ambas técnicas para cada una de las 40 muestras de suelo analizadas, se reportan en el cuadro 3.

Cuadro 3. Resultados de la cuenta bacteriana en placa por los métodos clásico y BGC, con sus respectivas diluciones empleadas.

No. de muestra de suelo	* Conteo de colonias bacterianas en placas de Petri.			* Conteo de colonias bacterianas en placas de Felsen.		
	Diluciones			Diluciones		
	$1 \times 10^{-7}$	$1 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-6}$	$1 \times 10^{-5}$	$1 \times 10^{-4}$
1	3.50	18.50	103.00	2.00	3.50	27.75
2	2.75	8.75	92.25	0.75	26.75	28.00
3	3.00	15.75	154.25	0.00	3.25	48.00
4	1.25	25.50	182.50	0.50	15.75	124.25

Continuación Cuadro 3.

5	14.50	26.25	114.50	1.75	7.25	75.50
6	14.50	26.25	117.00	3.75	9.00	50.25
7	14.25	24.00	95.50	3.25	5.00	45.75
8	7.25	37.50	271.50	5.75	19.00	108.25
9	5.00	41.75	225.50	7.00	16.00	139.00
10	15.25	26.25	183.50	8.50	16.50	86.25
11	10.25	23.25	151.75	2.75	9.00	62.50
12	7.00	24.75	228.75	3.00	16.50	93.75
13	1.25	12.25	118.75	1.00	7.25	39.25
14	4.25	28.75	197.50	1.75	8.75	50.25
15	2.00	16.75	110.50	2.00	3.00	36.25
16	4.75	14.25	170.25	2.25	4.50	56.00
17	5.00	42.75	286.25	6.25	28.50	117.50
18	3.50	31.00	297.00	8.00	24.00	108.25
19	3.75	41.75	294.50	6.75	39.75	135.25
20	8.33	22.00	179.50	1.75	16.00	91.50
21	6.25	21.50	159.00	1.75	5.00	80.75
22	2.50	19.50	166.75	4.75	13.50	87.50
23	5.75	23.50	188.00	15.25	23.00	141.25
24	9.00	59.00	379.25	4.75	18.25	63.50
25	20.00	31.25	126.00	7.25	15.00	55.00
26	2.50	19.00	179.50	3.25	4.75	28.25
27	8.75	22.75	126.25	4.00	7.00	58.25
28	7.75	24.25	184.75	1.33	16.75	72.75
29	5.00	16.00	131.75	3.25	12.50	46.00
30	3.25	15.00	138.50	4.00	12.75	75.25
31	6.50	18.25	159.75	3.00	11.00	72.75
32	8.75	28.25	156.75	7.25	20.25	42.00
33	4.00	15.75	211.00	4.00	16.75	45.75
34	3.75	30.50	200.50	4.50	24.50	113.25
35	2.75	14.25	139.00	4.75	12.00	29.50
36	2.00	20.25	182.50	4.50	15.25	72.75
37	7.25	34.50	228.25	3.00	20.75	102.50
38	7.75	40.00	267.00	7.50	46.50	176.75
39	5.00	31.50	209.50	4.25	26.75	148.25
40	7.25	31.50	276.50	7.00	34.50	196.50

\* Cada valor es el promedio de 4 repeticiones por dilución

y por muestra. Las fracciones de los resultados no se redondearon con el fin de ser más fidedignos en los cálculos estadísticos.

#### 4.2 Análisis físico-químico de las muestras de suelo.

Conforme a lo señalado por la mayoría de los autores, sabemos de la influencia que ejercen las condiciones físicas y químicas de los suelos sobre su población bacteriana y la repercusión que tienen algunas de estas condiciones cuando se realiza el recuento bacteriano por el método de dilución en placa. Principalmente afectan las proporciones de arena, limo y arcilla y el contenido de humedad del suelo.

El conocimiento de estos datos nos permitió tener más elementos de juicio al realizar el análisis comparativo efectuado en el presente trabajo de investigación. Las muestras de suelo se tomaron de estratos 0-30 cm de profundidad, por ser este horizonte donde ejercen más influencia y son más abundantes los microorganismos. Los resultados de los análisis físico-químicos practicados a las muestras de suelo bajo estudio, se presentan en el cuadro 4.

Cuadro 4. Resultados de los análisis granulométrico (porcentos de arena, limo y arcilla) y contenidos de Materia orgánica (M.O), Nitrógeno total (N<sub>T</sub>), Fósforo (P), Potasio (K), porcentos de Carbonatos totales (C.T) y Humedad gravimétrica (H), pH con relación de saturación 1:2, Conductividad eléctrica (C.E), practicados en 40 muestras de suelo.

No. de muestra	Arena %	Limo %	Arcilla %	M.O %	N Kg/ha	P Kg/ha	K Kg/ha	pH 1:2	C.T %	C.E Mmhos/cm	Humedad gravimétrica.
1	33.6	39.2	27.2	1.6	38.4	---	---	8.0	---	---	4.4
2	35.6	35.2	29.2	1.4	33.6	---	---	8.1	---	---	4.0
3	41.6	33.2	25.2	1.6	38.4	---	---	8.0	---	---	11.9
4	31.6	33.2	35.2	2.5	60.0	---	---	8.0	---	---	2.9
5	47.6	27.2	25.2	3.7	88.8	---	---	8.1	---	---	5.3
6	53.6	25.2	21.2	2.5	60.0	---	---	8.2	---	---	4.3
7	47.6	25.2	27.2	2.5	60.0	---	---	8.2	---	---	4.8
8	52.5	27.5	20.0	2.6	62.4	67.5	+900	7.5	39	1.8	4.2
9	48.0	22.0	30.0	2.2	52.8	45	+900	8.2	42	0.8	9.9
10	46.0	24.0	30.0	2.9	69.6	53.1	+900	7.4	64	2.2	31.6
11	58.0	26.0	16.0	3.0	72.0	42.8	+900	8.1	43.5	1.8	7.5
12	34.0	16.0	50.0	4.2	100.8	54.0	+900	8.2	47.5	1.5	11.1
13	22.0	24.0	52.0	5.1	122.4	67.5	+900	8.1	41.5	1.8	11.6
14	40.0	32.0	28.0	4.3	103.2	86.4	+900	8.1	48.5	2.0	10.9
15	22.0	26.0	52.0	2.7	64.8	57.6	+900	8.1	39.5	2.0	10.8
16	36.0	38.0	26.0	1.2	28.8	20.7	+900	7.3	0.5	0.85	17.9
17	40.0	28.0	32.0	0.73	17.5	20.7	+900	8.1	0.5	0.80	13.5
18	38.0	28.0	34.0	1.0	24.0	23.8	+900	8.1	0.4	1.0	11.1
19	36.0	30.0	34.0	0.98	23.5	16.6	+900	8.2	4.5	1.0	22.4
20	54.0	26.0	20.0	2.2	52.8	34.6	+900	8.3	48.5	0.10	8.0

continúa



## Continuación Cuadro 4.

21	46.0	22.0	32.0	2.7	64.8	45.0	+900	8.1	53.0	1.0	4.7
22	38.0	28.0	34.0	1.3	31.2	65.7	+900	7.9	42.0	2.0	4.5
23	23.6	44.4	32.0	3.2	76.8	49.0	+900	7.7	49.5	0.9	3.9
24	41.6	24.4	34.0	2.2	52.8	57.6	+900	8.3	57.5	0.3	2.7
25	43.6	32.4	24.0	0.48	11.5	41.4	+598	8.1	51.0	0.49	4.0
26	35.6	30.4	34.0	1.0	24.0	42.8	+544	8.2	61.5	0.37	2.5
27	37.6	32.4	30.0	1.2	28.8	23.7	+723	8.2	58.5	0.51	3.5
28	53.6	22.4	24.0	2.9	69.6	49.0	+900	8.2	38.5	0.81	4.6
29	45.6	24.4	30.0	1.8	43.2	42.8	+900	8.1	33.0	0.85	3.7
30	47.6	24.4	28.0	2.4	37.6	57.6	+900	8.3	71.5	0.98	4.0
31	49.6	26.4	24.0	2.4	57.6	49.0	+900	8.3	37.5	0.71	3.0
32	35.6	28.4	36.0	3.7	88.8	103.5	+900	8.2	53.5	1.5	4.1
33	35.6	28.4	36.0	1.8	43.2	92.2	+900	8.2	57.5	1.5	2.9
34	45.6	28.4	26.0	3.7	88.8	112.5	+900	8.3	59.5	1.2	5.2
35	39.6	26.4	34.0	3.0	72.0	112.5	+900	8.3	55.5	1.6	3.6
36	35.6	24.4	40.0	3.9	93.6	63.7	+900	8.2	32.5	1.8	4.4
37	39.6	30.4	30.0	4.3	103.2	57.6	+900	8.2	20.0	0.79	3.8
38	25.6	30.4	44.0	0.68	16.3	49.0	+900	8.2	8.5	2.0	12.1
39	29.6	28.4	42.0	4.1	98.4	63.9	+900	8.2	13.5	2.0	7.6
40	39.6	30.4	30.0	3.4	81.6	112.5	+900	8.2	24.5	2.6	12.3

Analizando el Cuadro 4, se puede observar que las texturas varían de migajón arcilloso a migajón arcillo-arenoso, con algunas excepciones en que son francos, es decir, la mayoría de los suelos tienen un porcentaje considerable de arcilla, siendo suelos en su gran mayoría de textura fina.

En lo que se refiere a la M.C ésta varía de 0.40% hasta 5.1%, con una media de 2.52%, por lo que se consideran suelos medianamente ricos.

Respecto al contenido de nitrógeno en general, los suelos son ricos en este elemento con algunas excepciones. Asimismo son medianos en contenido de fósforo y extremadamente ricos en potasio.

El contenido de carbonatos totales varía de medio a muy alto.

El pH de los suelos muestreados es en general medianamente alcalino.

La determinación de la conductividad eléctrica en las muestras nos señala que, son suelos sin problemas de salinidad.

#### 4.3 Análisis estadístico de los resultados.

Los resultados del análisis estadístico se muestran en los cuadros 1A, 3A y 5A del apéndice.

Una vez realizada la prueba de "t" de Student para un nivel

de probabilidad de 0.05 (Allen, 1957), sobre el promedio del número de colonias bacterianas resultantes en ambos procedimientos (efectuado en forma separada para cada dilución). encontramos que existe significancia entre ambos (cuadros 2A, 4A y 6A del apéndice), es decir, a que aparentemente el \*método A es significativamente mejor que el \*método B, sin embargo, esta aparente significancia no es debida a que el método B comparado no funciona, más bien se debe a que hubo una influencia mayor de contaminación del material empleado en el método A, lo que lo favoreció en la prueba "t", debido a que el lavado y esterilización no se afectuaron adecuadamente en algunos casos, además de otros aspectos que se mencionarán posteriormente. Hay que hacer notar que la condición de esterilidad es indispensable en los trabajos de investigación en microbiología.

El método B propuesto es de mayor fineza microbiológica por que permite tener la plena certeza de que el material de la laboratorio empleado (cajas de Felsen, medio de cultivo, etc) es estéril, lo que se comprueba incubándose 48 horas como mínimo antes de su utilización y desechando el material que presenta indicios de contaminación.

---

\* Se llama A al método clásico y B al método MGC.

La falta de seguridad en la esterilidad del material empleado es una de las limitantes del método A. Además, es mayor la influencia ejercida por las condiciones ambientales del lugar en que se llevó a cabo el experimento, donde hubo constante presencia de partículas de suelo diseminadas en el ambiente, producto del continuo análisis físico-químico de muestras ajenas al experimento y que el desarrollo de la técnica favorece al someter el material utilizado a un mayor trasiego, pues las cajas se destapan en mayores ocasiones, provocando que los recuentos de colonias sean más altos, por lo que la significancia que se presenta en favor del método A no es confiable.

Si eliminamos los recuentos de colonias bacterianas cuyos datos están disparados del promedio muestral en ambos procedimientos (A y B), salvo algunas excepciones coinciden cuando menos en 2 de las comparaciones efectuadas, como se puede observar en los cuadros 7A y 9A del apéndice.

Al realizar la prueba de "t" para una probabilidad de 0.05, eliminando los datos disparados (cuadros 8A y 10A del apéndice), observamos que no existe diferencia significativa entre las dos medias de ambas técnicas.

Naturalmente, el método B tiene sus limitaciones, ya que

cuando se emplean suspensiones cuya dilución es mínima y cuya textura de la muestra de suelo en suspensión es considerada como "fina", es decir, con un porcentaje alto de arcilla coloidal como lo muestra el cuadro 11A del apéndice, es lógico suponer que el empleo de 1 ml de suspensión en el método A (dilución  $1 \times 10^{-4}$ ), contendrá un mayor porcentaje de partículas de arcilla coloidal que los 0.1 ml empleados en el método B (dilución  $1 \times 10^{-3}$ ) y por consecuencia, mayor concentración de células bacterianas adsorbidas, fenómeno que va disminuyendo conforme se diluye la suspensión empleada. Este hecho nos comprueba otra de las teorías más aceptadas, en relación a la atracción que ejercen las partículas de arcilla coloidal, más que ninguna otra, sobre las células bacterianas en la solución del suelo, debido a las cargas eléctricas existentes entre ambas y por la mayor área superficial que presenta la arcilla coloidal.

La limitación antes expuesta nos hace pensar que, las mayores diluciones de la suspensión a emplear cuando se trabaje con el método A, podrán ser las:  $1 \times 10^{-4}$  y  $1 \times 10^{-5}$ , aunque será preciso realizar más investigación para tener mayor certeza.



El método B ofrece las siguientes ventajas:

- a. Permite confirmar la esterilidad del material de laboratorio, ya que éste se debe incubar durante 48 horas antes de su utilización, para obtener una superficie seca y absorbente, aumentando su exactitud.
- b. Es más rápido porque, las placas se preparan de antemano, tardando menos tiempo al desarrollar el trabajo.
- c. Es más económico porque, se utiliza menos material (placas, medios de cultivo) y no requiere de aparatos especiales.
- d. Ocupa menos espacio en la estufa incubadora, lo que nos permite trabajar mayor número de muestras ó repeticiones al mismo tiempo.
- e. Es más práctico porque, no es necesario tener medios de cultivo fundidos a una temperatura de  $45^{\circ}$  C, ni hay que agitar las placas para que se mezcle el inóculo.
- f. El recuento de colonias bacterianas es más fácil porque, éstas crecen en un mismo plano, ya que la siembra se practica en la superficie.
- g. Permite hacer estudios posteriores. Si nos interesa estudiar la morfología colonial o las formas microbianas, podemos ver a las primeras directamente, ya que están en

la superficie y en el segundo caso, podemos tomar muestras con el asa de cultivo para hacer frotos y colorearlos para hacer observaciones microscópicas. Además, en caso de que nos interese un determinado microorganismo, podemos hacer subcultivos a partir de una sola colonia.

Considerando las ventajas enumeradas anteriormente, podemos decir que, el método B propuesto se puede considerar como una alternativa más y desde un punto de vista práctico, al realizar trabajos encaminados a conocer la población bacteriana del suelo.

Asimismo, de manera complementaria y en base a las determinaciones obtenidas en el laboratorio de las diferentes muestras de suelo estudiadas y que se muestran en el cuadro 11A del apéndice, se hizo el dictamen de las demás condiciones generales que no influyeron en el estudio comparativo llevado a cabo, pero que sin embargo, juegan un papel importante en la productividad de los suelos, por formar parte de su matriz físico-química y que para otro tipo de trabajos de investigación en el campo de la microbiología de suelos es necesario considerar.



## V. CONCLUSIONES

Conforme a las condiciones en que se desarrolló el presente trabajo de investigación, a los resultados obtenidos y a la discusión que de ellos se hace, se derivan las siguientes conclusiones:

1. La significancia encontrada al analizar estadísticamente (prueba "t" de Student  $P=0.05$ ), los resultados encontrados con los métodos clásico y MGC nos dice que ambas técnicas no son iguales.
2. El método clásico tiene una mayor influencia a la contaminación ejercida por las condiciones ambientales, lo que provoca una sobrestimación en el número de colonias bacterianas observadas.
3. El método MGC por ser de una mayor fineza microbiológica, permite tener la plena certeza de esterilidad, por lo que el conteo de colonias bacterianas es más real.
4. El método MGC, permite comprobar la teoría relacionada con la atracción que ejerce la arcilla, más que otras partículas del suelo, sobre las células bacterianas en suspensión.



5. En lo que se refiere a las ventajas del método MGC sobre el clásico, se observaron las siguientes:
- a. En exactitud. Permite confirmar la esterilidad plena del material de laboratorio, ya que éste se debe incubar durante 48 horas antes de su utilización, para obtener una superficie seca y absorbente, aumentando su exactitud.
  - b. En rapidez. Esta técnica es más rápida porque, al tener preparado el material necesario de antemano, el tiempo utilizado es menor, de 15-20 minutos aproximadamente por cada muestra.
  - c. En facilidad. El recuento de colonias bacterianas es más fácil porque, éstas crecen en un mismo plano ya que la siembra se practica en la superficie.
  - d. Más práctico. Es más práctico porque, no es necesario tener medios de cultivo fundidos a una temperatura de 45°C, ni hay que agitar las placas para que se mezcle el inócuolo y se solidifique el medio.
  - e. En economía. 1) Es más económico porque, se utiliza menos material (placas, medios de cultivo) y no requiere de aparatos especiales y 2) ocupa menos espacio en la estufa de incubación, lo que nos permite colocar un mayor

número de repeticiones al mismo tiempo.

- f. Otras ventajas. 1) Permite evaluar la eficiencia del auxiliar de laboratorio, en lo que se refiere a la calidad del lavado y esterilización del material empleado.
- 2) Permite hacer estudios posteriores. Si nos interesa estudiar la morfología colonial o las formas microbianas, podemos ver las primeras directamente, ya que están en la superficie y en el segundo caso, podemos tomar muestras con el asa de cultivo para hacer frotos y colorearlos y efectuar observaciones microscópicas. Además en el caso que nos interese un determinado microorganismo, podemos hacer subcultivos a partir de una sola colonia.
6. Considerando sus ventajas y tomando en cuenta sus limitaciones podemos decir que, para fines prácticos el método FGC tiene posibilidad de tomarse en cuenta como una alternativa más para realizar trabajos cuyo objetivo sea conocer la población bacteriana de los suelos agrícolas, con fines de productividad.

Como corolario al presente trabajo, creemos necesario decir que, por la estrecha relación que tiene la actividad de los microorganismos, aunado a las diversas características edá-



ficas, hidrológicas y climáticas, en relación a la fertilidad de los suelos. cualquier inversión y esfuerzo que se realice en el campo de la investigación de la microbiología de suelos, se justifica ampliamente por la perspectiva que nos presenta, de conocer la influencia que ejerce sobre la productividad de los suelos agrícolas.

## VI. RESUMEN

El presente trabajo fue conducido en el laboratorio de Fertilidad de Suelos de la U.A.A.A.N. durante los meses de julio a diciembre de 1980, para evaluar las posibilidades del método PGC utilizado hasta hoy en Bacteriología Clínica, como un recurso para realizar estudios conducentes a conocer la población bacteriana de los suelos agrícolas.

La prueba experimental se realizó en forma comparativa, entre el método mencionado y el método clásico de dilución en placa, desarrollando ambas técnicas en forma simultánea y bajo iguales condiciones generales de temperatura, tiempo de incubación, medio de cultivo y muestra de suelo.

Las muestras de suelo utilizadas fueron colectadas en terrenos agrícolas dentro del área de influencia de la misma universidad.

En el análisis estadístico de los métodos probados (prueba de "t" de Student  $P=0.05$ ), se encontró diferencia significativa en el número de colonias contado, lo cual fue debido a condiciones de contaminación y otros aspectos y no a la bondad de la metodología empleada, como se comprobó posteriormente.

Las ventajas que presenta el método MGC sobre el método clásico son: economía, rapidez, exactitud, facilidad de manejo y otras.

Su limitación principal se observa cuando se trabaja con suelos cuya textura es muy fina y la dilución empleada es muy concentrada o poco diluida.

Se concluyó que, para fines prácticos, dadas las ventajas que ofrece, el método MGC tiene buenas posibilidades para trabajos en que se requiera conocer la población bacteriana de los suelos agrícolas.



## VII. BIBLIOGRAFIA

1. Alexander, M. 1977. Introduction to Soil Microbiology. John Wiley and Sons, Inc. New York. P. 16-33.
2. Allen, C.M. 1957. Experiments on Soil Bacteriology. Burgess Publishing Co. Minnesota. P. 5, 77.
3. Brock, T.D. 1976. Biología de los Microorganismos. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. P. 179-181.
4. Bryan, A.H., C.H.A., Bryan y C.H.G., Bryan. 1974. Bacteriología. C.E.C.S.A. México. P. 97-169.
5. Burdon, L.K. y F.R., Williams. 1978. Microbiología. Publicaciones Cultural. México. P. 82-91.
6. Burgues, A. y F.R., Clark. 1971. Biología del Suelo. Ediciones Omega, S.A. Barcelona. P. 27-29.
7. Carpenter, C.F. 1969. Microbiología. Editorial Intera-mericana. México. P. 20, 93, 278.
8. Carroll, W. J., Frazier y B., Wilson. 1965. Microbiología General y Aplicada. Ediciones Salvat. México. P. 242.
9. Chapman, H.D. y F.P., Pratt. 1979. Métodos de Análisis para Suelos, Plantas y Aguas. Editorial Trillas, S.A. México.

10. De la Garza Curcho, M. 1974. Modificación I.M.S.S. a la Técnica de Kass en Brocultivos. Rev. Méx. de Urología. 35:2. 181-186.
11. De la Garza Curcho, M. y M.M., Zertuche. 1973-1974. Técnica MOC para recuentos bacterianos en medios líquidos. Inédito.
12. Divo, A. 1971. Microbiología Médica. Editorial Interamericana. México. P. 8-33, 414-415.
13. Harrigan, W.F. y M.E., Cance. 1966. Laboratory Methods in Microbiology. Ac. Press. London, New York.
14. Jawetz, E., J.L., Melnick y E.A., Adelberg. 1977. Manual de Microbiología Médica. Editorial El Manual Moderno. México. P. 77-103.
15. Leal, J.J. 1955. Análisis Microbiológicos de Suelos, Tesis Profesional. Facultad de Ciencias Químicas. Universidad de Nuevo León. P. 11, 12.
16. Martínez, M.E. 1975. El Compost. su valor como material orgánico y la importancia de su aplicación en suelos agrícolas. Tesis Profesional. Escuela de Agricultura. Universidad de Guadalajara. P. 5-19.

17. Marro, F.L. 1979. Apuntes del curso de Física de Suelos. Colegio de Graduados U.A.A.A.N. Inédito.
18. Ostle, B. 1977. Estadística Aplicada. Editorial Limusa, S.A. México. P. 131-184.
19. Prater, D. and E.C., Schidt. 1965. Experimental Soil Microbiology. Burgess Publishing Co. Minnesota.
20. Reyes, C.F. 1980. Diseño de Experimentos Aplicados. Editorial Trillas. México. P. 83-93.
21. Salle, W.B. 1961. Bacteriología. Editorial Gustavo Gili. España. P. 239-246.
22. Sistrom, W.R. 1973. Vida Microbiana. C.E.C.S.A. México. P. 161-166.
23. Skinner, F.A. and J.G., Carr. 1976. Microbiology in Agriculture, Fisheries and Food. Academic Press, London, New York. P. 19-81.
24. Snedecor, W.G. y W.G., Cochran. 1979. Métodos Estadísticos. Compañía Editorial Continental, S.A. México. P. 123-156.
25. Wilson, W.P. and G.S., Knight. 1947. Experiments in Bacterial Physiology. Burgess Publishing Co. Minnesota. P. 27, 51-57.



26. Williams, G.W. y P.R., Mc. Bee. 1965. Microbiología General. Editorial Continental, S.A. México. P. 61-167.

00950

U A A A N

VIII. APENDICE

Cuadro 1A. Prueba "t" de Student (Probabilidad=0.05), para los resultados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones  $1 \times 10^{-7}$  y  $1 \times 10^{-6}$ , para los métodos clásico (A) y MGC (B), respectivamente, 1980.

No. de muestra	+No. de colonias bacterianas placas de Petri Método A	+No. de colonias bacterianas placas de Felsen Método B	$(\bar{X}-\bar{x})_A^2$	$(\bar{X}-\bar{x})_B^2$	$(\bar{X}-\bar{x})_B$	$(\bar{X}-\bar{x})_B^2$
1	3.5000	2.0000	-2.9270	8.5673	-2.2020	4.8488
2	2.7500	0.7500	-3.6770	13.5203	-3.4520	11.9163
3	3.0000	0.0000	-3.4270	11.7443	-4.2020	17.6568
4	1.2500	0.5000	-5.1770	26.8013	-3.7020	13.7048
5	14.5000	1.7500	8.0730	65.1733	-2.4520	6.0123
6	14.5000	3.7500	8.0730	65.1733	-0.4520	0.2043
7	14.2500	3.2500	7.8230	61.1993	-0.9520	0.9063
8	7.2500	5.7500	0.8230	0.6773	1.5480	2.3963
9	5.0000	7.0000	-1.4270	2.0363	2.7980	7.8288
10	15.2500	8.5000	8.8230	77.8453	4.2980	18.4728
11	10.2500	2.7500	3.8230	14.6153	-1.4520	2.1083
12	7.0000	3.0000	0.5730	0.3283	-1.2020	1.4448
13	1.2500	1.0000	-5.1770	26.8013	-3.2020	10.2528
14	4.2500	1.7500	-2.1770	4.7393	-2.4520	6.0123
15	2.0000	2.0000	-4.4270	19.5983	-2.2020	4.8488

Continuación CUADRO 1A.

16	4.7500	2.2500	-1.6770	2.8123	-1.9520	3.8103
17	5.0000	6.2500	-1.4270	2.0363	2.0480	4.1943
18	3.5000	8.0000	-2.9270	8.5673	3.7980	14.4248
19	3.7500	6.7500	-2.6770	7.1663	2.5480	6.4923
20	8.3300	1.7500	1.9030	3.6214	-2.4520	6.0123
21	6.2500	1.7500	-0.1770	0.0313	-2.4520	6.0123
22	2.5000	4.7500	-3.9270	15.4213	0.5480	0.3003
23	5.7500	15.2500	-0.6770	0.4583	11.0480	122.0583
24	9.0000	4.7500	2.5730	6.6203	0.5480	0.3003
25	20.0000	7.2500	13.5730	184.2263	3.0480	9.2903
26	2.5000	3.2500	-3.9270	15.4213	-0.9520	0.9063
27	8.7500	4.0000	2.3230	5.3963	-0.2020	0.0408
28	7.7500	1.3300	1.3230	1.7503	-2.8720	8.2484
29	5.0000	3.2500	-1.4270	2.0363	-0.9520	0.9063
30	3.2500	4.0000	-3.1770	10.0933	-0.2020	0.0408
31	6.5000	3.0000	0.0730	0.0053	-1.2020	1.4448
32	8.7500	7.2500	2.3230	5.3963	3.0480	9.2903
33	4.0000	4.0000	-2.4270	5.8903	-0.2020	0.0408
34	3.7500	4.5000	-2.6770	7.1663	0.2980	0.0888
35	2.7500	4.7500	-3.6770	13.5203	0.5480	0.3003
36	2.0000	4.5000	-4.4270	19.5983	0.2980	0.0888
37	7.2500	3.0000	0.8230	0.6773	-1.2020	1.4448
38	7.7500	7.5000	1.3230	1.7503	3.2980	10.8768
39	5.0000	4.2500	-1.4270	2.0363	0.0480	0.0023
40	7.2500	7.0000	0.8230	0.6773	2.7980	7.8288
Sumatoria	257.0800	168.0800		721.2000		323.0600
Media $\bar{X}$	6.4270	4.2020				

+ Promedio de 4 repeticiones.

Cuadro 2A. Análisis de Varianza

No. de muestra de sue- lo (n)	Media Aritmética $\bar{x}_{(A)}$	$\bar{x}_{(B)}$	Desviación Estándar $S_{(A)}$	$S_{(B)}$	Error Estándar $S\bar{x}_{(A)}$	$S\bar{x}_{(B)}$	Error Estándar de la diferencia $\bar{S}\bar{d}$	t calculada	t $\alpha$ , 78 gl	P = .05
40	6.4270	4.2020	4.3003	2.8781	0.6799	0.4551	2.225	2.7195++		1.9900

++ Resultados altamente significativos (P = .05).



Cuadro 3A. Prueba "t" de Student (P=.05), para los resultados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones  $1 \times 10^{-6}$  y  $1 \times 10^{-5}$ , para los métodos clásico (A) y MGC (B), respectivamente, 1980.

No. de muestra	+No. de colonias bacterianas plancas de Petri Método A	+No. de colonias bacterianas plancas de Felsen Método B	$(\bar{X}-\bar{X})_A$	$(\bar{X}-\bar{X})_B$	$(\bar{X}-\bar{X})_A^2$	$(\bar{X}-\bar{X})_B^2$
1	18.5000	3.5000	-7.1125	-12.4000	50.5877	153.7600
2	8.7500	26.7500	-16.8625	10.8500	284.3439	117.7225
3	15.7500	3.2500	-9.8625	-12.6500	97.2689	160.0225
4	25.5000	15.7500	-0.1125	-0.1500	0.0127	0.0225
5	26.2500	7.2500	0.6375	-8.6500	0.4064	74.8225
6	26.2500	9.0000	0.6375	-6.9000	0.4064	47.6100
7	24.0000	5.0000	-1.6125	-10.9000	2.6002	118.8100
8	37.5000	19.0000	11.8875	3.1000	141.3127	9.6100
9	41.7500	16.0000	16.1375	0.1000	260.4189	0.0100
10	26.2500	16.5000	0.6375	0.6000	0.4064	0.3600
11	23.2500	9.0000	-2.3625	-6.9000	5.5814	47.6100
12	24.7500	16.5000	-0.8625	0.6000	0.7439	0.3600
13	12.2500	7.2500	-13.3625	-8.6500	178.5564	74.8225
14	28.7500	8.7500	3.1375	-7.1500	9.8439	51.1225
15	16.7500	3.0000	-8.8625	-12.9000	78.5439	166.4100

continúa

Continuación Cuadro 3A.

16	14.2500	4.5000	-11.3625	129.1064	-11.4000	129.9500
17	42.7500	28.5000	17.1375	293.6939	12.6000	158.7600
18	31.0000	24.0000	5.3875	29.0252	8.1000	65.6100
19	41.7500	39.7500	16.1375	260.4189	23.8500	568.8225
20	22.0000	16.0000	-3.6125	13.0502	0.1000	0.0100
21	21.5000	5.0000	-4.1125	16.9127	-10.9000	118.8100
22	19.5000	13.5000	-6.1125	37.3627	-2.4000	5.7600
23	23.5000	23.0000	-2.1125	4.4627	7.1000	50.4100
24	59.0000	18.2500	33.3875	1114.7252	2.3500	5.5225
25	31.2500	15.0000	5.6375	31.7814	-0.9000	0.8100
26	19.0000	4.7500	-6.6125	43.7252	-11.1500	124.3225
27	22.7500	7.0000	-2.8625	8.1939	-8.9000	29.2100
28	24.2500	16.7500	-1.3625	1.8564	0.8500	0.7225
29	16.0000	12.5000	-9.6125	92.4002	-3.4000	11.5600
30	15.0000	12.7500	-10.6125	112.6252	-3.1500	9.9225
31	18.2500	11.0000	-7.3625	54.2064	-4.9000	24.0100
32	28.2500	20.2500	2.6375	6.9564	4.3500	18.9225
33	15.7500	16.7500	-9.8625	97.2689	0.8500	0.7225
34	30.5000	24.5000	4.8875	23.8877	8.6000	73.9600
35	14.2500	12.0000	-11.3625	129.1064	-3.9000	15.2100
36	20.2500	15.2500	-5.3625	28.7564	-0.6500	0.4225
37	34.5000	20.7500	8.8875	78.9877	4.8500	23.5225
38	40.0000	46.5000	14.3875	207.0002	30.6000	936.3600
39	31.5000	26.7500	5.8875	34.6627	10.8500	117.7225
40	31.5000	34.5000	5.8875	34.6627	18.6000	345.9600

Sumatoria 1024.5000  
Media x 25.6125  
+ Promedio de 4 repeticiones.

3995.8680

3910.1000



Cuadro 4A. Análisis de Varianza

No. de muestra	Media Aritmética	Desviación Estándar	Error Estándar	Error Estándar	Error Estándar	t calculada	t <sub>α</sub> , 78 gl
de muestra	$\bar{X}(A)$	$S(A)$	$S(B)$	$S\bar{X}(A)$	$S\bar{X}(B)$	diferencia	P = .05
1. (n)	$\bar{X}(B)$					$\frac{t \text{ calculada}}{S\bar{D}}$	
40	25.6125	10.1222	10.0129	1.6005	1.5832	2.251	4.3142++
							1.9900

++ Resultados altamente significativos (P = .05).



Cuadro 5A. Prueba "t" de Student (P=.05), para los resultados del conteo de colonias bacterianas en las diluciones  $1 \times 10^{-5}$  y  $1 \times 10^{-4}$ , para los métodos clásico (A) y MFC (B), respectivamente. 1960.

No. de muestra	+No. de colonias bacterianas plancas de Petri	+No. de colonias bacterianas plancas de Felsen	Método A	Método B	$(\bar{X}-\bar{X})_A$	$(\bar{X}-\bar{X})_A^2$	$(\bar{X}-\bar{X})_B$	$(\bar{X}-\bar{X})_B^2$
1	103.0000	27.7500			-81.7188	6677.9623	-53.3000	2840.8900
2	92.2500	28.0000			-92.4688	8550.4790	-53.0500	2814.3025
3	154.2500	48.0000			-30.4688	928.3478	-33.0500	1092.3025
4	182.5000	124.2500			-2.2188	4.9231	43.2000	1866.2400
5	114.5000	75.5000			-70.2188	4930.6799	-5.5500	30.8025
6	117.0000	58.2500			-67.7188	4585.8359	-22.8000	519.8400
7	95.5000	45.7500			-89.2188	7959.9943	-35.3000	1246.0900
8	271.5000	108.2500			86.7812	7530.9767	27.2000	739.8400
9	229.5000	139.0000			44.7812	2005.3559	57.9500	3358.2025
10	183.5000	86.2500			-1.2188	1.4855	5.2000	27.0400
11	151.7500	62.5000			-32.9688	1086.9418	-18.5500	344.1025
12	228.7500	93.7500			44.0312	1938.7466	12.7000	161.2900
13	118.7500	39.2500			-65.9688	4351.8826	-41.8000	1747.2400
14	197.5000	50.2500			12.7812	163.3591	-30.8000	948.6400
15	110.5000	36.2500			-74.2188	5508.4303	-44.8000	2007.0400

continúa

16	170.2500	56.0000	-14.4688	209.3462	-25.0500	627.5025
17	286.2500	117.5000	101.5312	10308.5846	36.4500	1228.6025
18	297.0000	108.2500	112.2812	12607.0679	27.2000	739.8400
19	294.5000	135.2500	109.7812	12051.9119	54.2000	2937.6400
20	179.5000	91.5000	-5.2188	27.2359	10.4500	109.2025
21	159.0000	80.7500	-25.7188	661.4567	-0.3000	0.0900
22	166.7500	87.5000	-17.9688	322.8778	6.4500	41.6025
23	188.0000	141.2500	3.2812	10.7663	60.2000	3624.0400
24	379.2500	63.5000	194.5312	37842.3878	-17.5500	308.0025
25	126.0000	55.0000	-58.7188	3447.8975	-26.0500	678.6025
26	179.5000	28.2500	-5.2188	27.2359	-52.8000	2787.8400
27	126.2500	58.2500	-58.4688	3418.6006	-22.8000	519.8400
28	184.7500	72.7500	0.0312	0.0010	-8.3000	68.8900
29	131.7500	46.0000	-52.9688	2805.6938	-35.0500	1228.5025
30	138.5000	75.2500	-46.2188	2136.1775	-5.8000	33.6400
31	159.7500	72.7500	-24.9688	623.4410	-8.3000	68.8900
32	156.7500	42.0000	-27.9688	782.2538	-39.0500	1524.9025
33	211.0000	45.7500	26.2812	690.7015	-35.3000	1246.0900
34	200.5000	113.2500	15.7812	249.0463	32.2000	1036.8400
35	139.0000	29.5000	-45.7188	2090.2087	-51.5500	2657.4025
36	182.5000	72.7500	-2.2188	4.9231	-8.3000	68.8900
37	228.2500	102.5000	43.5312	1894.9654	21.4500	460.1025
38	267.0000	178.7500	82.2812	6770.1959	97.7000	9545.2900
39	209.5000	148.2500	24.7812	614.1079	67.2000	4515.8400
40	276.5000	196.5000	91.7812	8423.7887	115.4500	13328.7025
Sumatoria	7388.7520	3242.0000		164246.2700		69230.6520
Media $\bar{x}$	184.7188	81.0500				

+ Promedio de 4 repeticiones.



Cuadre 6A. Análisis de Varianza

No. de muestra de sue- lo (n)	Media Aritmética $\bar{x}(A)$	$\bar{x}(B)$	Desviación Estandar $S(A)$	$S(B)$	Error Estandar $\bar{Sx}(A)$	$\bar{Sx}(B)$	Error Estan- dar de la diferencia $t$ calculada $Sd$	$t$ calculada	$t_{\alpha}$ , 78 gl $P = .05$
40	184.7188	81.0500	64.8956	42.1325	10.2609	6.6617	12.334	8.4739++	1.9900

++ Resultados altamente significativos ( $P = .05$ ).

Cuadro 7A. Prueba "t" de Student (P=0.05), sin tomar en cuenta los datos disparados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones  $1 \times 10^{-7}$  y  $1 \times 10^{-6}$ , para los métodos clásico (A) y MGC (B), respectivamente. 1980.

No. de muestra	+No. de colonias bacterianas plancas de Petri	+No. de colonias bacterianas plancas de Felsen	$(\bar{X}-\bar{X})_A$	$(\bar{X}-\bar{X})_A^2$	$(\bar{X}-\bar{X})_B$	$(\bar{X}-\bar{X})_B^2$
	Método A	Método B				
1	3.5000	2.0000	-1.0948	1.1986	-2.0603	4.2448
2	2.7500	0.7500	-1.8448	3.4033	-3.3103	10.9581
3	3.0000	0.0000	-1.5948	2.5434	-4.0603	16.4860
4	1.2500	0.5000	-3.3448	11.1877	-3.5603	12.6757
8	7.2500	5.7500	2.6552	7.0501	1.6897	2.8551
9	5.0000	7.0000	0.4052	0.1642	2.9397	8.6418
13	1.2500	1.0000	-3.3448	11.1877	-3.0603	9.3654
14	4.2500	1.7500	-0.3448	0.1189	-2.3103	5.3375
15	2.0000	2.0000	-2.5948	6.7330	-2.0603	4.2448
16	4.7500	2.2500	0.1552	0.0241	-1.8103	3.2772
17	5.0000	6.2500	0.4052	0.1642	2.1897	4.7948
18	3.5000	8.0000	-1.0948	1.1986	3.9897	15.9212
19	3.7500	6.7500	-0.8448	0.7137	2.6897	7.2345
22	2.5000	4.7500	-2.0948	4.3882	0.6897	0.4757
24	9.0000	4.7500	4.4052	19.4058	0.6897	0.4757

continúa



Continuación Cuadro 7A.

26	2.5000	3.2500	-2.0948	4.3882	-0.8103	0.6566
27	8.7500	4.0000	4.1552	17.2657	0.0603	0.0036
29	5.0000	3.2500	0.4052	0.1642	-0.8103	0.6566
30	3.2500	4.0000	-1.3448	1.8085	-0.0603	0.0036
31	6.5000	3.0000	1.9052	3.6298	-1.0603	1.1242
32	8.7500	7.2500	4.1552	17.2657	3.1897	10.1742
33	4.0000	4.0000	-0.5948	0.3538	-0.0603	0.0036
34	3.7500	4.5000	-0.8448	0.7137	0.4397	0.1933
35	2.7500	4.7500	-1.8448	3.4033	0.6897	0.4757
36	2.0000	4.5000	-2.5948	6.7330	0.4397	0.1933
37	7.2500	3.0000	2.6552	7.0501	-1.0603	1.1242
38	7.7500	7.5000	3.1552	9.9553	3.4397	11.8315
39	5.0000	4.2500	0.4052	0.1642	0.1897	0.0360
40	7.2500	7.0000	2.6552	7.0501	2.9397	8.6418
Sumatoria	133.2500	117.7500		149.4271		141.7065
Media $\bar{x}$	4.3948	4.0603				

+ Promedio de 4 repeticiones.

Cuadro 8A. Análisis de Varianza

No. de muestra de sue- le (n)	Media Aritmética		Desviación Estandar		Error Estandar		Error Estan- dar de la diferencia calculada	t	t <sub>α</sub> , 58 gl P = .05
	$\bar{x}(A)$	$\bar{x}(B)$	S(A)	S(B)	$S\bar{x}(A)$	$S\bar{x}(B)$			
29	4.3948	4.0603	2.3101	2.2497	0.3656	0.3557	0.5101	1.9478	N.S. 2.003

N.S. = Resultados no significativos (P=.05).

Cuadro 9A. Prueba "t" de Student ( $P=0.05$ ), sin tomar en cuenta los datos disparados del conteo de colonias bacterianas, en las diluciones  $1 \times 10^{-8}$  y  $1 \times 10^{-5}$  para los métodos clásico (A) y MCC (B), respectivamente. 1980.

No. de muestra	+No. de colonias bacterianas placas de Petri Método A	+No. de colonias bacterianas placas de Felsen Método B	$(\bar{X}-\bar{X})_A^2$	$(\bar{X}-\bar{X})_B^2$	$(\bar{X}-\bar{X})^2$	
2	8.7500	26.7500	-14.4038	207.4695	8.3173	69.1775
3	15.7500	3.2500	-7.4038	54.8163	-15.1827	230.5144
4	25.5000	15.7500	2.3462	5.5047	-2.6827	7.1969
10	26.2500	16.5000	3.0962	9.5865	-1.9327	3.7353
12	24.7500	16.5000	1.5962	2.5479	-1.9327	3.7353
13	12.2500	7.2500	-10.9038	118.8929	-11.1827	125.0528
15	16.7500	3.0000	-6.4038	41.0087	-15.4327	238.1682
16	14.2500	4.5000	-8.9038	79.2777	-13.9327	194.1201
18	31.0000	24.0000	7.8462	61.5629	5.5673	30.9948
19	41.7500	39.7500	18.5962	345.8187	21.3173	454.4273
20	22.0000	16.0000	-1.1538	1.3313	-2.4327	5.9180
22	19.5000	13.5000	-3.6538	13.3503	-4.9327	24.3315
23	23.5000	23.0000	0.3462	0.1199	4.5673	20.8602
28	24.2500	16.7500	1.0962	1.2017	-1.6827	2.8315
29	16.0000	12.5000	-7.1538	51.1769	-5.9327	35.1969

continúa

Continuación Cuadro 9A.

30	15.0000	12.7500	-8.1538	66.4845	-5.6827	32.2931
31	18.2500	11.0000	-4.9038	24.0473	-7.4327	55.2450
32	28.2500	20.2500	5.0962	25.9713	1.8173	3.3026
33	15.7500	16.7500	-7.4038	54.8163	-1.9827	2.8315
34	30.5000	24.5000	7.3462	53.9967	6.0673	36.8121
35	14.2500	12.0000	-8.9038	79.2777	-6.4327	41.3796
36	20.2500	15.2500	-2.9038	8.4321	-3.1827	10.1296
37	34.5000	20.7500	11.3462	128.7363	2.3173	5.3699
38	40.0000	46.5000	16.8462	283.7945	28.0673	787.7733
39	31.5000	26.0000	8.3462	69.6591	7.5673	57.2640
40	31.5000	34.5000	8.3462	69.6591	16.0673	258.1581
Sumatoria	602.0000	479.2500		1858.5108		2736.8195
Media $\bar{x}$	23.1538	18.4327				

+ Promedio de 4 repeticiones.



Cuadro 10A. Análisis de Varianza

No. de muestra de sue- lo (n)	Media Aritmética $\bar{x}(A)$	$\bar{x}(B)$	Desviación Estandar $S(A)$	$S(B)$	Error Estandar $S\bar{x}(A)$	$S\bar{x}(B)$	Error Estan- dar de la diferencia $\bar{Sd}$	t calculada	t $\alpha$ , 50 gl F = .05
26	23.1538	18.4327	8.6221	10.4629	1.6909	2.0520	2.6589	1.7756 N.S.	2.008

N.S. = Resultados no significativos (P=.05).

Cuadro 11A. Interpretación de los resultados de análisis físico-químicos para los suelos estudiados. Laboratorio de Fertilidad de Suelos. U.A.A.A.N. 1980.

No. de muestra	Textura	N total aprov. Kg/ha	P asimilable Kg/ha	K intercambiable Kg/ha	% de Carbenatos	pH 1 : 2	C.E Mmhos/cm	% M.O
1	s	c	-	-	-	j	-	c
2	s	b	-	-	-	j	-	c
3	q	c	-	-	-	j	-	c
4	s	d	-	-	-	j	-	e
5	t	d	-	-	-	j	-	f
6	t	d	-	-	-	j	-	e
7	t	d	-	-	-	j	-	e
8	r	d	-	-	-	i	-	e
9	t	d	e	g	l	j	k	e
10	t	d	c	g	l	i	k	e
11	t	d	c	g	ll	j	k	e
12	p	d	c	g	l	j	k	f
13	p	d	e	g	l	j	k	g
14	s	d	d	g	l	j	k	g
15	p	d	e	g	l	j	k	e
16	s	b	b	g	o	i	k	c
17	s	a	b	g	o	j	k	b
18	s	b	b	g	o	j	k	c
19	s	b	b	g	o	j	k	b
20	t	e	c	g	l	j	k	e

continúa

Continuación Cuadro IIA.

21	t	e	d	g	ll	j	k	e
22	s	b	e	g	l	j	k	c
23	s	d	c	g	l	i	k	f
24	s	e	e	g	ll	j	k	e
25	q	aa	c	g	ll	j	k	aa
26	s	b	c	g	ll	j	k	c
27	s	b	b	g	ll	j	k	c
28	t	d	c	g	l	j	k	e
29	t	c	c	g	u	j	k	c
30	t	d	e	g	ll	j	k	e
31	t	d	c	g	l	j	k	e
32	s	d	c	g	ll	j	k	e
33	s	c	d	g	ll	j	k	f
34	q	d	d	g	ll	j	k	f
35	s	d	d	g	ll	j	k	f
36	p	d	d	g	ll	j	k	f
37	s	d	e	g	m	j	k	f
38	p	a	c	g	m	j	k	g
39	p	d	e	g	n	j	k	e
40	s	d	g	g	m	j	k	f

aa = Extremadamente pobre  
a = Pobre  
b = Medianamente pobre  
c = Mediano  
d = Rico  
e = Medianamente rico  
f = Muy rico  
g = Extremadamente rico  
h = Muy ligeramente alcalino  
i = Ligeramente alcalino  
j = Medianamente alcalino

k = No salino  
l = Alto  
ll = Muy alto  
m = Medio  
n = Bajo  
o = Muy bajo  
p = Arcilla  
q = Migajón  
r = Migajón arenoso  
s = Migajón arcilloso  
t = Migajón arcillo-arenoso

Fórmulas utilizadas. (Allen, 1957).

1. Desviación Estandar (S)

$$S = \sqrt{\frac{\sum (X - \bar{X})^2}{n-1}}$$

De donde: S = Desviación Estandar

= Sumatoria

$\bar{X}$  = Media Aritmética

X = Una determinación individual

n = Número de observaciones

2. Error Estandar ( $S_{\bar{X}}$ )

$$S_{\bar{X}} = \frac{\text{Desviación Estandar}}{\sqrt{n}} \quad \text{ó} \quad \frac{S}{\sqrt{n}}$$

3. Error Estandar de la diferencia ( $S_{\bar{d}}$ )

$$S_{\bar{d}} = \sqrt{\left(\frac{\text{Error Estandar}}{\text{Método A}}\right)^2 + \left(\frac{\text{Error Estandar}}{\text{Método B}}\right)^2} \quad \text{ó} \quad \sqrt{(S_{\bar{X}})_A^2 + (S_{\bar{X}})_B^2}$$

4. "t" calculada ( $t_c$ )

$$"t" = \frac{\text{diferencia entre las medias aritméticas}}{S_{\bar{d}}}$$