

**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES  
FACULTAD DE CIENCIAS  
INSTITUTO DE CIENCIAS AMBIENTALES Y ECOLÓGICAS  
POSTGRADO EN ECOLOGÍA TROPICAL**

TESIS DOCTORAL

**EFFECTO DE LA CONVERSIÓN DE ECOSISTEMAS NATURALES EN  
AGROECOSISTEMAS SOBRE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO  
EN LOS ANDES VENEZOLANOS**

**ENRIQUE GARCÍA AMOR**

Trabajo presentado ante la Universidad de  
Los Andes como requisito parcial para optar  
al grado de Doctor en Ecología Tropical

Tutora: Lina Sarmiento

**MÉRIDA-VENEZUELA  
FEBRERO 2010**

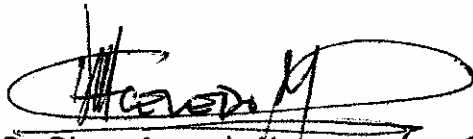
# VEREDICTO

Quienes suscriben, integrantes del jurado designado por el Consejo de Estudios de Postgrado, de la Universidad de Los Andes para conocer y emitir Veredicto sobre la **TESIS DOCTORAL** presentado por **ENRIQUE GARCÍA AMOR**, realizado bajo la tutoría de la **DRA. LINA SARMIENTO** como requisito para optar al título de **Doctor en Ecología Tropical** y que se titula:

**“Efecto de la Conversión de Ecosistemas Naturales en Agroecosistemas sobre las Comunidades Microbianas del Suelo en Los Andes Venezolanos.”**

Hacen constar lo siguiente:

**PRIMERO:** que hoy 05 de febrero de 2010 a las 9:00 a.m., nos constituimos como jurado en el salón de reuniones del Postgrado en Ecología Tropical, siendo el Presidente del jurado el Dr. Dimas Rafael Acevedo Novoa. **SEGUNDO:** A continuación procedimos a discutir si se lleva a cabo su defensa pública. Luego de considerar las observaciones críticas de cada miembro de jurado, acordamos por unanimidad autorizar su presentación. **TERCERO:** A las 9:30 a.m. de este mismo día, el jurado se reunió en el Auditorium A-10 de la Facultad de Ciencias y se dio curso al acto público de sustentación de trabajo de grado presentado. **CUARTO:** Una vez concluida la sustentación correspondiente, el jurado interrogó al aspirante sobre los diversos aspectos a que el trabajo se refiere. **QUINTO:** Seguidamente el presidente del jurado invito al público asistente a formular preguntas y observaciones sobre el trabajo presentado. **SEXTO:** Una vez concluido el acto de presentación, el jurado procedió a su deliberación final y concluyo que: **SE APRUEBA LA TESIS DOCTORAL PRESENTADO A NUESTRA CONSIDERACIÓN.**

  
Dr. Dimas Acevedo Novoa

Jurado

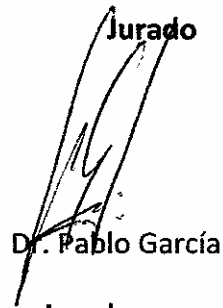
  
Dra. Isbelia Reyes

Jurado

  
Dr. Jorge Paolini

Jurado



  
Dr. Pablo García

Jurado

*A la memoria de mis queridos padres:*

*Ana Amor González (A Coruña, 17-06-1921 - Mérida, 26-09-2008)*  
*Manuel García Eiroa (A Coruña, 24-03-1915 - Mérida, 06-09-2005)*

*En las lejanas montañas de Gushe, huecas por dentro y con nueve grutas, viven seres divinos. Su piel es fresca como la nieve escarchada y son delicados y discretos como vírgenes. No comen cereales, sino que aspiran el viento y beben el rocío. Montan sobre las nubes y las brisas y cabalgan los dragones voladores para ir a esconderse más allá de los cuatro mares (los confines del mundo). Mediante la concentración de su espíritu pueden proteger a los seres de la peste y hacer madurar las cosechas... ¡Qué hombres! ¡Qué poder! Abrazan a los diez mil seres para hacer uno de todos ellos. Los hombres de este mundo les ruegan que vengan a poner orden, pero ¿por qué habrían de fatigarse con nuestros asuntos? Nada puede herirlos y, aunque haya un diluvio de aguas que lleguen hasta el cielo, no perecerán, aunque vengan calores que fundan las piedras y quemem las tierras y las montañas, ni siquiera los sentirán...*

Zhuangzi, capítulo 1

El presente trabajo recibió financiamiento del CDCHT-ULA a través del Proyecto C-1441-07-01-Ed

## **Agradecimientos**

A mi tutora, Lina Sarmiento, por haberme aceptado como tesista para desarrollar una tesis que no es su tema, apoyarme en todo momento y enseñarme cuestiones fundamentales para llevar a cabo este trabajo.

A María José Acea, quien me abrió las puertas de su Laboratorio de Microbiología del Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia (IIAG), Santiago de Compostela, me inició en el conocimiento de la microbiología del suelo y me enseñó muchas de las técnicas que se emplearon en esta tesis.

A mi querida esposa María Alejandra, quien además de colaborar en la redacción y organización del manuscrito y de brindarme su amor infinito, siempre me iluminó con sus oportunos comentarios, sus consejos y sobre todo, con el inigualable ejemplo de su poderosa determinación y fortaleza de ánimo.

A Natalia Cid por sus recomendaciones y asesoramiento en buena parte de este trabajo y a Silvia Gonzales por su ayuda y consejos durante mi estancia en Santiago.

A mis compañeros profesores de la Cátedra de Bacteriología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, y en especial a Ana Carolina Ramírez y Kiralba Sánchez, quienes se hicieron cargo en varias ocasiones de mis horas de clase. A ellas dos mi infinito agradecimiento, pues sin su desinteresada colaboración este trabajo no hubiera sido posible.

A todo el personal del ICAE, en especial a Zulay Méndez y Francis Guillén por su apoyo en el laboratorio, a Idalba Guadua y Nancy Gavidia en la parte administrativa y a Julia Smith por los datos facilitados.

A Daniel Machado, por su amistad y apoyo, y permitirme develar algunos de los secretos que guarda el bosque siempreverde que le da cobijo.

A Jhonny Márquez por su ayuda en la recolección de las muestras de suelo.

A Anairámiz Aranguren por los datos de vegetación de Cacute.

Al profesor Luis Rojas y la farmacéutica Alida Pérez, del Instituto de Investigaciones de la Facultad de Farmacia, por el apoyo técnico y permitirme utilizar el cromatógrafo de su laboratorio.

Al profesor Samuel Segnini por facilitarme el paquete Statistix.

A Petra Kidd, del IIAG, quien me brindó su amistad, hospitalidad y simpatía durante mi estancia en ese Instituto.

A Ángeles Prieto, por su apoyo a la hora de resolver muchos de los problemas que surgieron durante mi estancia en el Laboratorio de Microbiología del Suelo del IIAG.

A Isabel Fuentes Corripio del Centro Nacional de Microbiología (Madrid).

A mis padres, que aunque ya se fueron, nunca se han ido

A mis amigos; ahora volveré de nuevo a vuestro lado y os contaré lo vivido.

## **Resumen**

Se analizó el efecto de la conversión y el manejo de suelos de páramos y bosques de los Andes venezolanos sobre las comunidades microbianas, en lo que a su tamaño, estructura y actividad se refiere, así como sobre algunas propiedades abióticas de los suelos. Con este fin se compararon suelos de tres ecosistemas (páramo, selva nublada y bosque siempreverde) con algunos de sus sistemas de reemplazo. En el páramo, en un cultivo de papa con manejo menos intensivo (Los Bahitos), las poblaciones microbianas aumentaron en tamaño aunque no mostraron cambios en su estructura, mientras que con mayores insumos y un manejo más intensivo (Los Pozos), aumentó la biomasa microbiana y ocurrieron cambios en la estructura, con un ligero aumento en la proporción de microorganismos celulolíticos. Así mismo, la actividad de la comunidad microbiana también respondió de manera diferente. Con manejo menos intensivo no se detectaron cambios importantes ni en la diversidad funcional ni en la respiración, mientras que en el cultivo de papa intensivo, la diversidad funcional microbiana aumentó, así como la velocidad máxima de actividad respiratoria y la nitrificación. En las conversiones de bosque siempreverde (Cacute) y selva nublada (La Mucuy) a cultivos de maíz se encontró que el tamaño de las poblaciones bacterianas, así como su biomasa disminuyeron, como también la diversidad funcional, la tasa de mineralización del N, la actividad respiratoria, la materia orgánica lábil y la recalcitrante, mientras que el coeficiente metabólico y el tiempo para alcanzar la velocidad máxima de respiración, aumentaron en el cultivo de maíz de Cacute; y en el de La Mucuy aumentó la vida media de la materia orgánica recalcitrante. Con la conversión de bosque siempreverde a potrero (Cacute) disminuyeron la población total bacteriana, su biomasa y su diversidad funcional, así como la actividad respiratoria, la materia orgánica lábil y la recalcitrante mientras que el tiempo para alcanzar la velocidad máxima de respiración aumentó. Estos resultados son la expresión del dramático impacto que la conversión tuvo sobre las comunidades microbianas y las propiedades abióticas de suelos que una vez estuvieron bajo la selva nublada y el bosque siempreverde, en contraste con lo observado en los suelos de páramo en el que la conversión parece no haber impactado tan drásticamente. En las conversiones de páramos más bien hubo aumento de la biomasa microbiana, nitrógeno, la capacidad de campo y la diversidad funcional microbiana. Las causas de estas contrastantes respuestas puede atribuirse a: 1) cambios en la entrada y flujos de energía con la conversión de la selva nublada y el bosque siempre verde que debieron repercutir con mayor intensidad en la productividad primaria neta y los diferentes niveles tróficos de estos ecosistemas, 2) diferencias en el manejo de los cultivos, ya que la utilización de pargana y gallinaza en la papa hace un importante aporte de materia orgánica que mejora las condiciones del suelo, y 3) mayor resiliencia y/o resistencia de las comunidades microbianas del páramo que las harían menos sensibles a los cambios en el manejo y el uso del suelo.

# Índice de Contenido

<b>Capítulo 1. Introducción General</b> .....	1
<b>1.1. Antecedentes</b> .....	1
Papel de los microorganismos en los procesos del suelo.....	4
Efecto de los disturbios sobre las comunidades microbianas del suelo.....	5
<b>1.2. Ecosistemas y parámetros estudiados en esta tesis</b> .....	6
Toma de muestras.....	9
Parámetros estudiados.....	9
<b>1.3. Hipótesis</b> .....	13
<b>1.4. Objetivos</b> .....	13
Objetivos generales.....	13
Objetivos específicos.....	13
<b>1.5. Referencias Bibliográficas</b> .....	15
<b>Capítulo 2. Propiedades abióticas de los suelos</b> .....	19
<b>Resumen</b> .....	19
<b>2.1. Introducción</b> .....	20
<b>2.2. Materiales y Métodos</b> .....	22
Propiedades determinadas.....	22
Capacidad de campo.....	22
Conductividad.....	22
pH.....	22
Granulometría.....	22
Carbono orgánico o total.....	22
Nitrógeno total.....	22
Nitrógeno inorgánico.....	22
Elementos asimilables.....	22
Capacidad de Intercambio Catiónico.....	22
Análisis estadístico.....	22
Análisis de Componentes Principales.....	23
<b>2.3. Resultados</b> .....	24
Propiedades abióticas de suelos de páramo no intervenido.....	24
Propiedades abióticas de suelos de páramo cultivados con papa.....	24

Propiedades abióticas de bosques no intervenidos.....	26
Propiedades abióticas de suelos de bosques cultivados con maíz y potrero.....	26
Propiedades abióticas de suelos de ecosistemas no intervenidos.....	28
Análisis de correlación entre las variables estudiadas.....	28
Análisis de Componentes Principales.....	29
<b>2.4. Discusión.....</b>	<b>37</b>
<b>2.5 Conclusiones.....</b>	<b>41</b>
<b>2.6. Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>43</b>
<b>Capítulo 3. Potencial de nitrificación y de mineralización.....</b>	<b>45</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>45</b>
<b>3.1. Introducción.....</b>	<b>46</b>
<b>3.2. Material y Métodos.....</b>	<b>51</b>
<b>3.3. Resultados.....</b>	<b>52</b>
Amonio, nitratos y nitrógeno mineral iniciales.....	52
Variación del amonio, nitratos y nitrógeno inorgánico durante la incubación.....	53
Nitrificación absoluta y relativa.....	55
Variación del nitrógeno inorgánico en el tiempo (mineralización neta).....	59
Análisis de correlación.....	61
<b>3.4. Discusión.....</b>	<b>65</b>
<b>3.5. Conclusiones.....</b>	<b>70</b>
<b>3.6. Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>71</b>
<b>Capítulo 4. Diversidad funcional microbiana.....</b>	<b>74</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>74</b>
<b>4.1. Introducción.....</b>	<b>75</b>
<b>4.2. Material y métodos.....</b>	<b>77</b>
<b>4.3. Resultados.....</b>	<b>81</b>
Índices de diversidad de Shannon (H'), uniformidad (E) y porcentaje de degradación de sustratos carbonados.....	81
Diversidad de ecosistemas naturales y agroecosistemas.....	84
Patrón de degradación de sustratos carbonados.....	87
Análisis de Componentes Principales.....	90
<b>4.4. Discusión.....</b>	<b>95</b>

4.5. Conclusiones.....	100
4.6. Referencias Bibliográficas.....	101
<b>Capítulo 5. Estructura de las comunidades microbianas.....</b>	<b>104</b>
<b>Resumen.....</b>	<b>104</b>
<b>5.1. Introducción.....</b>	<b>105</b>
<b>5.2. Materiales y Métodos.....</b>	<b>109</b>
Humedad del suelo.....	109
Reactivación de la población heterótrofa.....	109
Densidad de bacterias heterótrofas.....	109
Propágulos de hongos.....	110
Microorganismos del ciclo del carbono (celulolíticos y amilolíticos).....	110
Microorganismos del ciclo de nitrógeno (amonificantes y proteolíticos).....	110
Microorganismos oligotrofos y copiotrofos.....	110
Biomasa fúngica.....	111
Biomasa microbiana.....	111
Biomasa bacteriana.....	112
Análisis estadístico.....	112
Análisis de Componentes Principales.....	112
<b>5.3. Resultados.....</b>	<b>113</b>
Ecosistemas naturales.....	113
Páramos y cultivo de papa.....	114
Bosques y cultivos.....	115
Cultivos.....	121
Humedad de los suelos.....	121
Correlaciones entre las variables.....	123
Análisis de componentes principales.....	126
<b>5.4. Discusión.....</b>	<b>129</b>
Ecosistemas naturales-páramos.....	129
Ecosistemas naturales-bosques.....	130
Conversiones.....	131
<b>5.5. Conclusiones.....</b>	<b>136</b>
<b>5.6. Referencias Bibliográficas.....</b>	<b>137</b>

<b>Capítulo 6. Respiración microbiana de los suelos</b> .....	145
<b>Resumen</b> .....	145
<b>6.1. Introducción</b> .....	146
<b>6.2. Materiales y métodos</b> .....	148
Respiración basal.....	148
Coeficiente metabólico.....	148
Actividad microbiana.....	148
Análisis de componentes principales.....	149
Análisis estadístico.....	149
<b>6.3. Resultados</b> .....	150
Respiración de suelos de páramo y cultivados con papa.....	150
Respiración de suelos de bosques y sus cultivos asociados.....	151
Respiración en suelos de ecosistemas naturales.....	153
Respiración en suelos de cultivo.....	153
Correlaciones entre variables.....	155
Análisis de componentes principales.....	161
<b>6.4. Discusión</b> .....	163
Páramos y cultivos asociados.....	163
Bosques y cultivos asociados.....	164
Ecosistemas naturales.....	164
Cultivos.....	165
Comparando conversiones.....	166
Correlaciones.....	166
Respiración y propiedades bióticas.....	166
Respiración y propiedades abióticas.....	169
<b>6.5. Conclusiones</b> .....	171
<b>6.6. Referencias Bibliográficas</b> .....	173
<b>Capítulo 7. Análisis integrado del efecto de las propiedades fisicoquímicas del suelo y las variables ambientales sobre la estructura y funcionamiento de las comunidades microbianas</b> .....	177
<b>Resumen</b> .....	177
<b>7.1. Introducción</b> .....	178
<b>7.2. Materiales y Métodos</b> .....	179

<b>7.3. Resultados y Discusión</b> .....	180
<b>Respuesta de las comunidades microbianas a la conversión</b> .....	180
Conversiones (con todos los datos incluidos).....	184
Conversiones (sin los datos de biomasa microbiana).....	187
Análisis por tipo de conversión: bosques a maíz y potrero, páramos a papa.....	189
Ecosistemas naturales.....	191
<b>7.4. Conclusiones</b> .....	198
<b>Capítulo 8. Conclusiones y consideraciones finales</b> .....	200
<b>8.1. Introducción</b> .....	200
<b>8.2. Verificación de hipótesis</b> .....	201
<b>8.3. Conclusiones</b> .....	204
<b>8.4. Reflexiones finales</b> .....	207
<b>8.5. Referencias Bibliográficas</b> .....	210
<b>Anexos</b> .....	211

# Índice de Tablas

## Capítulo 1

<b>Tabla 1.1.</b> Características generales de los sitios de muestreo.....	8
--	---

## Capítulo 2

<b>Tabla 2.1.</b> Propiedades abióticas de los suelos de páramo y sus cultivos asociados.....	25
<b>Tabla 2.2.</b> Propiedades abióticas de los suelos de bosques y sus cultivos asociados, maíz y potrero.....	27
<b>Tabla 2.3.</b> Propiedades abióticas de los suelos de los ecosistemas naturales, páramo y bosques...	31
<b>Tabla 2.4.</b> Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman ( $r$ ) entre las propiedades abióticas de los suelos.....	32

## Capítulo 3

<b>Tabla 3.1.</b> Contenido de nitrógeno en los suelos en forma de $N-NH_4^+$ , $N-(NO_3^-+NO_2^-)$ y nitrógeno inorgánico (N-amoniaco + N-nítrico), expresado en mg de nitrógeno por kilogramo de suelo seco.....	52
<b>Tabla 3.2.</b> Nitrificación relativa ocurrida entre 0 y 7 días, 7 y 21 días, 0 y 21 días de incubación. Los valores indican el porcentaje de $NH_4^+$ que se transformó en $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ .....	57
<b>Tabla 3.3.</b> Nitrificación absoluta ocurrida entre 0 y 7 días, 7 y 21 días, 0 y 21 días de incubación. Los valores indican la diferencia de mg $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ entre los tiempos.....	60
<b>Tabla 3.4.</b> Correlación (Spearman) entre las variables del suelo y los valores de nitrificación y mineralización.....	63
<b>Tabla 3.5.</b> Correlación (Spearman) entre los valores de nitrificación y mineralización.....	63

## Capítulo 4

<b>Tabla 4.1.</b> Sustratos carbonados.....	78
---	----

## Capítulo 5

<b>Tabla 5.1.</b> Poblaciones microbianas de los suelos de páramos y bosques ( $\log$ NMP $g^{-1}$ suelo seco).....	116
<b>Tabla 5.2.</b> Poblaciones microbianas de los suelos de páramos y cultivos de papa ( $\log$ NMP $g^{-1}$ suelo seco).....	116
<b>Tabla 5.3.</b> Poblaciones microbianas de los suelos de bosques y sus cultivos asociados ( $\log$ NMP $g^{-1}$ suelo seco).....	119
<b>Tabla 5.4.</b> Poblaciones microbianas de los suelos de cultivo ( $\log$ NMP $g^{-1}$ suelo seco).....	119
<b>Tabla 5.5.</b> Biomasa microbiana de los suelos.....	122
<b>Tabla 5.6.</b> Contenido de agua (%) de los suelos.....	123
<b>Tabla 5.7.</b> Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables de la población y la biomasa microbiana.....	124
<b>Tabla 5.8.</b> Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman entre las propiedades bióticas y abióticas de los suelos.....	125

## Capítulo 6

<b>Tabla 6.1.</b> Parámetros cinéticos del modelo exponencial doble de primer orden al que se ajustó la respiración microbiana de los suelos de páramo.....	151
---	-----

<b>Tabla 6.2.</b> Parámetros cinéticos de los modelos a los que se ajustó la respiración microbiana de los suelos de bosque.....	153
<b>Tabla 6.3.</b> Parámetros cinéticos del modelo exponencial doble de primer orden al que se ajustó la respiración microbiana de los suelos de páramo y bosque.....	155
<b>Tabla 6.4.</b> Parámetros cinéticos del modelo exponencial doble de primer orden al que se ajustó la respiración microbiana de los suelos de cultivo.....	158
<b>Tabla 6.5.</b> Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman, entre las variables de la respiración microbiana de los suelos.....	156
<b>Tabla 6.6.</b> Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman, entre las variables de la respiración microbiana del suelo y las propiedades bióticas.....	159
<b>Tabla 6.7.</b> Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman, entre las variables de la respiración microbiana del suelo y las propiedades abióticas.....	160
<b>Capítulo 7</b>	
<b>Tabla 7.</b> Variaciones en las propiedades abióticas y bióticas de los suelos.....	181

# Índice de Figuras

## Capítulo 1

<b>Figura 1.</b> Ubicación de las cuatro áreas de estudio (La Mucuy, Cacute, Los Pozos y Los Bahitos) en el estado Mérida.....	7
--	---

## Capítulo 2

<b>Figura 2.1.</b> Variación de CIC y CC con el contenido de carbono y las fracciones finas (arcilla+limo).....	33
<b>Figura 2.2.</b> Ordenamientos de los sitios por Análisis de Componentes Principales (ACP) de las propiedades abióticas de los suelos.....	35
<b>Figura 2.3.</b> Ordenamiento de las propiedades abióticas de los suelos.....	35
<b>Figura 2.4.</b> Ordenamiento de los sitios por Análisis de Componentes Principales (ACP) de las propiedades abióticas de los suelos. Eje 1 vs. Eje 3.....	36
<b>Figura 2.5.</b> Ordenamiento de las propiedades abióticas de los suelos. Eje 1 vs. eje 3.....	36

## Capítulo 3

<b>Figura 3.1.</b> Variación de $N-NH_4^+$ durante la incubación.....	54
<b>Figura 3.2.</b> Variación de $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ .....	56
<b>Figura 3.3.</b> Variación de nitrógeno inorgánico durante la incubación.....	58
<b>Figura 3.4.</b> Variación en el N-inorgánico entre los diferentes tiempos de incubación.....	62

## Capítulo 4

<b>Figura 4.1.</b> Índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) en los ecosistemas naturales y sus cultivos asociados.....	82
<b>Figura 4.2.</b> Índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) de los suelos de ecosistemas naturales.....	86
<b>Figura 4.3.</b> Índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) de los suelos cultivados.....	86
<b>Figura 4.4.</b> Patrón de degradación de sustratos carbonados.....	88
<b>Figura 4.5.</b> Ordenamiento de todos los sitios estudiados.....	92
<b>Figura 4.6.</b> Ordenamiento de los sustratos en todos los sitios estudiados.....	92
<b>Figura 4.7.</b> Ordenamiento de los sitios de páramo y sus cultivos asociados.....	93
<b>Figura 4.8.</b> Ordenamiento de los sustratos en la conversión de páramo a cultivos.....	93
<b>Figura 4.9.</b> Ordenamiento de los sitios de bosques y sus cultivos asociados.....	94
<b>Figura 4.10.</b> Ordenamiento de los sustratos en la conversión de bosques a cultivos.....	94

## Capítulo 5

<b>Figura 5.1.</b> Proporción (%) de grupos funcionales respecto a la población total de bacterias heterótrofas de los suelos de páramo y sus cultivos.....	117
<b>Figura 5.2.</b> Proporción (%) de grupos funcionales respecto a la población total de bacterias heterótrofas de los suelos de bosques y sus cultivos.....	120
<b>Figura 5.3.</b> Análisis de Componentes Principales, centrado y estandarizado, de las poblaciones de bacterias totales, amonificantes, proteolíticos, amilolíticos, celulolíticos, propágulos de hongos, oligotrofos y copiotrofos, presentes en los diferentes sitios Muestreado.....	126
<b>Figura 5.4.</b> Análisis de Componentes Principales, centrado y estandarizado, de las poblaciones de bacterias totales, amonificantes, proteolíticos, amilolíticos, celulolíticos, propágulos de	126

hongos, oligotrofos y copiotrofos, presentes en los diferentes sitios muestreados.....	
<b>Figura 5.5.</b> Análisis de Componentes Principales, centrado y estandarizado, de las poblaciones de bacterias totales, amonificantes, proteolíticos, amilolíticos, celulolíticos, propágulos de hongos, oligotrofos y copiotrofos, presentes en los diferentes sitios muestreados.....	128
<b>Figura 5.6.</b> Análisis de Componentes Principales, centrado y estandarizado, de las poblaciones de bacterias totales, amonificantes, proteolíticos, amilolíticos, celulolíticos, propágulos de hongos, oligotrofos y copiotrofos, presentes en los diferentes sitios muestreados.....	128

## Capítulo 6

<b>Figura 6.1.</b> Velocidad de respiración y modelo cinético de la respiración microbiana de los suelos de páramo, naturales y cultivados.....	150
<b>Figura 6.2.</b> Velocidad de respiración y modelo cinético de la respiración microbiana de los suelos de bosques y sus cultivos asociados.....	152
<b>Figura 6.3.</b> Velocidad de respiración y modelo cinético de la respiración microbiana de los suelos de páramo y bosques.....	154
<b>Figura 6.4.</b> Velocidad de respiración y modelo cinético de la respiración de los suelos de cultivo..	157
<b>Figura 6.5.</b> Ordenamiento de todos los suelos estudiados.....	162
<b>Figura 6.6.</b> Ordenamiento de los parámetros respiratorios de todos los suelos.....	162

## Capítulo 7

<b>Figura 7.1.</b> Ordenamiento de todos los suelos utilizando todos los datos bióticos.....	185
<b>Figura 7.2.</b> Ordenamiento de los parámetros bióticos de todos los suelos y todos los datos.....	185
<b>Figura 7.3.</b> Ordenamiento de las variables ambientales incluyendo todos los datos bióticos.....	188
<b>Figura 7.4.</b> Ordenamiento de todos los suelos estudiados sin $C_{mic}$ , $C_f/C_b$ , $C_{mic}/C_{total}$ , $C_b$ y $qCO_2$	188
<b>Figura 7.5.</b> Ordenamiento de los parámetros bióticos de todos los suelos, sin $C_{mic}$ , $C_f/C_b$ , $C_{mic}/C_{total}$ , $C_b$ y $qCO_2$ .....	190
<b>Figura 7.6.</b> Ordenamiento de las variables ambientales de todos los suelos, sin $C_{mic}$ , $C_f/C_b$ , $C_{mic}/C_{total}$ , $C_b$ y $qCO_2$ .....	190
<b>Figura 7.7.</b> Ordenamiento de los suelos de bosques y sus cultivos asociados.....	192
<b>Figura 7.8.</b> Ordenamiento de los parámetros bióticos de bosques y sus cultivos.....	192
<b>Figura 7.9.</b> Ordenamiento de las variables ambientales en suelos de bosques y sus cultivos.....	193
<b>Figura 7.10.</b> Ordenamiento de los suelos de páramo y sus cultivos asociados.....	193
<b>Figura 7.11.</b> Ordenamiento de los parámetros bióticos de los suelos de páramo y sus cultivos.....	194
<b>Figura 7.12.</b> Ordenamiento de las variables ambientales de suelos de páramo y sus cultivos asociados.....	194
<b>Figura 7.13.</b> Ordenamiento de los suelos de ecosistemas naturales.....	195
<b>Figura 7.14.</b> Ordenamiento de los parámetros bióticos de los ecosistemas naturales.....	195
<b>Figura 7.15.</b> Ordenamiento de las variables ambientales de los suelos de ecosistemas naturales....	196

## ANEXOS

<b>Anexo A.</b> Medios de cultivo.....	211
<b>Anexo B.</b> Reactivos.....	212

## CAPÍTULO 1

### INTRODUCCIÓN GENERAL

#### 1.1. Antecedentes

El aumento de la población mundial se estima en alrededor de 219000 personas al día (U.S. Census Bureau, 2008) lo cual demanda, entre otras cosas, una mayor cantidad de alimentos. Sin embargo, la producción de alimentos per cápita está disminuyendo y cada día se pierden considerables extensiones de tierra arable. En los últimos cuarenta años, cerca de un tercio del suelo arable se ha perdido por erosión y se sigue perdiendo a una tasa estimada de más de 10 millones de hectáreas por año (Jackson, 2002). Algunos autores consideran que ante este panorama de incremento rápido de la población y disminución de suelo agrícolamente apto, para lograr satisfacer las necesidades alimentarias presentes y futuras de la población existen por lo menos, tres opciones: 1) controlar el crecimiento de la población mundial, 2) incrementar la intensidad del manejo de las tierras de uso agrícola con el fin de aumentar la productividad de las mismas, 3) aumentar la superficie de tierras destinadas a la agricultura, lo cual implica reemplazar ecosistemas naturales por agroecosistemas (Aber y Melillo, 1991).

Las dos últimas opciones tienen varias consecuencias ambientales importantes. El reemplazo o conversión de ecosistemas naturales en agroecosistemas afecta al ecosistema de diferentes maneras: provoca alteraciones de las propiedades bióticas y abióticas de los suelos, así como de la dinámica de nutrientes y los flujos de energía ya que la vegetación natural del ecosistema es reemplazada por cultivos que demandan una mayor cantidad de nutrientes. La conversión puede provocar además cambios cuantitativos en la productividad primaria neta y en su distribución entre raíces, tallos, hojas y frutos, disminución de la biodiversidad del suelo, en ocasiones, pérdida considerable de la materia orgánica y de la biomasa microbiana del suelo, además de que gran parte de la productividad primaria neta es exportada a través de la cosecha (Beare *et al.*, 1997; Aber y Melillo, 1991). La intensificación, por otro lado, con sus altos insumos de fertilizantes y pesticidas, modifica la dinámica de nutrientes y genera situaciones ambientales negativas por contaminación de las aguas, liberación de gases invernadero, eutroficación de ríos, lagos y ecosistemas marinos (Matson *et al.*, 1998).

Puesto que los microorganismos del suelo son los que, a través de procesos de descomposición y transformación, regulan el ciclado de nutrientes y la acumulación de materia orgánica, conocer de qué manera la conversión y el manejo afectan a las comunidades microbianas edáficas es fundamental para: 1) ampliar nuestro conocimiento sobre el funcionamiento de los ecosistemas naturales y de los agroecosistemas, 2) diseñar estrategias de manejo del suelo que conserven la diversidad de las comunidades microbianas edáficas y que promuevan y optimicen los servicios que dichas comunidades

prestan al ecosistema agrícola (descomposición de materia orgánica, ciclado de nutrientes, detoxificación, etc), y 3) establecer y definir índices de calidad / salud del suelo basados en parámetros microbiológicos (biomasa microbiana, diversidad funcional, especies clave, etc) que sean relevantes en términos de la fertilidad, estabilidad, sustentabilidad y elasticidad del ecosistema.

En el presente trabajo de Tesis Doctoral nos hemos propuesto estudiar diversos aspectos funcionales y estructurales de las comunidades microbianas de suelos de los Andes venezolanos, correspondientes a los ecosistemas bosque siempreverde seco, selva nublada y páramo andino; así como también de los agroecosistemas, papa, maíz y potrero. Hemos escogido esos ecosistemas naturales porque en ellos viene ocurriendo desde hace mucho tiempo el proceso de conversión a agroecosistemas, como el de papa y maíz, y queremos conocer, entre otras cosas, cuál es la respuesta de las comunidades microbianas a dicha conversión. Además, estos ecosistemas son los más extendidos en el piso superior de los Andes venezolanos, en donde se está desarrollando una importante actividad agrícola que ha implicado la conversión de áreas significativas de estos ecosistemas. Los páramos ocupan el piso superior, por encima de los 3000 a 3300 m, las selvas nubladas los pisos intermedios entre 2000 a 3000 m sobre las vertientes más húmedas y los bosques siempre verdes, aproximadamente el mismo piso altitudinal pero sobre vertientes más secas. En su conjunto son los tres ecosistemas característicos de la alta montaña tropical.

El cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) constituye uno de los rubros más importantes en la economía agrícola andina y se presenta en los pisos altitudinales altos de los Andes. Los agricultores han recurrido a diversas estrategias para aumentar la producción de este rubro, mediante la utilización de fertilizantes químicos y de enmiendas orgánicas como el estiércol de gallina, chivo y vaca y la cáscara de arroz (pargana) que pueden ser empleados solos o mezclados (Velásquez, 2004). En los Andes, el cultivo de papa se remonta a la época prehispánica y el manejo ha sufrido desde entonces muchos cambios debido a diversas influencias externas (Monasterio, 1980; Sarmiento y Monasterio, 1993). Así, podemos mencionar que desde el siglo XVI y hasta 1930, en la localidad de Mucuchíes, se aplicaron prácticas agrícolas basadas en el barbecho y la rotación de cultivo de trigo. A partir de ese año se produjo un cambio importante en el manejo del cultivo de papa, con la introducción de nuevas variedades y de insumos agrícolas nunca antes utilizados, como los fertilizantes de origen industrial y los plaguicidas (Velásquez, 2004). Sin embargo, en otras zonas de los Andes venezolanos, como los páramos de Apure y de Gavidia, se mantienen aún prácticas agrícolas menos tecnificadas, basadas en la aplicación de abonos verdes y de origen animal, así como el de incluir periodos de descanso de las parcelas, de duración variable, con la finalidad de que el suelo recupere la fertilidad (Sarmiento y Monasterio, 1993; De Robert y Monasterio, 1993).

El maíz (*Zea mays* L.), no tan importante económicamente como la papa en la zona andina, se cultiva en áreas que se corresponden altitudinalmente con la selva nublada y el bosque siempreverde seco, y básicamente constituye un elemento de la agricultura de subsistencia, alimento animal y abono verde. El maíz crece en casi todo tipo de suelo, aunque mejor en los alcalinos y con buen drenaje. Se siembra preferiblemente durante la época lluviosa, entre los meses de abril y junio. Para la siembra se limpia el terreno y se abren agujeros de poca profundidad a lo largo de los surcos donde serán depositadas cinco o seis semillas. En muchas ocasiones, las semillas de maíz son sembradas junto con otras de frijol, caraotas y auyama y también con estacas de yuca. Esta siembra en policultivo, además de permitir al agricultor cosechar diferentes productos, protege al suelo de la erosión y permite un mejor control de plagas. Además, cuando se siembran leguminosas, se provee al suelo de nitrógeno, lo cual es muy importante para el cultivo de maíz. También es importante la incorporación de fertilizantes inorgánicos y orgánicos, que contribuyan a mejorar las propiedades generales del suelo (Fuentes y Hernández, 1992).

Los ecosistemas naturales incluidos en nuestro estudio, presentan características generales que vienen dadas por su altitud, temperatura y precipitación, lo que determina los diferentes tipos de vegetación. El bosque siempreverde seco, ocupa las vertientes secas de la Cordillera de Mérida, se distribuye entre 1600 y 2700 metros de altitud y presenta bajas precipitaciones anuales (500-1100 mm) y temperaturas medias entre 10 y 18 °C. La selva nublada, exuberante y con abundantes árboles de gran tamaño, presenta como principal característica un manto de nubes que la cubre casi permanentemente, lo que resulta en baja insolación y alta humedad relativa. Se distribuye entre los 2000 y 3000 m, aunque puede aparecer ya a los 1800 m. Las temperaturas medias anuales pueden variar entre 9 y 19 °C, mientras que las precipitaciones varían entre 1000 y 2500 mm. Las especies arbóreas que predominan en este ecosistema son: *Billia colombiana* Planch. & Linden, *Clusia multiflora* Humb., Bonpl. & Kunth, *Guettarda steyermarkii* Standl., *Laplacea fruticosa* (Schrad.) Kobuski, *Oreopanax moritzii* Harms, *Sapium stylare* Müll.Arg., además de diversas especies epifitas (Ataroff, 2001).

El páramo es un ecosistema de alta montaña, cuyo paisaje ha sido influenciado por glaciaciones, que se encuentra fundamentalmente en los Andes del norte de Sudamérica y que es único y muy diverso florísticamente. Está compuesto por diferentes tipos de vegetación, presenta diferencias locales en cuanto a clima, suelo e hidrología y lo encontramos desde aproximadamente los 3000 m de altura hasta los límites de las nieves eternas, es decir 4800-5000 m. Tiene un ambiente húmedo y frío con fluctuaciones diurnas de temperatura a nivel del suelo desde por debajo de 0° hasta 23 °C (Monasterio y Molinillo, 2003). A diferencia de la puna del sur de Perú, Bolivia y Argentina, que posee un clima seco, el clima del páramo es húmedo. Los suelos del páramo son, en general, húmicos, negros o marrón oscuro, ácidos (pH 3,7-5,5) y en cierto grado fértiles y pueden estar saturados con agua en

virtud, de que poseen un alto contenido de materia orgánica que es descompuesta muy lentamente. Debido a las altas altitudes del páramo, ciertos factores fisicoquímicos y climáticos afectan el funcionamiento de los organismos que allí viven (Luteyn, 1992). En Venezuela el páramo andino, se encuentra entre los 3000 y 4300 m, presenta temperaturas medias anuales entre 0 y 10 °C, y precipitaciones entre 800 y 1800 mm. La vegetación más característica está representada por el rosetal-arbustal (*Espeletia* spp.) arbustos y gramíneas (Ataroff y Sarmiento, 2004; Cárdenas *et al.*, 2000).

### **El papel de los microorganismos en los procesos del suelo**

Existe una gran variedad y cantidad de microorganismos en el suelo: bacterias, hongos, algas y protozoarios. Las bacterias, que son los más abundantes, pueden llegar a  $10^{10}$  organismos por gramo de suelo y posiblemente se encuentren miles de especies diferentes (Torsvik y Øvreås, 2002). La biomasa microbiana también es abundante pudiéndose encontrar 1-2 t ha<sup>-1</sup> de bacterias y entre 2-5 t ha<sup>-1</sup> de hongos (Nannipieri *et al.*, 2003).

En los suelos, los microorganismos son los responsables de la descomposición de compuestos carbonados tales como, celulosa, hemicelulosa, polisacáridos, hidrocarburos, lignina, etc (Roper y Ophel, 1997). Adicional a esto, los microorganismos del suelo y fundamentalmente las bacterias, son responsables de numerosas transformaciones de nutrientes, como: 1) todas las principales transformaciones del nitrógeno (e.g., amonificación, nitrificación quimioautotrófica y heterotrófica, reducción y desnitrificación disimilatoria del nitrato y el nitrito, fijación simbiótica y asimbiótica del N<sub>2</sub>), 2) mineralización y solubilización del fósforo, 3) oxidación, reducción y precipitación del hierro, y 4) oxidación y reducción disimilatoria del azufre inorgánico (Beare *et al.*, 1997). Los microorganismos son responsables también de la transformación de otros minerales, como K, Ca, Mg, Mn, Al, As, Zn y Se. Todos estos procesos en los que participa la microbiota del suelo constituyen parte esencial del flujo de energía y de la dinámica de nutrientes del suelo y de ahí la importancia del componente microbiológico en el funcionamiento del ecosistema. Si a esto le añadimos que el compartimiento microbiológico es uno de los indicadores biológicos más sensibles del sistema, se entiende su importancia a la hora de detectar perturbaciones o disturbios en el ecosistema (Roper y Ophel, 1997). En este sentido, un aspecto importante a considerar es que ciertos parámetros y grupos taxonómicos y funcionales de microorganismos son más sensibles que otros a los cambios o perturbaciones del ecosistema.

Roper y Ophel (1997), estudiaron el efecto de diferentes agroquímicos sobre la microflora del suelo y establecieron los siguientes grupos y funciones de diferente sensibilidad:

1. Grupos (bacterias nitrificantes, actinomicetos y *Rhizobium*) y funciones (degradación de la materia orgánica y nitrificación) de alta sensibilidad.

2. Grupos (población general de bacterias, hongos o algas) y funciones (respiración del suelo, desnitrificación y amonificación) de mediana sensibilidad.
3. Grupos (poblaciones de *Azotobacter*, amonificantes y proteolíticos) y funciones (fijación aeróbica del nitrógeno) de baja sensibilidad.

Los autores resaltan que los microorganismos o funciones de alta sensibilidad pueden ser útiles para detectar pequeños cambios en la calidad del suelo resultantes de perturbaciones pequeñas, mientras que los cambios en los grupos o funciones de baja sensibilidad pueden indicar perturbaciones mayores y con efectos a más largo plazo (Roper y Ophel, 1997).

### **Efecto de los disturbios sobre las comunidades microbianas del suelo**

Ha sido observado que la diversidad funcional de las comunidades microbianas puede ser un indicador muy sensible de los cambios ambientales por lo que el tamaño y composición de las comunidades microbianas del suelo han sido utilizados como parámetros para evaluar el impacto ambiental en respuesta a: 1) el reemplazo de ecosistemas naturales por agroecosistemas, 2) diferentes manejos.

Utilizando técnicas de análisis de ADN, Nusslein y Tiedje (1999), estudiaron dos suelos adyacentes en la región de Kolala, Hawaii. Uno de los suelos estaba cubierto por un bosque tropical y el otro por una pastura de *Pennisetum clandestinum* que reemplazaba al bosque tropical original desde hace 80 años. Los autores encontraron que la conversión del bosque en pastura conlleva a cambios significativos en la composición taxonómica de la comunidad de bacterias del suelo.

Bonerman y Triplet (1997), utilizando métodos moleculares evaluaron la diversidad de microorganismos en suelos de la Amazonía (estado de Pará, Brasil). Los autores reportaron diferencias en la población de microorganismos entre suelos del bosque y una pastura adyacente cultivada con *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweick, concluyendo que cada sitio posee microorganismos diferentes.

Bossio y Scow (1995), estudiaron el efecto de la incorporación de paja de arroz al suelo y encontraron cambios en el contenido de C y N de la biomasa microbiana pero no detectaron cambios en la diversidad metabólica de la comunidad microbiana.

Donnison *et al.*, (2000), reportaron que aunque la intensificación en el manejo no producía efectos significativos en la biomasa microbiana ni en la actividad, si afectaba la estructura de la comunidad microbiana ya que reduce la cantidad de biomasa fúngica.

Crecchio *et al.*, (2004) llegaron a la conclusión de que el manejo afecta la diversidad funcional de las comunidades microbianas, la composición y el tamaño de la población medido como unidades formadoras de colonias por gramo de suelo, pero consideran que la determinación del ATP microbiano

y el perfil fisiológico a nivel de la comunidad parecen ser indicadores más fidedignos y útiles que el conteo de bacterias totales para describir el efecto del manejo sobre los microorganismos del suelo.

Castillo y Joergensen (2001), midieron la biomasa y actividad microbiana (respiración) en suelos bajo diferentes manejos y observaron que las propiedades microbiológicas, como la respiración basal y el contenido de ergosterol (biomasa fúngica) mejoran significativamente en los suelos manejados sin pesticidas, con fertilizantes orgánicos, rotación de cultivos, etc., en relación al manejo convencional.

Hedlund (2002), estudió el desarrollo de las comunidades microbianas en suelos de bosque, campos agrícolas y parcelas en sucesión y reporta un aumento en la biomasa de bacterias y hongos en los suelos bajo sucesión en comparación con el bosque y el campo agrícola. Además, su trabajo indica que hay diferencias en la estructura de la comunidad microbiana, determinada por su perfil de ácidos grasos-fosfolípidos (phospholipid fatty acids, PLFA), entre el bosque y el campo agrícola adyacente.

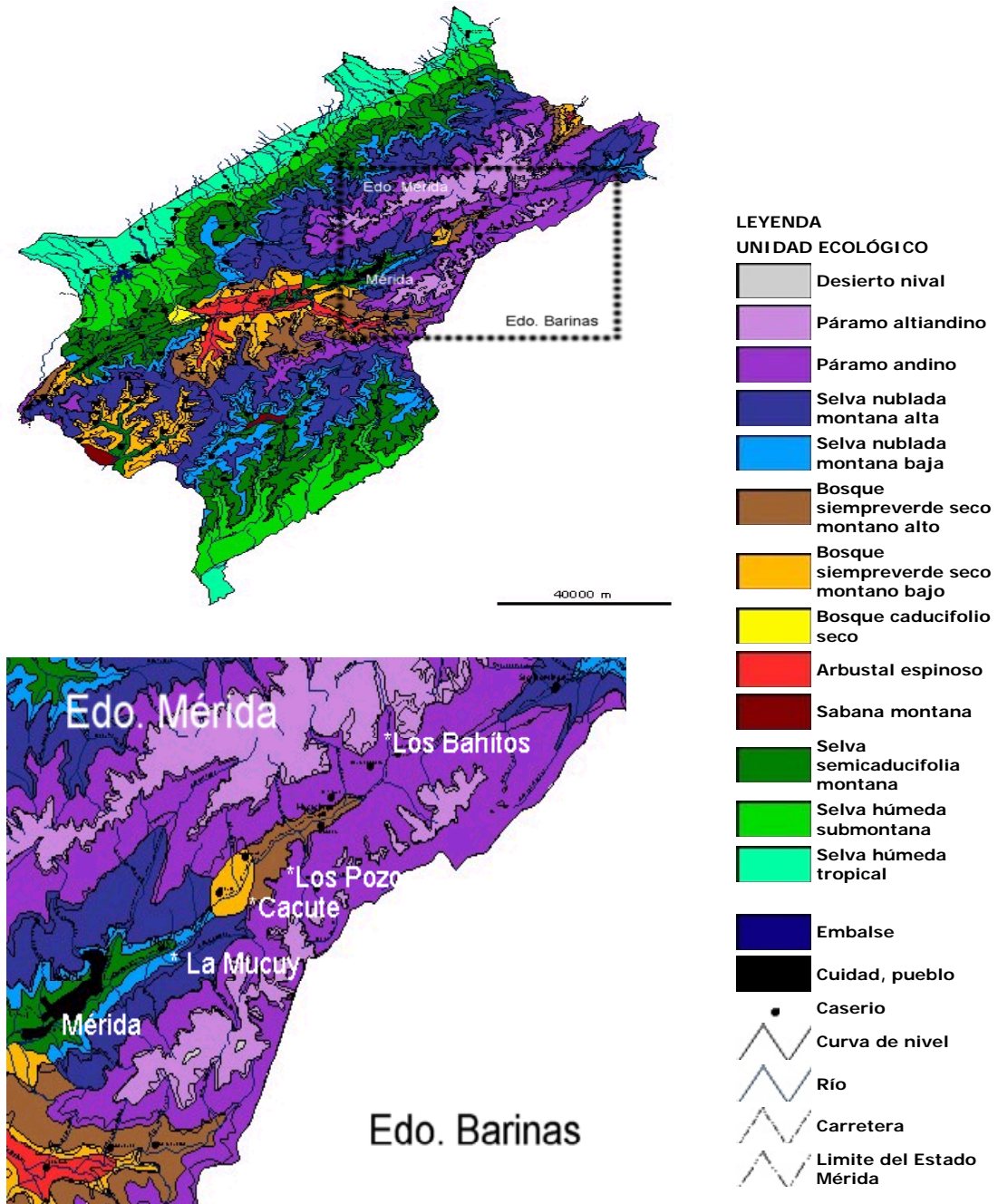
De la lectura de los trabajos anteriormente señalados, se puede concluir que en términos generales, el cambio en el uso del suelo y los diferentes manejos de los cultivos, generan cambios funcionales, estructurales y en la diversidad de las comunidades microbianas del suelo, y que tales cambios pueden ser detectados con diferentes métodos de estudio de la microbiota del suelo.

## **1.2. Ecosistemas y parámetros estudiados en esta tesis**

Se estudiaron tres tipos de ecosistemas naturales: páramo, selva nublada y bosque siempre verde seco y tres agroecosistemas: cultivo de papa, de maíz y potrero. En todos los estudios se escogieron parcelas adyacentes, que tenían características similares (pendiente, pedregosidad, etc), una con vegetación natural y otra con cultivo.

Las áreas estudiadas se ubican en el estado Mérida (Fig. 1), específicamente en las siguientes localidades: caserío de Los Bahitos, a 3670 msnm y Los Pozos (3080 msnm) donde se estudió la conversión del ecosistema páramo en cultivo de papa; en la localidad de Cacute (2150 msnm), en donde se estudió el bosque siempre verde seco y dos parcelas vecinas, una con cultivo de maíz y un potrero. La otra área de estudio se localiza en La Mucuy (Agropecuaria La Isla, 2100 msnm), y corresponde a selva nublada y cultivo de maíz. La Tabla 1.1 muestra las principales características de los sitios de muestreo. Todas las muestras se recogieron entre el 21 y 26 de junio de 2004.

FIGURA 1



**Figura 1.** Ubicación de las cuatro áreas de estudio (La Mucuy, Cacute, Los Pozos y Los Bahitos), en el estado Mérida, superpuestas al mapa de unidades ecológicas de Ataroff y Sarmiento ((2003).

**Tabla 1.1.** Características generales de los sitios de muestreo

Nomenclatura	Sitio	Altitud <sup>a</sup>	Vegetación o uso	Pendiente (%)	Latitud	Longitud	Precipitación (mm)	Temp. media
<b>BF</b>	Los Bahitos	3670	Páramo	35	8°50'	70°51'	792 <sup>b</sup>	5 °C
<b>BP</b>	Los Bahitos	3670	Papa	33	8°50'	70°51'	792 <sup>b</sup>	5 °C
<b>PF</b>	Los Pozos	3080	Páramo	25	8°42'	70°58'	1004 <sup>b</sup>	8,6 °C
<b>PP</b>	Los Pozos	3080	Papa	27	8°42'	70°58'	1004 <sup>b</sup>	8,6 °C
<b>CB</b>	Cacute	2150	BSVS <sup>c</sup>	69	8°40'	71°01'	1237 <sup>d</sup>	16 °C
<b>CM</b>	Cacute	2150	Maíz	23	8°40'	71°01'	1237 <sup>d</sup>	16 °C
<b>CP</b>	Cacute	2149	Potrero	30	8°40'	71°01'	1237 <sup>d</sup>	16 °C
<b>MS</b>	La Mucuy	2110	Selva Nublada	14	8°38'	71°02'	3124	15,3 °C
<b>MM</b>	La Mucuy	2110	Maíz	14	8°38'	71°02'	3124	15,3 °C

<sup>a</sup>Metros sobre el nivel del mar; <sup>b</sup> Interpolado del mapa de isoyetas de Andressen (1973); <sup>c</sup>Bosque siempreverde seco; <sup>d</sup> Tomado de Aranguren (2009).

En los Bahitos, la vegetación de páramo estaba dominada por especies de *Espeletia schultzii* Wedd., *Acaena* sp., *Stevia lucida* Lad. e *Hypericum laricifolium* Juss. Para el momento del muestreo el cultivo de papa tenía 12 semanas de sembrado y en esta parcela, además, se hacían cultivos rotativos de avena y papa. El tipo de papa sembrado era la variedad Montserrat. El manejo consistía fundamentalmente en utilizar fertilizante orgánico (gallinaza) e inorgánico (NPK granulado).

En Los Pozos, las especies dominantes eran *Espeletia schultzii* Wedd. y *Baccharis prunifolia* Kunth, además de abundar las gramíneas (*Nassella*, *Penisetum*, *Aegopogon*, *Muelhenbergia*, *Bromus*). Otras hierbas presentes fueron *Noticastrum marginatum* (Kunth) Cuatrec y *Orthosanthus*. El manejo era intensivo, con grandes aportes de gallinaza y fertilizantes inorgánicos. En general, en Los Andes venezolanos, el manejo intensivo del cultivo de papa incluye la utilización de 10 Tm/ha de abono orgánico (gallinaza), 16 sacos (20 kg saco<sup>-1</sup>)/ha de fertilizante químico (12-12-17/ 2SP), 500 kg/ha de cal y 10 Tm/ha de pargana (MPPAT 2009).

En la Agropecuaria la Isla, en La Mucuy, se estudió el ecosistema selva nublada y como sistema de reemplazo el cultivo de maíz.

En Cacute el muestreo se realizó en la finca Santa Elena, en donde se encuentra el ecosistema natural bosque siempreverde y los agroecosistemas asociados, maíz y potrero, este último dominado por la gramínea introducida *Pennisetum clandestinum* Hochst. El cultivo de maíz estaba asociado con caraota (*Phaseolus vulgaris* L.) y anteriormente trigo. El manejo fue fundamentalmente con abono orgánico (bosta de ganado vacuno y hojas de pino) y bajas dosis de fertilizante inorgánico. El potrero, constituido por *Penisetum clandestinum* Hochst. y algunos árboles de manzana, tiene una extensión

aproximada de 2000 m<sup>2</sup>. Dos veces al año y durante 3-4 semanas es pastoreado con 4 ejemplares de ganado equino. Así, el potrero tiene 5 meses de descanso al año y lleva unos 23-24 años manejado de esta manera. El bosque actual es un bosque secundario donde hace 60 años se cultivaba trigo. Las especies arbóreas predominantes en el área de estudio del bosque siempreverde seco fueron (Aranguren, 2009) *Calycolpus moritzianus* (O. Berg) Burret, *Myrsine* sp., *Tournerfortia scabrida* Kunth, *Viburnum tinoides* L. F, *Clusia minor* L, *Clusia major* (Jacq.) L. , *Myrcianthes karsteniana* (O. Berg) McVaugh, *Ugni myricoides* (O. Berg) McVaugh, *Hesperomeles obtusifolia* (DC.) Lindl. Además, se encontraron otras especies no arbóreas como *Begonia foliosa* var. *putzeysiana* (A.DC.) L.B.Sm. & B.G.Schub. y *Monochaetum* sp., entre las más abundantes.

**Toma de muestras.** En cada uno de los ecosistemas o agroecosistemas estudiados se estableció una parcela de aproximadamente 100 m<sup>2</sup> que fue subdividida en tres subparcelas de igual tamaño cada una. De cada una de las subparcelas y después de haber removido el mantillo, se tomaron con un barreno, cantidades equivalentes de suelo a una profundidad de 0-15 cm en 10 puntos diferentes, tomando alrededor de ½ kg en cada punto y siguiendo una trayectoria en zig-zag en cada subparcela. De esta manera, se recogieron un total de tres muestras compuestas por parcela, que se trataron de manera independiente en todos los estudios. Una parte de cada una de las tres muestras (~ 500 g) se guardó a 4 °C (suelo fresco) y la otra se secó (suelo seco) a temperatura ambiente (~24 °C) por 5 días, se tamizó a 2 mm y se guardó en bolsas de polipropileno hasta su uso.

### **Parámetros estudiados.**

En el **Capítulo 2** se estudian las propiedades abióticas de los suelos, las cuales son de gran importancia porque nos dan información de las características físicas y químicas de los mismos y de cómo la conversión y el manejo las afecta. El conocimiento de las propiedades abióticas, por otro lado, indica la fertilidad natural, la cual está relacionada con el contenido de bases cambiables Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>, K<sup>+</sup> y Na<sup>+</sup> además de fósforo (P) y nitrógeno (N); la granulometría da información del tamaño de las partículas minerales que forman el suelo asociada a otras propiedades como la capacidad de retención de agua (CC) y la densidad aparente, y es uno de los factores relacionados con su capacidad de intercambio de cationes (CIC). Esta última es una de las propiedades más importantes ya que determina la capacidad que tiene el suelo de retener los elementos involucrados en la nutrición de las plantas. También algunas propiedades como la textura, poco susceptibles a cambios en el corto plazo, informan sobre lo comparable que puedan o no ser los pares de suelos escogidos. Otros parámetros como el contenido de carbono y la relación carbono: nitrógeno (C/N) indican la cantidad y calidad de la materia orgánica presente en el suelo. De manera tal que las propiedades abióticas de los suelos nos permiten

conocer el estatus físico-químico de los suelos naturales, así como el impacto que la conversión y el manejo tienen sobre los mismos y constituye información de mucho valor para capítulos posteriores.

En el **Capítulo 3** se analizan dos procesos microbianos claves en el ciclado del nitrógeno: la nitrificación y la mineralización (amonificación). El estudio de estos procesos da información de la velocidad y magnitud con que ocurren las transformaciones del nitrógeno y la cantidad de este que queda disponible para las plantas o que puede ser susceptible de pérdidas por escorrentía o lixiviación y que por lo tanto representa una amenaza para la salud del ecosistema. Sin embargo, hay que considerar que las perturbaciones y manipulaciones a los que se someten las muestras de suelo antes de su incubación en el laboratorio, tales como, tamizado, secado y rehidratación, almacenamiento, etc., aunado a las condiciones de incubación que en gran medida son muy diferentes a las encontradas en el campo, pueden resultar en tasas de nitrificación que disten de las que se dan en los suelos en condiciones naturales, por lo que las estimaciones tienen un valor principalmente comparativo (Hart *et al.*, 1994). En este capítulo se estudiaron las tasas de nitrificación relativa (neta) y absoluta, así como también la mineralización neta, de suelos de bosques (selva nublada y bosque siempreverde) y sus cultivos asociados (maíz y potrero), y páramo andino y cultivo de papa.

En el **Capítulo 4** se estudia la diversidad funcional microbiana, también denominada perfil fisiológico a nivel de comunidad (CLPP en inglés, Community-Level Physiological Profile). El perfil fisiológico a nivel de comunidad constituye el método dependiente de cultivo más utilizado para el análisis de la diversidad funcional de las comunidades microbianas del suelo. El método fue originalmente desarrollado para la identificación de cepas bacterianas aisladas de muestras clínicas, alimentos, agua, etc., y se basa en la capacidad de los aislados para oxidar diferentes fuentes de carbono. Luego fue adaptado para estudiar la diversidad metabólica de las comunidades microbianas del suelo (Garland y Mills, 1991; Garland, 1997). El uso de esta metodología se ha visto facilitada por la utilización de un sistema taxonómico ampliamente conocido por los microbiólogos y que es comercializado con el nombre de sistema BIOLOG<sup>TM</sup>. Este sistema se basa en la diferente capacidad que puedan tener los microorganismos para utilizar 95 fuentes de carbono diferentes, lo cual es detectado por la reducción del colorante violeta de tetrazolio que resulta en un cambio de color que puede ser detectado a simple vista o cuantificado espectrofotométricamente (Hill *et al.*, 2000). El resultado del análisis es un perfil fisiológico cualitativo de las funciones potenciales de una determinada comunidad.

En el **Capítulo 5** se analiza la estructura de las comunidades microbianas. Para ello se determinó la densidad de: bacterias heterótrofas, propágulos de hongos, microorganismos involucrados en el ciclo del carbono (celulolíticos y amilolíticos), del nitrógeno (amonificantes y proteolíticos), la

relación oligotrofos/copiotrofos. También cuantificamos la biomasa fúngica determinando el ergosterol presente en los suelos.

El uso de las comunidades microbianas como indicadores biológicos para evaluar el impacto del cambio del uso y el manejo del suelo sobre los ecosistemas naturales y los agroecosistemas, ha recibido la atención de muchas investigaciones. Sin embargo, esta tarea enfrenta una serie de limitaciones técnicas y metodológicas debido a que los métodos convencionales dependientes de cultivo de los microorganismos permiten el desarrollo de una cantidad muy reducida de microorganismos, estimada por comparación de conteos directos por microscopía, de tan sólo entre 1-5 % del total. Esto ha servido de estímulo para desarrollar nuevos métodos, independientes del cultivo de los microorganismos, basados en técnicas de aislamiento de ácidos nucleicos y procedimientos de biología molecular. Esto a su vez ha generado una controversia acerca de cuál de los dos métodos posee mayor validez y representa mejor lo que ocurre en el suelo. Aunque los métodos independientes del cultivo, están libres del sesgo impuesto por las limitaciones nutricionales que poseen los medios de laboratorio, algunos autores afirman que carecen de capacidad para discriminar entre células activas e inactivas que conforman la totalidad de la población microbiana edáfica (Hatori *et al.*, 1997). Esta controversia ha motivado a realizar estudios que comparan ambas técnicas en su capacidad para detectar cambios en las poblaciones microbianas de suelos sometidos a disturbios. Ellis *et al.*, (2003), en uno de estos estudios concluyen que el conteo viable de bacterias en medios de cultivo es un método más apropiado que el de análisis de ácidos nucleicos para determinar el efecto de los metales pesados sobre las bacterias del suelo. Otros autores, estudian cinéticas de formación de colonias microbianas sobre medios con agar y proponen la idea de que las bacterias del suelo que pueden crecer sobre medios de cultivo convencionales constituyen la porción ecológicamente relevante de la comunidad bacteriana del suelo (Hatori *et al.*, 1997).

La relación de bacterias oligotrofas (con bajos requerimientos nutricionales) a bacterias copiotrofas (con altos requerimientos nutricionales) ha sido propuesta como un índice de la tolerancia al estrés nutricional de las bacterias del suelo. Una proporción alta, i.e., dominancia de oligotrofos, sería indicativo de condiciones ambientales estables, con baja disponibilidad de nutrientes. Una proporción baja, i.e., dominancia de copiotrofos, por el contrario indicaría un ambiente inestable, recibiendo aportes regulares de sustratos ricos en materia orgánica, como pesticidas o abonos orgánicos (van Brugen y Semenov, 2000). Esta relación puede ser determinada tanto por la aparición de colonias en la superficie del agar o por métodos de biología molecular. La aparición de colonias sobre el agar se cuantifica contando las unidades formadoras de colonias (UFC) a intervalos específicos de tiempo. Las UFC de aparición temprana constituyen las bacterias copiotrofas y las de aparición tardía las oligotrofas.

En el **Capítulo 6** se estudia la respiración de los suelos y se determina el coeficiente metabólico ( $qCO_2$ ). La respiración del suelo consiste en la oxidación biológica de la materia orgánica hasta  $CO_2$  y es realizada por organismos aeróbicos, especialmente por los microorganismos. Constituye el más importante proceso natural por el que el C terrestre fijado en la fotosíntesis retorna a la atmósfera. El término respiración del suelo es comparable al de mineralización, es decir, a la conversión de un elemento desde una forma orgánica a una inorgánica (Zibilske, 1994). La cuantificación del proceso de respiración o mineralización puede realizarse en el campo o en el laboratorio y por diferentes métodos, pero en todo caso provee información acerca de: 1) el estado fisiológico o potencial catabólico de las poblaciones microbianas, 2) la descomposición de sustratos orgánicos específicos presentes en el suelo, 3) la biomasa microbiana, y 4) la contribución relativa de microorganismos, fauna, raíces, etc. al flujo de C en el suelo (Zibilske, 1994). También provee información sobre la labilidad o estabilidad de la materia orgánica del suelo (MOS), permitiendo identificar compartimientos y calcular sus tasas de descomposición.

La determinación de la cantidad de  $CO_2$  acumulado después de un tiempo determinado y el ajuste a ecuaciones matemáticas de las curvas acumulativas de  $CO_2$  permite conocer parámetros asociados a la cantidad y calidad de sustratos disponibles en el suelo, tasas de mineralización de la materia orgánica, etc. Las curvas de  $CO_2$  acumulado pueden ajustarse a ecuaciones exponenciales simples, dobles o logísticas (Glaser *et al.*, 2001; Sarmiento y Bottner, 2002; Diz, 2003). La respiración basal de los suelos está positivamente relacionada con el contenido de materia orgánica del suelo, la biomasa y actividad microbiana y generalmente puede ajustarse a una cinética exponencial de primer orden o exponencial doble de primer orden (Diz, 2003).

El coeficiente metabólico ( $qCO_2$ ), también denominado tasa respiratoria específica, se define como la tasa respiratoria microbiana (medida como evolución de  $CO_2$ ) por unidad de biomasa microbiana. El  $qCO_2$  ha sido utilizado para estudiar cambios y situaciones de estrés en el suelo a lo largo del tiempo, encontrándose que el cociente disminuye con la edad del suelo y aumenta cuando el estrés del ecosistema es alto (Insam y Domsch, 1988; Insam y Haselwandler, 1989; Anderson y Domsch, 1990; Grayston *et al.*, 2001). Sin embargo debe tenerse mucha prudencia a la hora de interpretar este parámetro pues un coeficiente metabólico alto también puede ser reflejo de una mayor proporción de bacterias en relación a hongos en la comunidad microbiana del suelo, que como se sabe tienen menor biomasa pero mayores tasas de respiración (Grayston *et al.*, 2001).

En el **Capítulo 7** se hace el análisis integrado del efecto de las variables ambientales y las propiedades fisicoquímicas del suelo sobre la estructura y funcionamiento de la comunidad microbiana.

En el **Capítulo 8** se cierra con la discusión y conclusiones finales.

### 1.3. Hipótesis

1. Puesto que los ecosistemas naturales de páramo, selva nublada y bosque siempreverde seco, presentan diferentes características que vienen dadas por su altitud, temperatura, precipitación, vegetación, entre otras, esperaríamos también, diferencias estructurales y funcionales de sus comunidades microbianas.

2. Es los ecosistemas naturales se esperaría mayor diversidad funcional microbiana, menor coeficiente metabólico y menor tasa de nitrificación que en los sistemas agrícolas

3. Se esperan diferencias entre los sistemas cultivados, relacionadas con el tipo de cultivo y el tipo de prácticas agrícolas e intensidad del manejo.

### 1.4. Objetivos

#### Objetivos generales

1. Caracterizar en sus propiedades bióticas y abióticas suelos de ecosistemas naturales de los Andes venezolanos, como son, el páramo, la selva nublada y el bosque siempreverde seco. Esto es importante porque, por una parte, al develar la composición, estructura y función de las comunidades microbianas constituyentes de estos ecosistemas, se contribuirá a comprender mejor el funcionamiento de los mismos.

2. Conocer las características bióticas y abióticas de los suelos de cultivos de papa (*Solanum tuberosum* L), maíz (*Zea mays* L) y de potrero (*Penisetum clandestinum* Hochst).

3. Por último, se desea integrar los conocimientos que se generen de la consecución de los dos objetivos anteriores, con la finalidad de conocer los cambios bióticos y abióticos que tienen lugar en el suelo cuando ocurre la conversión de ecosistemas naturales (selva nublada, bosque siempre verde seco y páramo) a agroecosistemas (cultivo de *Solanum tuberosum* L, *Zea mays* L, potrero).

#### Objetivos específicos

Conocer aspectos bióticos y abióticos de los suelos de ecosistemas naturales y agroecosistemas y determinar cómo responden al cambio algunos parámetros y procesos que son mediados por los microorganismos edáficos y que pueden ser sensibles a los cambios en el uso y el manejo del suelo. Siguiendo un enfoque ecológico clásico, se quieren conocer tres aspectos básicos de las comunidades microbianas del suelo:

1. Tamaño; determinando para ello, la biomasa microbiana, el recuento de bacterias heterótrofas, biomasa fúngica, propágulos de hongos.

2. Estructura; cuantificando los descomponedores de carbono (celulolíticos y amilolíticos), los transformadores del nitrógeno (proteolíticos, amonificantes), y la relación oligotrofos /copiotrofos.

3. Actividad; midiendo la respiración basal, la diversidad funcional (degradación de sustratos carbonados) y la nitrificación y mineralización potencial.

## 1.5. Referencias Bibliográficas

- Aber J y Melillo J (1991). *Terrestrial Ecosystems*. Saunders College Publishing.
- Aranguren A (2009). *Caracterización de comunidades leñosas estacionalmente secas premontanas y montanas en el estado Mérida*. Tesis Doctoral. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 241 p.
- Anderson TH y Domsch KH (1990). Application of eco-physiological quotient (qCO<sub>2</sub> and qD) on microbial biomasses from soils of different cropping histories. *Soil Biology & Biochemistry*. 22: 251-255.
- Andressen, R. y Ponte, R (1973): Estudio integral de las cuencas de los ríos Chama y Capazón. Subproyecto N° II, Climatología e Hidrología. ULA, Mérida. Mapa Isoyetas Medias Anuales, escala 1: 250 000.
- Ataroff, M. (2001). Venezuela. En M Kappelle y A Brown (eds.). *Bosques nublados del geotrópico*, editorial IMBIO, Costa Rica, pp. 397-442.
- Ataroff M y Sarmiento L (2004). Las unidades ecológicas de los Andes de Venezuela. En E La Marca y P Soriano (eds.). *Reptiles de Los Andes de Venezuela* Fundación Polar. Conservación Internacional. CODEPRE-ULA. Fundacite Mérida. BIOGEOS. Mérida. Venezuela, pp. 9-26.
- Ataroff M y Sarmiento L (2003). Diversidad en Los Andes de Venezuela. Mapa de unidades ecológicas del estado Mérida. CD-ROM, ediciones Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas (ICAE), Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Beare MH, Vikram M, Tian G y Srivastava SC (1997). Agricultural intensification soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of decomposer biota. *Applied Soil Ecology* 6: 87-108.
- Bonerman J y Triplett EW (1997). Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: Evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied and Environmental Microbiology* 63(7): 2647-2653.
- Bossio DA y Scow KM (1995). Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils. *Applied and Environmental Microbiology* 61(11): 4043-4050.
- Cárdenas A L, Carpio RY y Escamilla F (2000). Geografía de Venezuela. 2ª Edición. Fondo Editorial de la Universidad Pedagógica Experimental Libertador. Caracas.
- Castillo X y Joergensen R (2001). Impact of ecological and conventional arable management systems on chemical and biological soil quality in Nicaragua. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1591-1597.

- Crecchio C, Gelsomino A, Ambrosoli R, Minati JL y Ruggiero P (2004). Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices. *Soil Biology & Biochemistry* 36: 1873-1883.
- De Robert P y Monasterio M (1993). Prácticas agrícolas campesinas en el páramo de Apure, Sierra Nevada de Mérida, Venezuela. En M Rabey (ed). *El uso de recursos naturales en las montañas: tradición y transformación*. MAB-UNESCO. Uruguay, pp. 37-54.
- Diz CN (2003). *Respuesta microbiana a la quema y al abonado del suelo*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. España. 478 p.
- Donnison LM, Griffith GS, Hedger J, Hobbs PJ y Bardgett RD (2000). Management influences on soil microbial communities and their function in botanically diverse haymeadows of northern England and Wales. *Soil Biology & Biochemistry*. 32: 253-263.
- Ellis RJ, Morgan P, Weighman AJ y Fry JC (2003). Cultivation-dependent and independent approaches for determining bacterial diversity in heavy metal contaminated soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(6): 3223-3230.
- Fuentes C, Hernández D (1992). Maíz. En *Cultivos Tradicionales de Venezuela*. Fundación Bigott. 2ª edición. pp. 44-61.
- Garland JL y Mills AL (1991). Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of pattern of community level sole carbon source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. 57 (8): 2351-2359.
- Garland JL (1997). Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology* 24: 289-300.
- Glaser B, Lehmann J, Fuhrboter M, Solomon D y Zech W (2001). Carbon and nitrogen mineralization in cultivated and natural savanna soils of Northern Tanzania. *Biology and Fertility of Soils* 33: 301-309.
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD, Bardgett RD (2001). Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry*. 33: 533-551.
- Hart SC, Stark JM, Davidson EA, Firestone MK (1994). Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification. En RW Waver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds.) *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties*. Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin, EEUU, pp. 985-1018.
- Hattori T, Mitsui H, Haga H, Wakao N, Shikano S, Gorchach K, Kasahara Y, El-Beltagy A y Hattori R (1997). Advances in soil microbial ecology and the biodiversity. *Antonie van Leeuwenhoek*. 72: 21-28.

- Hedlund K (2002). Soil microbial community structure in relation to vegetation management on former agricultural land. *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 1299-1307.
- Hill GT, Mitkowsky NA, Aldrich-Wolfe L, Emele LR, Jurkonie DD, Ficke A, Maldonado-Ramírez S, Lynch ST y Nelson EB (2000). Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology* 15: 25-36.
- Insam H y Domsch KH (1988). Relationship between soil organic carbon and microbial biomass on chronosequences of reclamation sites. *Microbial Ecology* 15: 177-188.
- Insam H y Haselwandler K (1989). Metabolic quotient of the soil microflora in relation to plant succession. *Oecologia* 79: 171-178.
- Jackson W (2002). Natural Systems Agriculture: A Radical Alternative. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 88: 111-117.
- Luteyn JL (1992). Paramos: Why study them?. En H Baslev y JL Luteyn (eds.). *Paramo, an Andean ecosystem under human influence*. Academic Press.
- Matson P, Naylor R y Ortiz I (1998). Integration of environmental, agronomic, and economic aspects of fertilizer management. *Science*. 280 (3): 112-115.
- Monasterio M (1980). Poblamiento humano y uso de la tierra en los altos Andes de Venezuela. En M Monasterio (ed.). *Estudios ecológicos en los páramos andinos*. Editorial de la Universidad de Los Andes, Mérida, pp. 170-198.
- Monasterio M y Molinillo M (2003). Venezuela. En R Hofstede, P Segarra y P Mena (eds.). *Los páramos del mundo. Proyecto atlas mundial de los páramos*. Global Peatland Initiative/NC-IUCN/EcoCiencia. Quito, pp. 205-236.
- MPPAT (2009). Ministerio del Poder Popular para la Agricultura y Tierras. Mérida. Venezuela
- Nannipieri P, Ascher J, Ceccherini M, Landi L, Pietramellara G y Renella G (2003). Microbial diversity and soil functions. *European Journal of Soil Science* 54: 655-670.
- Nusslein K y Tiedje J (1999). Soil bacterial community shift correlated with change from forest to pasture vegetation in a tropical soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(8): 3622-3626.
- Roper MM y Ophel-Keller KM (1997). Soil microflora as bioindicators of soil health. En CE Pankhurst, BM Doube y VVSR Gupta (eds.) *Biological Indicators of Soil Health*. CAB INTERNATIONAL, pp. 157-177.
- Sarmiento L y Monasterio M. (1993). Elementos para la interpretación ecológica de un sistema agrícola campesino de los Andes venezolanos (páramo de Gavidia). En Rabey, M. (ed.) *El uso tradicional de los recursos naturales en montañas: tradición y transformación*. UNESCO-ORCYT. Montevideo, pp. 55-77.

- Sarmiento L y Bottner P (2002). Carbon and nitrogen dynamics in two soils with different fallow times in the high tropical Andes: indications for fertility restoration. *Applied Soil Ecology*. 19: 79-89.
- Torsvik, V y Øvreås L (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*. 5: 240-245.
- U.S. Census Bureau (2008). <http://www.census.gov/cgi-bin/ipc/pcwe>
- Van Bruggen AHC y Semenov AM (2000). In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology*. 15: 13-24.
- Velázquez N (2004). Modernización agrícola en Venezuela. Los valles andinos 1930-1999. Fundación Polar.
- Zibilske LM (1994). Carbon mineralization. En RW Waver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicsek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds.) *Methods of Soil Analysis, Part 2*. Microbiological and biochemical properties. SSSA Book Series, n° 5, pp. 835-863.

## CAPÍTULO 2

### PROPIEDADES ABIÓTICAS DE LOS SUELOS

#### Resumen

Se estudiaron las características abióticas de dos suelos de páramo con vegetación natural y su reemplazo por cultivos de papa, un suelo de selva nublada y su conversión en cultivo de maíz, y un suelo de bosque siempreverde y su conversión a cultivo de maíz y potrero. Los resultados indican que de todos los suelos estudiados, los de selva nublada y de bosque siempreverde, fueron los que presentaron mayor cantidad de carbono y nitrógeno total, y entre los ecosistemas naturales, los de más N amoniacal. Por otro lado, se observaron diferencias importantes entre los suelos cultivados con maíz y con papa. En estos últimos se encontraron los más altos valores de N nítrico, fósforo disponible y porcentaje de N nítrico, en relación al nitrógeno mineral total, lo cual sugiere un manejo más intensivo en los cultivos de papa, en especial en Los Pozos, que en los de maíz. A diferencia de la conversión de páramo a papa en uno de los suelos de páramo, en todos los demás ecosistemas, con la conversión disminuyeron los valores de C y N total. Se encontró una correlación positiva ( $r \geq 0,90$ ;  $p \leq 0,001$ ) entre las variables C total y capacidad de campo, N total y capacidad de intercambio catiónico, por lo que su disminución en los suelos cultivados afectaría la capacidad de retención de agua y nutrientes. El análisis de componentes principales separa cinco grupos de suelos: suelos de páramo sin cultivar, suelos de bosques sin cultivar, suelos con pastura, suelos con papa y suelos con maíz. Así mismo se observa que los suelos cultivados con papa y los de maíz presentan las mayores diferencias. En general, el análisis de las propiedades abióticas de los suelos sugiere que la conversión de ecosistemas naturales a agroecosistemas puede disminuir los valores de importantes propiedades asociadas con la calidad del suelo así como la generación de apreciables cantidades de nitratos, lo que iría en detrimento de la calidad ambiental.

## 2.1. Introducción

El estudio de las propiedades abióticas del suelo es de gran importancia porque nos da información de las características físicas y químicas de los mismos y de cómo la conversión y el manejo las afecta. Por otro lado, nos indica su fertilidad natural la cual está relacionada con el contenido de bases cambiabiles  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y  $\text{Na}^+$ , además de los iones fósforo (P) y el nitrógeno (N); la granulometría nos da información del tamaño de las partículas minerales que forman el suelo la cual está asociada a otras propiedades como la capacidad de campo (CC) y la densidad aparente, y es uno de los factores relacionados con su capacidad de intercambio de cationes (CIC). Esta última es una de las propiedades más importantes ya que cuantifica la capacidad que tiene el suelo de retener buena parte de los elementos involucrados en la nutrición de las plantas. Otros parámetros como el contenido de carbono y la relación carbono: nitrógeno (C/N) nos hablan de la cantidad y calidad de la materia orgánica presente en el suelo.

La conversión de ecosistemas naturales en agroecosistemas viene acompañada de prácticas de manejo que pueden modificar las propiedades fisicoquímicas de los suelos. Entre las prácticas más comunes podemos mencionar la labranza, la fertilización con agroquímicos, el abonado, el encalado y el riego.

La labranza puede afectar de manera importante las condiciones físicas de los suelos, básicamente, el tamaño y estabilidad de los agregados, los cuales son desmenuzados durante el arado, provocando que la materia orgánica del suelo (MOS) quede expuesta a la actividad de los microorganismos que la utilizan como fuente de carbono y energía, generándose  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$  como productos finales de la respiración y disminuyendo, en consecuencia, la cantidad de materia orgánica almacenada en el suelo. Además de los efectos inmediatos que tiene la descomposición de la MOS sobre las propiedades abióticas, la materia orgánica es un componente crítico para el mantenimiento de las propiedades del suelo y de la fertilidad a largo plazo, es decir en la sustentabilidad, ya que interviene en muchos procesos edáficos, como la formación y estabilización de los agregados, adsorción e intercambio iónico, suministro de energía y nutrientes, capacidad de retención de agua y protección contra la degradación del suelo por erosión (Porta *et al.*, 1999; Zinn *et al.*, 2005). Adicionalmente, otro factor a tener en cuenta al evaluar el contenido de materia orgánica del suelo (MOS) y los procesos de los que depende, es que en los agroecosistemas, por tratarse de sistemas abiertos para la exportación de productos, la cosecha puede tener importante repercusión en la disminución de la MOS, a diferencia de los ecosistemas naturales, en los que la mayoría de los nutrientes y de la materia orgánica permanecen dentro de un sistema comparativamente más cerrado (Porta *et al.*, 1999).

El encalado tiene como objetivo fundamental disminuir la acidez del suelo a través de la neutralización del aluminio intercambiable. También, cuando se utiliza en la siembra de variedades

tolerantes a la acidez, el encalado puede proveer de calcio y magnesio al cultivo. Las fuentes más importantes para el encalado son la calcita ( $\text{CaCO}_3$ ) y la dolomita ( $\text{MgCO}_3\text{-CaCO}_3$ ), que además de calcio contiene magnesio. El encalado, al aumentar el pH del suelo puede promover el desarrollo de la microbiota edáfica, estimulando así los procesos de descomposición de la materia orgánica y ciclado de nutrientes, actividades estas favorables a las plantas, pero también puede generar condiciones de pH apropiadas para el desarrollo de microorganismos nitrificantes, cuyo crecimiento es muy sensible al pH ácido, lo cual trae consigo la oxidación del amonio a nitratos y nitritos, y el aumento de estos compuestos en suelos y aguas (Casanova, 2005).

Con la finalidad de aumentar la productividad de los cultivos, los agricultores han recurrido a diversas estrategias, entre otras, a la utilización de mayores cantidades de agroquímicos (fertilizantes inorgánicos y pesticidas) y abonos o enmiendas orgánicas. Entre estas últimas, la gallinaza y la cáscara de arroz (pargana), son producidas a escala industrial y muy utilizadas en los Andes debido a su bajo costo y alto rendimiento (Machado, 2005). La adición de gallinaza o de otros abonos animales, aumenta la cantidad de nutrientes en el suelo, además de promover un aumento de los microorganismos en el suelo, como consecuencia de la incorporación de nuevas poblaciones microbiana presentes en los residuos pero también por el aporte de nutrientes que estimula la proliferación de microorganismos edáficos, lo que contribuye con la mineralización de la materia orgánica y en consecuencia con la liberación de los nutrientes presentes en ella (Diz, 2003; Beloso, 1991). La adición de fertilizantes inorgánicos, por su parte, además de incrementar el contenido de minerales solubles favorables para el desarrollo de las plantas, puede también favorecer la nitrificación al incorporar al suelo cantidades importantes de amonio, lo que además de generar nitratos y nitritos en el ambiente, acidifica los suelos, debido a la producción de protones como subproductos de la nitrificación (Alexander, 1977).

En el presente capítulo se quiere evaluar el efecto de la conversión sobre las propiedades abióticas, así como las diferencias entre los suelos de los diferentes ecosistemas naturales. Los parámetros determinados, nos permitirán conocer el estatus fisicoquímico de los suelos naturales así como el impacto que la conversión y el manejo tienen sobre los mismos y sobre ciertas propiedades bióticas tales como, la estructura de las comunidades microbianas y la diversidad funcional.

## 2.2. Materiales y métodos

### Propiedades determinadas

**Capacidad de campo:** Se determinó calculando la humedad del suelo después de saturarlo con H<sub>2</sub>O y someter a la presión de 1/3 bar en un extractor de presión membrana de Richards. Para ello se tomaron, por duplicado, 3 cucharadas (unos 5 g) de suelo seco de cada submuestra, se colocaron en el plato de cerámica del Richard, se humedecieron con agua suficiente y se dejaron toda la noche a una presión de 1/3 bar. Luego, las muestras se pesaron, se secaron a 105 °C y se calculó el contenido de agua (Klute, 1986).

**Conductividad:** Medida con un conductímetro, en un extracto de suelo:agua, 1:2 p:v.

**Determinación del pH del suelo:** Se tomaron 10 g de suelo de cada una de las submuestras y se mezclaron con 20 ml de agua destilada. Se agitó la mezcla durante 30 minutos con un agitador magnético y se midió el pH con un electrodo de vidrio.

**Análisis granulométrico:** Los suelos se secaron al aire por 5 días y luego se determinó su textura por el método de Bouyoucos.

**Carbono orgánico o total:** Por combustión a 400 °C y 900 °C en un equipo Carmograph 12 (Wostoff OHG, Bochum, Alemania). El CO<sub>2</sub> desprendido de la combustión se fijó en una solución de NaOH y se midió la variación en la conductividad eléctrica de dicha solución.

**Nitrógeno total:** Por el método Kjeldahl.

**Nitrógeno inorgánico (N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>):** Por extracción, destilación y titulación. Para la extracción se agregaron 100 mL de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,5 M al equivalente de 20 g de suelo seco, se agitó por 30 minutos y se centrifugó a 6.000 r.p.m durante 15 minutos. El sobrenadante se filtró y el N amoniacal se determinó por destilación con corriente de vapor durante 5 minutos después de haber agregado MgO. A continuación se determinó el N-(N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + N-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) añadiendo 300 mg de aleación Devarda y destilando por 3 minutos. Los destilados se recogieron en 10 mL de una solución de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> al 1% y se valoraron añadiendo H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,001 N hasta alcanzar un valor de pH de 5,32. Se utilizó un destilador Buchi Distillation Unit K-355 y la titulación se realizó en un valorador Metrohm 702 SM Titrimo. El nitrógeno inorgánico se calculó sumando las cantidades de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> y N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)

**Elementos asimilables:** El fósforo se determinó por extracción por el método de Bray I; el Mg<sup>2+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup> y Ca<sup>2+</sup> por extracción en acetato de amonio 1 M y pH 7,0 y medición por espectrofotometría de absorción atómica. El Al<sup>3+</sup> por el método de Yuan.

**Capacidad de intercambio catiónico:** Por extracción con acetato de amonio 1M y a pH 7.

**Análisis estadístico:** Los análisis estadísticos se hicieron con los paquetes STATISTICA 4.5 (StatSoft, INC, 1993) y STATISTIX 7.0 (Analytical Software, 2000). En primer lugar, los datos se evaluaron con el test de Shapiro-Wilk para verificar si cumplían los supuestos de normalidad. Las

variables que no cumplieron con tales supuestos fueron transformadas con log y raíz cuadrada y se repitió el test de Shapiro-Wilk. Estas transformaciones “normalizaron” algunas variables pero no a todas, por lo que a las variables que no se normalizaron, aun después de las transformaciones, se les aplicó el ANOVA de Kruskal-Wallis y un ANOVA clásico de una vía a las que si lo hicieron. Para el análisis a posteriori de las medias, después del procedimiento de Kruskal-Wallis se aplicó la prueba de Comparación de Rangos Medios con un nivel de significancia de  $p \leq 0,05$  (paquete STATISTIX 7) y con el ANOVA clásico (paquete STATISTICA 4.5) se practicó la prueba HSD (distancias imparciales significativas) de Tukey con un nivel de significancia de  $p \leq 0,05$  a las variables que si cumplieron con los supuestos de normalidad.

**Análisis de Componentes Principales:** Para analizar e interpretar mejor las relaciones entre las variables estudiadas y cómo se separan los diferentes suelos en función de estas variables, se hizo un ordenamiento de las características fisicoquímicas mediante un Análisis de Componentes Principales (ACP). Para ello se utilizó el programa CANOCO versión 4.02 (1998) y los valores de las variables fueron centrados y estandarizados. Esto implica que el ACP obtenido se basa en una matriz de correlación y esta elección es la recomendada cuando las medidas de las variables se expresan en unidades diferentes, como en nuestro caso (% , g/kg, mg/kg, etc.).

## 2.3. Resultados

### Propiedades abióticas de suelos de páramo no intervenido (Los Bahitos, Los Pozos)

La Tabla 2.1 muestra los resultados de las propiedades abióticas de los suelos de páramo y cultivo de papa. En la misma puede observarse que los suelos de páramo no intervenido, Los Bahitos y Los Pozos, presentaron texturas franco arenosa y franca, respectivamente, y los valores de pH alcanzaron una media de  $4,9 \pm 0,1$  unidades. Los contenidos de carbono y de nitrógeno fueron en promedio de  $44,2 \pm 5,6$  g C  $\text{kg}^{-1}$  suelo y de  $2,5 \pm 0,4$  g N  $\text{kg}^{-1}$  suelo. El nitrógeno inorgánico por su parte, presentó valores promedio de  $13,1 \pm 0,9$  mg N  $\text{kg}^{-1}$  suelo y la relación C/N, alcanzó una media de  $17,5 \pm 0,3$ .

Las concentraciones de aluminio, en Los Bahitos y Los Pozos, fueron de  $0,8 \pm 0,2$  y  $2,3 \pm 0,3$   $\text{cmol}(+)\text{kg}^{-1}$  suelo. El valor promedio de los elementos asimilables siguió el orden  $\text{Na}^+ < \text{Mg}^{2+} < \text{K}^+ < \text{Al}^{3+} < \text{Ca}^{2+} < \text{P}$ .

En resumen, tomando en consideración los límites de interpretación de los niveles de nutrimentos y características químicas de suelos para cultivos tropicales (Ferruqino y Meneses, 2003; Bravo, 2000), podemos decir que los dos suelos de páramo muestran una reacción fuertemente ácida, con alto contenido de carbono y un nivel medio de nitrógeno, alta relación C/N, lo que indica la acumulación de materia orgánica de baja calidad, niveles bajos de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{Mg}^+$  y muy altos de  $\text{K}^+$ .

También cabe mencionar que los suelos de Los Bahitos presentan una textura más gruesa (franco arenosa) que Los Pozos (franca) y un contenido medio de fósforo y bajo de CIC. A pesar de la textura gruesa, su capacidad de campo (CC) es relativamente alta ( $31,2 \pm 2,5$  %).

### Propiedades abióticas de suelos de páramo cultivados con papa (Los Bahitos, Los Pozos)

Los suelos cultivados con papa, Tabla 2.1, presentaron textura francoarenosa y franca, con valores de pH de  $5,0 \pm 0,2$  para Los Bahitos y  $6,2 \pm 0,3$  en Los Pozos, mientras que la CC varió ( $p < 0,05$ ) entre  $24,9 \pm 1,1$  % y  $44,4 \pm 0,2$  % respectivamente. La conductividad eléctrica mostró valores superiores, aunque no significativamente, a los de páramo sin cultivar, ubicándose en valores medios de  $0,5 \pm 0,2$   $\text{mmho/cm}$ . Resalta el elevado porcentaje de saturación de bases en Los Pozos, el cual es reflejo de los elevados aportes de fertilizantes.

El contenido de C de los suelos cultivados con papa varió significativamente ( $p < 0,05$ ) entre un sitio y otro, y mostró su máximo valor en Los Pozos. El nitrógeno total también mostró valores más altos ( $p < 0,05$ ) en Los Pozos, mientras que el N inorgánico lo encontramos en cantidades superiores, aunque no significativamente, que en los suelos de páramo no intervenido. Respecto al aporte que cada

**Tabla 2.1.** Propiedades abióticas de los suelos de páramo y sus cultivos asociados (media  $\pm$  DE)\*

	Los Bahitos, Páramo	Los Bahitos, Papa	Los Pozos, Páramo	Los Pozos, Papa
<b>pH</b>	4,8 $\pm$ 0,04 (a)	5,0 $\pm$ 0,2 (a)	5,0 $\pm$ 0,3 (a)	6,2 $\pm$ 0,3 (a)
<b>CC (%)</b>	31,2 $\pm$ 2,5 (a)	24,9 $\pm$ 1,1 (b)	39,8 $\pm$ 1,3 (c)	44,4 $\pm$ 0,2 (d)
<b>Conductividad (mmho/cm)</b>	0,1 $\pm$ 0,01 (a)	0,5 $\pm$ 0,2 (a)	0,1 $\pm$ 0,01 (a)	0,9 $\pm$ 0,1 (a)
<b>C total (g kg<sup>-1</sup>)</b>	40,2 $\pm$ 8,0(a,b)	23,5 $\pm$ 0,6 (b)	48,1 $\pm$ 1,7 (a,b)	55,4 $\pm$ 0,6 (a)
<b>N total (g kg<sup>-1</sup>)</b>	2,3 $\pm$ 0,2 (a)	1,6 $\pm$ 0,08 (b)	2,8 $\pm$ 0,1 (c)	3,7 $\pm$ 0,1 (d)
<b>N inorgánico (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	12,5 $\pm$ 1,9 (a)	64,2 $\pm$ 39,8 (a)	13,7 $\pm$ 0,2 (a)	72,4 $\pm$ 21,9 (a)
<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	8,2 $\pm$ 0,9(a)	45,8 $\pm$ 38,1 (b)	11,7 $\pm$ 0,2 (a,b)	18,0 $\pm$ 0,8(a,b)
<b>N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)(mg kg<sup>-1</sup>)</b>	4,2 $\pm$ 1,1 (a)	18,4 $\pm$ 6,9 (b)	1,95 $\pm$ 0,2 (a)	54,4 $\pm$ 21,2 (c)
<b>% N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)/N<sub>inorgánico</sub></b>	33,5 $\pm$ 3,1(a)	33,6 $\pm$ 15,5(a)	14,3 $\pm$ 1,2 (a)	73,7 $\pm$ 7,41 (b)
<b>C:N</b>	17,7 $\pm$ 2,2(a)	14,3 $\pm$ 0,9(b)	17,3 $\pm$ 0,1(a,b)	14,9 $\pm$ 0,4(a,b)
<b>Elementos asimilables</b>				
<b>P (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	25,9 $\pm$ 9,6 (a)	25,1 $\pm$ 3,7 (a)	1,9 $\pm$ 0,7 (b)	21,8 $\pm$ 7,0 (a)
<b>Al<sup>3+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,8 $\pm$ 0,2 (a)	0,3 $\pm$ 0,2 (b)	2,3 $\pm$ 0,3 (c)	0,0 $\pm$ 0,0 (d)
<b>Ca<sup>2+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	2,4 $\pm$ 0,1 (a)	2,3 $\pm$ 0,8 (a)	2,3 $\pm$ 0,4 (a)	19,1 $\pm$ 5,6 (a)
<b>Mg<sup>2+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,8 $\pm$ 0,2 (a)	1,0 $\pm$ 0,3 (a)	1,3 $\pm$ 0,3 (a)	5,1 $\pm$ 1,7 (b)
<b>K<sup>+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,68 $\pm$ 0,05 (a)	1,95 $\pm$ 0,4 (b)	1,52 $\pm$ 0,2 (b,c)	9,6 $\pm$ 1,2 (d)
<b>Na<sup>+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,05 $\pm$ 0,01 (a)	0,06 $\pm$ 0,01 (a)	0,06 $\pm$ 0,01 (a)	0,2 $\pm$ 0,06 (a)
<b>CIC (cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	12,7 $\pm$ 1,1 (a)	9,5 $\pm$ 1,04 (b)	20,3 $\pm$ 1,1 (c)	28,2 $\pm$ 1,2 (d)
<b>Bases totales(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	4,0 $\pm$ 0,3 (a)	5,3 $\pm$ 1,4 (a,b)	5,2 $\pm$ 0,8 (a,b)	34 $\pm$ 7,2 (b)
<b>% SB</b>	31,4 $\pm$ 5,3 (a)	55,8 $\pm$ 12,6(b)	25,7 $\pm$ 4,5 (a)	121 $\pm$ 28,4 (c)
<b>Granulometría (%)</b>				
<b>Arena</b>	63,8 $\pm$ 2,0 (a)	65,1 $\pm$ 5,3 (a)	49,6 $\pm$ 3,1 (b)	44,0 $\pm$ 3,3 (b)
<b>Limo</b>	25,1 $\pm$ 2,0 (a)	24,2 $\pm$ 2,5 (a)	30,0 $\pm$ 0,7(a,b)	35,6 $\pm$ 3,4 (b)
<b>Arcilla</b>	11,1 $\pm$ 0,8 (a)	10,7 $\pm$ 3,1 (a)	20,4 $\pm$ 2,5 (b)	20,4 $\pm$ 0,4 (b)

\*Letras diferentes indican diferencias significativas entre los suelos (n= 12,  $p < 0,05$ ). CC, capacidad de campo; CIC, capacidad de intercambio catiónico, %SB, porcentaje de saturación de bases

una de las formas de nitrógeno hace al N inorgánico, tenemos que en Los Bahitos-papa, el  $\text{N-NH}_4^+$  contribuye con  $45,8 \pm 38,1 \text{ mg N kg}^{-1}$  y el  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  con  $18,4 \pm 6,9 \text{ mg N kg}^{-1}$  mientras que en Los Pozos-papa la relación se invierte, con  $18,0 \pm 0,8 \text{ mg N kg}^{-1}$  de  $\text{N-NH}_4^+$  y  $62,2 \pm 33,6$  de  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ . La relación C/N fue muy similar entre ambos cultivos para un valor medio de  $14,6 \pm 0,4$ .

El contenido de fósforo no mostró diferencias significativas entre los dos cultivos y el aluminio intercambiable no se detectó en Los Pozos-papa. Los elementos asimilables mostraron valores medios que siguieron el orden  $\text{Na}^+ < \text{Al}^{3+} < \text{Mg}^{2+} < \text{Ca}^{2+} < \text{K} < \text{P}$ .

### **Propiedades abióticas de suelos de bosques no intervenidos (La Mucuy, Cacute)**

Los suelos de selva nublada (La Mucuy) y del bosque siempreverde seco (Cacute) presentaron textura francoarenosa y valores diferentes ( $p < 0,05$ ) de pH (Tabla 2.2). Los valores de capacidad de campo, C total, CIC, bases totales y porcentaje de saturación de bases, fueron superiores ( $p < 0,05$ ) en el bosque siempreverde (Cacute) que en la selva nublada (La Mucuy).

El N inorgánico no fue significativamente diferente en los dos ecosistemas de bosque, siendo el  $\text{N-NH}_4^+$  la forma de nitrógeno que más contribuyó al N inorgánico, tanto en Cacute como en La Mucuy, mientras que la contribución del  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  al N inorgánico fue de tan sólo  $0,25 \pm 0,1 \text{ mg kg}^{-1}$  y de  $0,4 \pm 0,4 \text{ mg kg}^{-1}$  respectivamente.

En cuanto a los elementos asimilables, sus valores medios crecientes fueron  $\text{Na}^+ < \text{Al}^{3+} < \text{K}^+ < \text{Ca}^{2+} < \text{P} < \text{Mg}^{2+}$ . En los suelos de Cacute-bosque se detectaron cantidades mucho más altas ( $p < 0,05$ ) de  $\text{Mg}^{2+}$  que en La Mucuy-selva.

### **Propiedades abióticas de suelos cultivados con maíz y del potrero (Cacute, La Mucuy)**

Los suelos cultivados con maíz (Cacute y La Mucuy) mostraron texturas francoarenosas y los valores de pH fueron en promedio de  $5,25 \pm 0,35$  (Tabla 2.2.). Los valores de  $C_{\text{total}}$  no fueron significativamente diferentes entre los dos cultivos pero si hubo una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) y muy marcada en comparación con los respectivos ecosistemas naturales (Cacute-bosque, La Mucuy-selva), especialmente en Cacute-maíz en el que se perdió más de la mitad del carbono. El contenido de N total y el inorgánico fue muy similar en los dos cultivos de maíz y al comparar los suelos

**Tabla 2.2.** Propiedades abióticas de los suelos de bosques y sus cultivos asociados, maíz y potrero (media  $\pm$  DE)\*

	<b>Cacute, Bosque</b>	<b>Cacute, Potrero</b>	<b>Cacute, Maíz</b>	<b>La Mucuy, Selva</b>	<b>La Mucuy, Maíz</b>
<b>pH</b>	5,8 $\pm$ 0,4 (a)	5,3 $\pm$ 0,05(a,c)	5,5 $\pm$ 0,1(a,b)	4,6 $\pm$ 0,1(c)	5,00 $\pm$ 0,4(b,c)
<b>CC (%)</b>	51,1 $\pm$ 3,9 (a)	43,1 $\pm$ 0,7(b)	29,1 $\pm$ 0,1(c)	44,9 $\pm$ 1,8(b)	32,2 $\pm$ 2,7(c)
<b>Conductividad (mmho/cm)</b>	0,8 $\pm$ 0,1(a)	0,5 $\pm$ 0,3 (a,b)	0,3 $\pm$ 0,03(b)	0,3 $\pm$ 0,07(b)	0,2 $\pm$ 0,05 (b)
<b>C total (g kg<sup>-1</sup>)</b>	80,9 $\pm$ 5,6(a)	50,1 $\pm$ 5,1(b)	25,5 $\pm$ 1,6 (c)	58,0 $\pm$ 1,8(b)	29,2 $\pm$ 2,4(c)
<b>N total ( g kg<sup>-1</sup>)</b>	5,5 $\pm$ 1,1 (a)	3,5 $\pm$ 0,3 (b,c)	2,1 $\pm$ 0,2 (b)	4,5 $\pm$ 0,5(a,c)	2,2 $\pm$ 0,3(b)
<b>N inorgánico (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	44,8 $\pm$ 15,6(a)	22,3 $\pm$ 1,7(b)	10,1 $\pm$ 0,9 (c)	59,9 $\pm$ 14,1(a)	10,0 $\pm$ 1,0(c)
<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	44,5 $\pm$ 15,5(a)	22,2 $\pm$ 1,7(b)	9,2 $\pm$ 0,9(c)	59,5 $\pm$ 13,9(a)	9,9 $\pm$ 1,1(c)
<b>N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)(mg kg<sup>-1</sup>)</b>	0,25 $\pm$ 0,1(a)	0,05 $\pm$ 0,1(a)	0,9 $\pm$ 0,7(a)	0,4 $\pm$ 0,4 (a)	0,1 $\pm$ 0,1(a)
<b>% N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)/N<sub>inorgánico</sub></b>	0,54 $\pm$ 0,1(a)	0,2 $\pm$ 0,4(a)	8,4 $\pm$ 6,8(a)	0,7 $\pm$ 0,6(a)	0,89 $\pm$ 1,1(a)
<b>C:N</b>	15,2 $\pm$ 2,6(a)	14,2 $\pm$ 0,4(a)	12,5 $\pm$ 1,5(a)	13,0 $\pm$ 1,4(a)	13,2 $\pm$ 0,8(a)
<b>Elementos asimilables</b>					
<b>P (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	6,5 $\pm$ 0,2(a,c)	16,8 $\pm$ 5,0(b,d)	12,6 $\pm$ 0,6(a,d)	1,8 $\pm$ 0,7(c)	3,6 $\pm$ 0,2(c)
<b>Al<sup>3+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,0 $\pm$ 0,0(a)	0,0 $\pm$ 0,0(a)	0,0 $\pm$ 0,0(a)	1,9 $\pm$ 0,20(a)	0,6 $\pm$ 0,2(a)
<b>Ca<sup>2+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	5,0 $\pm$ 0,6(a,b)	8,3 $\pm$ 3,0(a)	6,1 $\pm$ 0,6(a)	3,2 $\pm$ 0,2 (b)	3,4 $\pm$ 0,7(b)
<b>Mg<sup>2+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	15,1 $\pm$ 5,1(a)	8,9 $\pm$ 1,1(a)	4,2 $\pm$ 1,1(b)	3,2 $\pm$ 0,6(b)	1,4 $\pm$ 0,3(c)
<b>K<sup>+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	3,6 $\pm$ 0,5(a)	2,7 $\pm$ 0,5(a,c)	2,5 $\pm$ 1,0(a,c)	1,1 $\pm$ 0,15(b,c)	0,8 $\pm$ 0,5(b)
<b>Na<sup>+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,07 $\pm$ 0,01(a,c)	0,13 $\pm$ 0,01(b)	0,15 $\pm$ 0,03(b)	0,11 $\pm$ 0,0(a,b)	0,06 $\pm$ 0,00(c)
<b>CIC (cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	30,9 $\pm$ 5,6(a)	19,7 $\pm$ 0,8(b,c)	14,9 $\pm$ 0,7(c,d)	21,9 $\pm$ 0,4(b,d)	12,8 $\pm$ 1,0(c)
<b>Bases totales(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	23,8 $\pm$ 5,9 (a)	20,0 $\pm$ 1,7 (a,c)	12,9 $\pm$ 1,6 (b,c)	7,6 $\pm$ 0,6 (b)	5,7 $\pm$ 1,2 (b)
<b>% SB</b>	76,5 $\pm$ 6,8 (a)	101,2 $\pm$ 6,3(b,d)	86,6 $\pm$ 8,5(a,d)	34,9 $\pm$ 2,14 (c)	43,9 $\pm$ 6,3 (c)
<b>Granulometría (%)</b>					
<b>Arena</b>	64,9 $\pm$ 1,0(a)	60,4 $\pm$ 1,4(a,b)	57,8 $\pm$ 1,0(b)	63,8 $\pm$ 3,2(a)	63,8 $\pm$ 3,2(a,b)
<b>Limo</b>	26,7 $\pm$ 0,7(a)	31,1 $\pm$ 1,7(b)	29,1 $\pm$ 0,8(a,b)	28,4 $\pm$ 2,1(a,b)	26,2 $\pm$ 2,1(a)
<b>Arcilla</b>	8,4 $\pm$ 0,4(a,b)	8,4 $\pm$ 0,4(a,b)	13,1 $\pm$ 1,4(c)	7,8 $\pm$ 1,0(c)	10,7 $\pm$ 0,7(b)

\*Letras diferentes indican que hay diferencias significativas entre los suelos(n=15, p<0,05). CC, capacidad de campo; CIC, capacidad de intercambio catiónico, %SB, porcentaje de saturación de bases.

de estos dos cultivos con los de los ecosistemas naturales, observamos que los valores de N total de los suelos cultivados fueron un 50% menor ( $p < 0,05$ ) que los de los bosques. En cuanto a la relación C/N la misma no varió significativamente entre los cultivos ni tampoco entre estos y los ecosistemas naturales.

En los cultivos de maíz de La Mucuy y Cacute el valor medio del contenido de elementos asimilables fue del siguiente orden  $\text{Na}^+ < \text{Al}^{+3} < \text{K}^+ < \text{Ca}^{+2} < \text{P} < \text{Mg}^{+2}$ . Los valores de la CIC disminuyeron significativamente ( $p < 0,05$ ) respecto a los de bosque (Cacute) y selva nublada (La Mucuy) mientras que en relación al porcentaje de SB, el potrero de Cacute presentó valores superiores al del bosque siempre verde.

El potrero por su parte presentó textura francoarenosa y un pH de  $5,3 \pm 0,05$  (Tabla 2.2). La capacidad de campo mostró un valor intermedio ( $p < 0,05$ ) entre el encontrado en Cacute-bosque y Cacute-maíz. El contenido de C fue de magnitud intermedia ( $p < 0,05$ ) entre el de Cacute-bosque y Cacute-maíz. El nitrógeno total y el N inorgánico también mostraron valores intermedios y significativos ( $p < 0,05$ ), entre los de Cacute-bosque y Cacute-maíz. El contenido de fósforo en Cacute-potrero fue superior ( $p < 0,05$ ) al del bosque y también al del cultivo de maíz aunque no significativamente con respecto a este último. Los elementos asimilables presentaron valores en el orden  $\text{Al}^{3+} < \text{Na}^+ < \text{K}^+ < \text{Ca}^{2+} < \text{Mg}^{2+} < \text{P}$ .

### **Propiedades abióticas de los suelos de los ecosistemas no intervenidos (Los Bahitos, Los Pozos, Cacute, La Mucuy).**

Aunque en párrafos anteriores ya se hizo referencia a las propiedades abióticas de los ecosistemas no intervenidos, vale la pena subrayar aquí algunos aspectos adicionales. En comparación con los suelos de páramo (Los Bahitos y Los Pozos), los de ecosistemas de bosques (La Mucuy y Cacute) presentan, aunque no siempre de manera significativa, valores superiores en algunas de sus propiedades abióticas. Tal es el caso de: pH, CC, conductividad, C total, N inorgánico y CIC (Tabla 2.3). En el caso particular de Cacute-bosque, dicha tendencia si es significativa ( $p < 0,05$ ) respecto a Los Bahitos, en las variables pH, CC, C total, N total, CIC, bases totales y %SB. En lo que respecta a las variables  $\text{N}-(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ , relación C/N y  $\% \text{N}-(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ , ocurre lo contrario, es decir, que en los suelos de bosques, estas propiedades abióticas tienden a disminuir en comparación a los suelos de páramo. Además, vale la pena resaltar, que el suelo de Cacute-bosque presenta la mayor saturación de bases (76,5%) en comparación con La Mucuy-selva (34,9%) y los suelos páramos (31,4 y 25,7%) lo cual puede estar relacionado con la menor precipitación (y menor drenaje). Asimismo se observa el predominio del  $\text{Mg}^{2+}$  en el CIC de este suelo (Cacute-bosque) y de  $\text{Ca}^{2+}$  en los otros.

### Resultados del análisis de correlación entre las variables estudiadas

Los resultados del análisis de correlación de Spearman (Tabla 2.4, Figura 2.1) indican que existe una fuerte correlación positiva ( $r \geq 0,90$ ) de la variable  $C_{\text{total}}$  con la capacidad de campo (CC) y la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y al mismo tiempo se ve que estas dos propiedades fundamentales del suelo presentan una correlación significativa pero menor con el limo y ninguna correlación ( $p > 0,05$ ) con la suma de las texturas más finas (Figura 2.1), lo cual muestra la importancia de conservar la materia orgánica del suelo y el peligro de conversiones que como el maíz traen consigo disminuciones apreciables de la MOS. La CIC, está muy asociada con el contenido de materia orgánica, pues se observa, una fuerte correlación ( $r = 0,90$ ) con el C orgánico y además con el N total y también, aunque moderadamente, con las bases intercambiables ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^{+}$  y  $\text{Na}^{+}$ ) las cuales además están correlacionadas entre sí. El pH, por su parte, muestra una correlación positiva con las bases cambiabiles y negativa, como es de esperar, con el  $\text{Al}^{3+}$  ( $r = -0,82$ ), el cual además se correlaciona fuerte y negativamente con la bases cambiabiles.

### Análisis de Componentes Principales

Con los valores centrados y estandarizados de las propiedades abióticas de los sitios de estudio, se realizó un análisis de componentes principales. Los resultados muestran que los dos primeros componentes explican 46,6% y 35,4% de la variación, y el tercero, un 9% adicional. En el plano de ordenamiento (Figura 2.2) conformado por los dos primeros ejes, se separaron, claramente, cinco grupos de suelos: suelos de páramo sin cultivar (BF y PF), suelos de Bosques sin cultivar (CB y MS), suelos con pasturas (CP), suelos con papa (BP y PP) y suelos con maíz (CM, MM). Por ser el primer eje del ordenamiento el más importante y el que separa los suelos sembrados con papa de los demás, podemos inferir que este cultivo es el que tiene más efecto sobre las propiedades abióticas del suelo. En la Figura 2.2 se puede observar que los suelos cultivados con papa se ubican en el extremo derecho del primer eje, mientras que en el extremo contrario se ubica el cultivo de maíz, por lo que estos suelos serían los que tienen más diferencias entre si. El segundo eje separa en el extremo superior a los suelos forestales (bosque siempreverde y selva nublada) de los suelos de páramo sin cultivar, que ocupan el extremo inferior de este eje, con los suelos de pastura en la mitad.

El análisis de la Figura 2.3 puede servir para entender mejor cuáles variables estarían separando estos cinco grupos de suelos. Se ve que el primer eje se asocia en sus parte positiva (donde están los suelos cultivados con papa) con valores altos de nitratos (N-nitro), N inorgánico (N-inor) y de porcentaje de nitratos (%N-nitr), lo que indica la importancia que tiene la fertilización nitrogenada y el alto poder de nitrificación en la diferenciación de este grupo de suelos. En el otro extremo del primer

eje, asociado a la pastura, se presentan valores más altos de carbono (C) y nitrógeno (N) totales, pH y capacidad de campo (CC).

**Tabla 2.3.** Propiedades abióticas de los suelos de los ecosistemas naturales, páramo y bosques (media  $\pm$  DE)\*

	Los Bahitos, Páramo	Los Pozos, Páramo	Cacute, Bosque	La Mucuy, Selva
<b>pH</b>	4,8 $\pm$ 0,04(a)	5,0 $\pm$ 0,3 (a)	5,8 $\pm$ 0,4 (b)	4,6 $\pm$ 0,1(a)
<b>CC (%)</b>	31,2 $\pm$ 2,5(a)	39,8 $\pm$ 1,3(b)	51,1 $\pm$ 3,9(c)	44,9 $\pm$ 1,8(b,c)
<b>Conductividad (mmho/cm)</b>	0,1 $\pm$ 0,01 (a)	0,1 $\pm$ 0,01(a)	0,8 $\pm$ 0,1(a)	0,3 $\pm$ 0,07(a)
<b>C total (g kg<sup>-1</sup>)</b>	40,2 $\pm$ 8,0(a)	48,1 $\pm$ 1,7(a,c)	80,9 $\pm$ 5,6(b)	58,0 $\pm$ 1,8(c)
<b>N total ( g kg<sup>-1</sup>)</b>	2,3 $\pm$ 0,2 (a)	2,8 $\pm$ 0,1(a)	5,5 $\pm$ 1,1(b)	4,5 $\pm$ 0,5(b)
<b>N inorgánico (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	12,5 $\pm$ 1,9(a)	13,7 $\pm$ 0,2(a)	44,8 $\pm$ 15,6(a)	59,9 $\pm$ 14,1(a)
<b>N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	8,2 $\pm$ 0,9(a)	11,7 $\pm$ 0,2(a,b)	44,5 $\pm$ 15,5(a,b)	59,5 $\pm$ 13,9(b)
<b>N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)(mg kg<sup>-1</sup>)</b>	4,2 $\pm$ 1,1(a)	1,95 $\pm$ 0,2(a,b)	0,25 $\pm$ 0,1(c)	0,4 $\pm$ 0,4(c)
<b>% N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>)/N<sub>inorgánico</sub></b>	33,5 $\pm$ 3,1 (a)	14,3 $\pm$ 1,2 (a,b)	0,54 $\pm$ 0,1 (b)	0,7 $\pm$ 0,6 (a,b)
<b>C:N</b>	17,7 $\pm$ 2,2 (a)	17,3 $\pm$ 0,1(a)	15,2 $\pm$ 2,6(a)	13,0 $\pm$ 1,4 (a)
<b>Elementos asimilables</b>				
<b>P (mg kg<sup>-1</sup>)</b>	25,9 $\pm$ 9,6 (a)	1,9 $\pm$ 0,7 (a)	6,5 $\pm$ 0,2 (a)	1,8 $\pm$ 0,7 (a)
<b>Al<sup>3+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,8 $\pm$ 0,2(a)	2,3 $\pm$ 0,3 (b)	0,0 $\pm$ 0,0 (c)	1,9 $\pm$ 0,20 (b)
<b>Ca<sup>2+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	2,4 $\pm$ 0,1 (a)	2,3 $\pm$ 0,4(a)	5,0 $\pm$ 0,6 (a)	3,2 $\pm$ 0,2 (a)
<b>Mg<sup>2+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,8 $\pm$ 0,2(a)	1,3 $\pm$ 0,3 (a,b)	15,12 $\pm$ 5,1(b)	3,2 $\pm$ 0,6 (a,b)
<b>K<sup>+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,7 $\pm$ 0,05 (a)	1,5 $\pm$ 0,2 (a,b)	3,6 $\pm$ 0,5 (b)	1,1 $\pm$ 0,15 (a,b)
<b>Na<sup>+</sup>(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	0,05 $\pm$ 0,01 (a)	0,06 $\pm$ 0,01 (a)	0,07 $\pm$ 0,01 (a)	0,11 $\pm$ 0,01 (b)
<b>CIC (cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	12,7 $\pm$ 1,1 (a)	20,3 $\pm$ 1,1 (a,d)	30,9 $\pm$ 5,6 (b)	21,9 $\pm$ 0,4 (c,d)
<b>Bases totales(cmol(+))kg<sup>-1</sup></b>	4,0 $\pm$ 0,3 (a)	5,2 $\pm$ 0,8 (a,c)	23,8 $\pm$ 5,9 (b)	7,6 $\pm$ 0,6 (c)
<b>% SB</b>	31,4 $\pm$ 5,3 (a)	25,7 $\pm$ 4,5 (a)	76,5 $\pm$ 6,8 (b)	34,9 $\pm$ 2,14 (a)
<b>Granulometría (%)</b>				
<b>Arena</b>	63,8 $\pm$ 2,0 (a)	49,6 $\pm$ 3,1 (a)	64,9 $\pm$ 1,0 (a)	63,8 $\pm$ 3,2 (a)
<b>Limo</b>	25,1 $\pm$ 2,0 (a)	30,0 $\pm$ 0,7 (b)	26,7 $\pm$ 0,7 (a,b)	28,4 $\pm$ 2,1(a,b)
<b>Arcilla</b>	11,1 $\pm$ 0,8(a,b)	20,4 $\pm$ 2,5 (a)	8,4 $\pm$ 0,4 (a,b)	7,8 $\pm$ 1,0 (b)

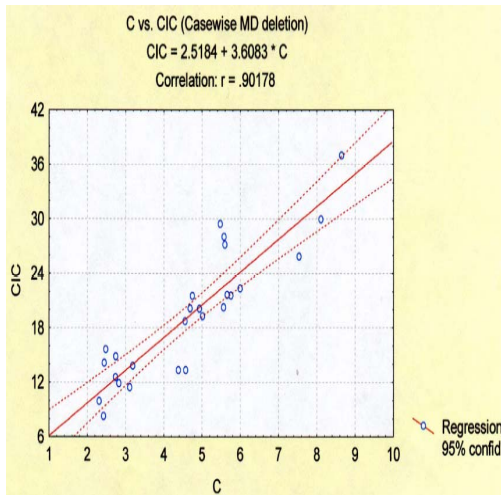
\*Letras diferentes indican que hay diferencias significativas entre los suelos (n=12,  $p < 0,05$ ); CC, capacidad de campo; CIC, capacidad de intercambio catiónico, %SB, porcentaje de saturación de bases

**Tabla 2.4.** Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman entre las propiedades abióticas de los suelos (n=27)

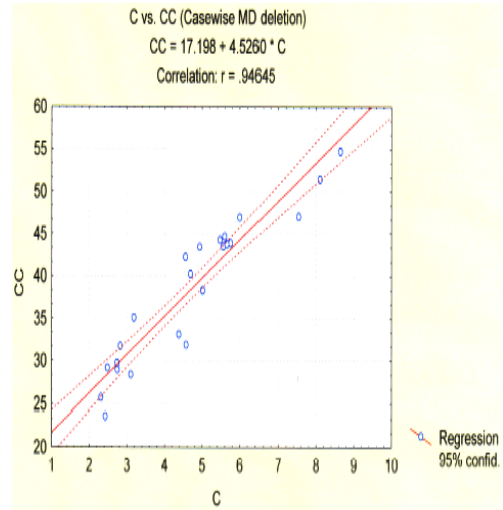
	pH	CC	CE	C <sub>total</sub>	N <sub>total</sub>	N <sub>inor</sub>	N <sub>amo</sub>	N <sub>nitr</sub>	%N <sub>nitr</sub>	C/N	P	Al <sup>3+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>
<b>pH</b>	1,0													
<b>CC</b>		1,0												
<b>CE</b>	0,62***	0,46*	1,0											
<b>C<sub>total</sub></b>		0,96***		1,0										
<b>N<sub>t</sub></b>		0,96***		0,97***	1,0									
<b>N<sub>inor</sub></b>		0,52**	0,64***	0,50**	0,52**	1,0								
<b>N<sub>amo</sub></b>		0,50**	0,56***	0,49**	0,55**	0,84***	1,0							
<b>N<sub>nitr</sub></b>								1,0						
<b>%N<sub>nitr</sub></b>					-0,39*			0,97***	1,0					
<b>C/N</b>								0,43*	0,41*	1,0				
<b>P</b>				-0,39*	-0,40*			0,48*	0,54**		1,0			
<b>Al<sup>3+</sup></b>	-0,82**	-0,7***									-0,50**	1,0		
<b>Ca<sup>2+</sup></b>	0,74***	0,45*	0,65***		0,39*							-0,8***	1,0	
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0,62***	0,70***	0,64***	0,60***	0,68***		0,44*	-0,44*	-0,48**			-0,67***	0,78***	1,0
<b>K<sup>+</sup></b>	0,80***	0,43*	0,78***			0,47*						-0,76***	0,66***	0,71***
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,45**		0,51**							-0,47*		-0,61***	0,83***	0,67***
<b>CIC</b>	0,44*	0,94***	0,52**	0,90***	0,91***	0,50**	0,45*						0,54**	0,73***
<b>SB</b>	0,75***	0,67***	0,78***	0,55**	0,63***	0,41*	0,39*					-0,75***	0,89***	0,92***
<b>%SB</b>	0,77***		0,74***								0,43*	-0,93***	0,86***	0,73***
<b>a</b>													-0,42*	
<b>L</b>		0,45*			0,40*								0,57**	0,48*
<b>A</b>							-0,50**	0,55**	0,59**					
	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	CIC	SB	%SB	a	L	A						
<b>K<sup>+</sup></b>	1,0													
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,56**	1,0												
<b>CIC</b>	0,56*	0,46*	1,0											
<b>SB</b>	0,82***	0,78***	0,76***	1,0										
<b>%SB</b>	0,77***	0,72***		0,83***	1,0									
<b>a</b>		-0,46*				1,0								
<b>L</b>	0,50**	0,63***	0,56**	0,56**	0,40*	-0,84***	1,0							
<b>A</b>						-0,79***	0,38*	1,0						

CC: capacidad de campo; CE: conductividad eléctrica; N<sub>inor</sub>: N inorgánico; N<sub>amo</sub>: N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; N<sub>nitr</sub>: N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>); C/N relación carbono:nitrógeno; CIC: capacidad de intercambio catiónico; SB: suma de bases intercambiables; %SB: porcentaje de saturación de bases; a: arena; L: limo; A: arcilla.

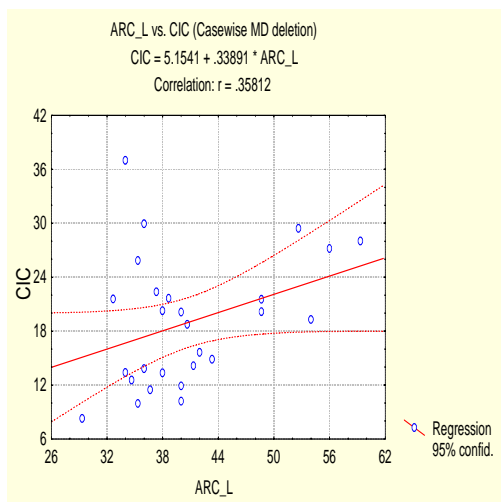
\* p≤0,05; \*\* p≤0,01; \*\*\*p≤0,001



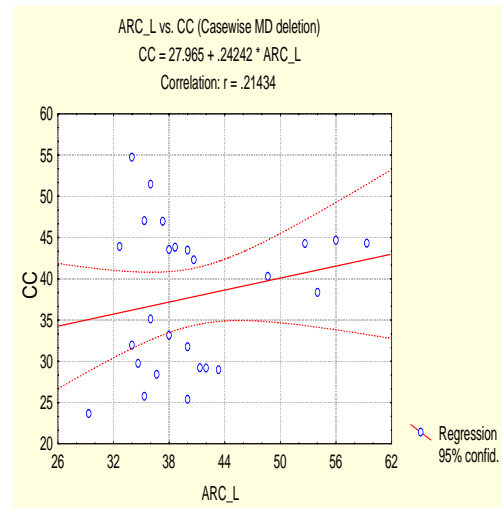
a.



b.



c.

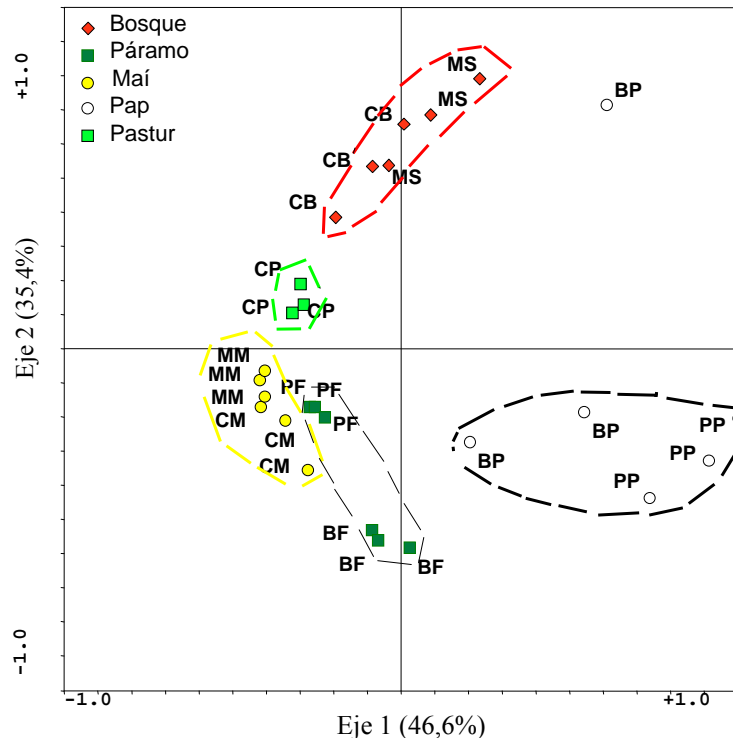


d.

**Figura 2.1.** Variación de la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y la capacidad de campo (CC) con el contenido de carbono (C) y la suma de las fracciones finas, arcilla y limo (ARC+L) (n= 27).

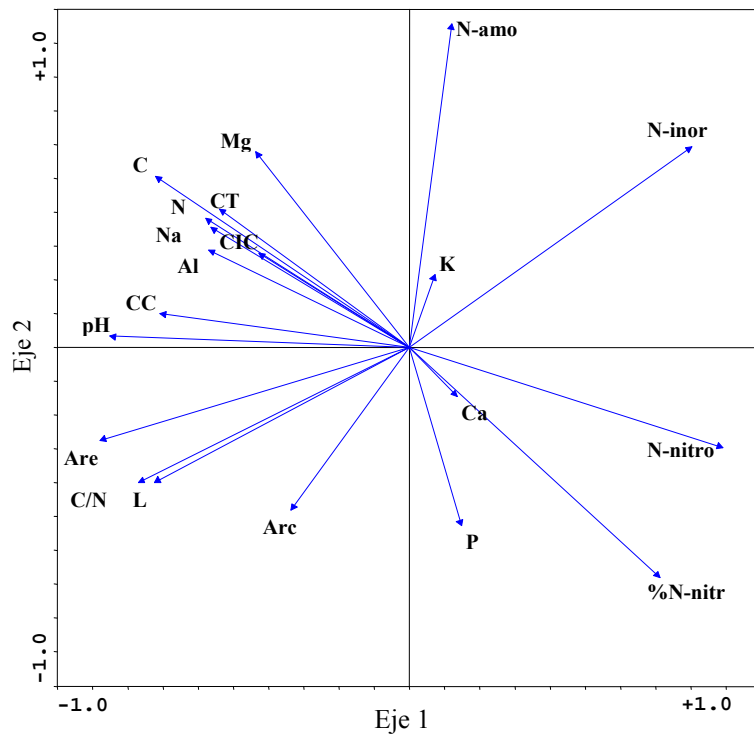
El segundo eje, separa en sus extremos a los bosques de los páramos y está asociado en su parte positiva (donde están los bosques) a un mayor contenido de N amoniacal, mientras que en el extremo negativo (donde están los páramos) hay mayor contenido de fósforo. La pastura se caracteriza por mayor contenido de carbono, nitrógeno, sodio y magnesio.

El tercer eje (Figs. 2.4 y 2.5) por su parte separa los dos sitios de páramo (BF y PF). Los Bahitos (BF) se ubica en la parte positiva del eje III, asociados a mayor contenido (Figura 2.3) de fósforo (P), nitrógeno amoniacal (N-am), conductividad eléctrica (CT, sodio (Na) y N total, mientras que Los Pozos se asocia con mayor contenido de calcio (Ca), potasio (K), capacidad de campo (CC) y capacidad de intercambio catiónico (CIC), indicios de mayor enclado y fertilización orgánica.

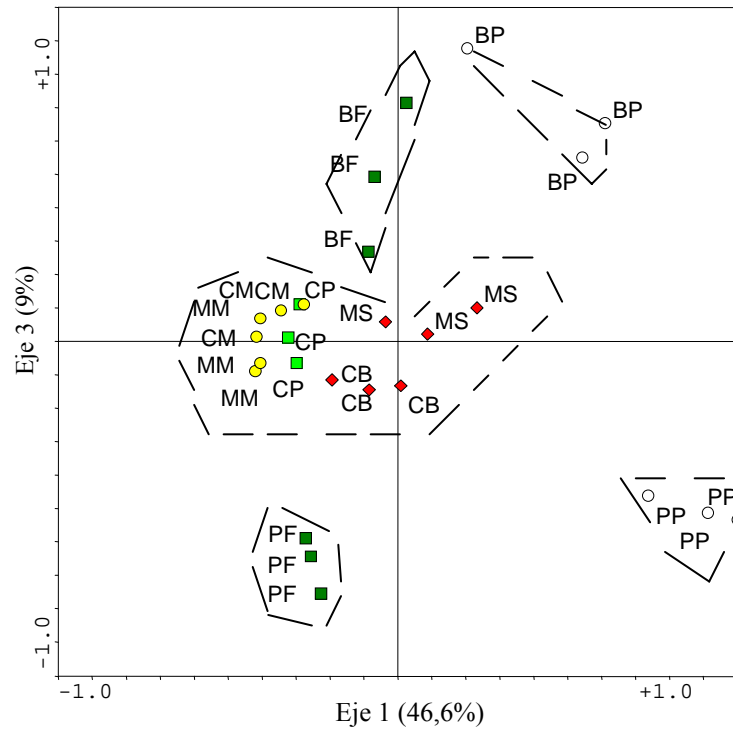


**Figura 2.2.** Ordenamiento de los sitios por Análisis de Componentes Principales (ACP) con base en las propiedades abióticas de los suelos.

BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, Selva; MM: La Mucuy, maíz.

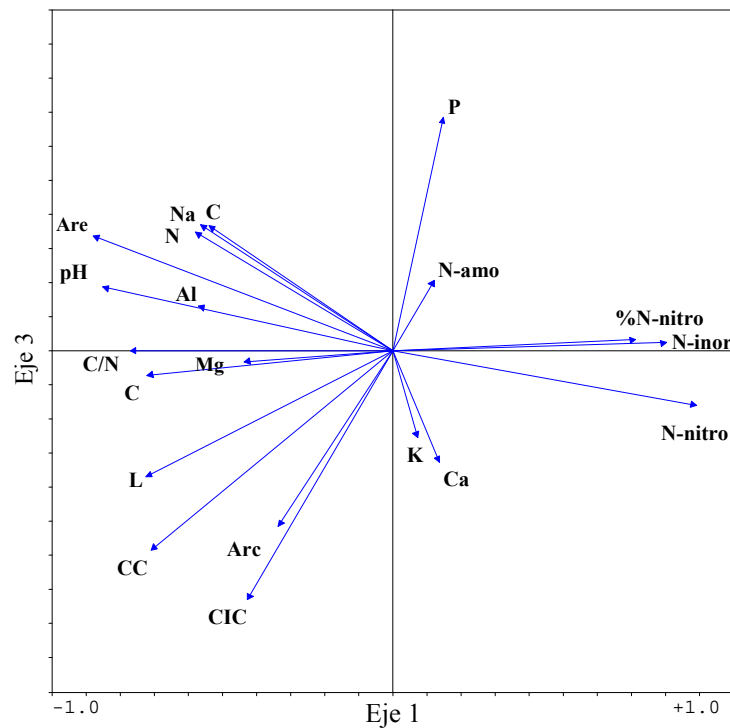


**Figura 2.3.** Ordenamiento de las propiedades abióticas de los suelos.



**Figura 2.4.** Ordenamiento de los sitios por Análisis de Componentes Principales con base en las propiedades abióticas de los suelos. Eje 1 vs. eje 3.

BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, Selva; MM: La Mucuy, maíz.



**Figura 2.5.** Ordenamiento de las propiedades abióticas de los suelos. Eje 1 vs. eje 3.

## 2.4. Discusión

Los suelos de páramo no intervenido de Los Bahitos y Los Pozos presentaron pH ácido, cuyo valor promedio ( $4,9 \pm 0,1$ ) representa un valor intermedio entre los reportados para el páramo de Gavidia (pH 5,0-5,8) (Llambí y Sarmiento, 1998; Abadín *et al.*, 2002; Sarmiento y Bottner, 2002; Gonzales, 2004; Montilla *et al.*, 2002) y el páramo de El Banco (pH 4,1-4,7) (Cousteaux *et al.*, 2002; Barnola y Montilla, 1997) o el de Cruz Verde en Colombia (pH 4,0) (Jaimes, 2000). El contenido de  $Al^{3+}$  intercambiable está en promedio ( $1,51 \pm 1,1$  cmol(+) $kg^{-1}$  suelo) muy por debajo de lo reportado ( $11,58$  cmol(+) $kg^{-1}$  suelo) en suelos del páramo de Gavidia (Abadín *et al.*, 2002), o lo encontrado ( $10,33$  cmol(+) $kg^{-1}$  suelo) por Jaimes (2000) en el páramo de Cruz Verde en Colombia.

La presencia de  $Al^{3+}$  en los suelos de BF y PF puede constituir uno de los factores que favorecen la acidificación de estos suelos, tal y como indican el análisis de correlación entre el  $Al^{3+}$  intercambiable y el pH ( $r = -0,82$ , Tabla 2.5). Cabe mencionar que este catión no se encuentra en concentraciones tan elevadas como en los suelos del páramo de Gavidia que poseen valores superiores de pH (Abadín *et al.*, 2002), por lo que la materia orgánica, además del  $Al^{3+}$ , podría estar contribuyendo con la acidez. Por otra parte, la proporción  $Al^{3+}$ /cationes básicos no es tan alta como para considerar tóxicas para las plantas las concentraciones de aluminio pero si podría formar complejos con la materia orgánica y limitar su descomposición. El pH de estos suelos,  $4,8 \pm 0,04$  y  $5,0 \pm 0,2$  respectivamente, está dentro del rango de tolerancia para un rendimiento satisfactorio de cultivo de *Solanum tuberosum* (Porta *et al.*, 1999).

El C y N total estuvieron muy por debajo de los reportados en los páramos de Gavidia y de Cruz Verde (Colombia). El contenido de carbono orgánico fue de  $40,2 \pm 8,0$  g C  $kg^{-1}$  suelo en BF y  $48,1 \pm 1,7$  g C  $kg^{-1}$  suelo en Los Pozos-páramo para una media de  $44,2 \pm 5,6$  g C  $kg^{-1}$  suelo, mientras que en suelos de Gavidia, el carbono total alcanzó valores entre 70-135 g C  $kg^{-1}$  de suelo (Llambí y Sarmiento, 1998; Abadín *et al.*, 2002; Sarmiento y Bottner, 2002; Gonzales, 2004; Montilla *et al.*, 2002), y en suelos con más de 20 años de sucesión en el páramo de Cruz Verde, fue de  $159,2 \pm 2,61$  g C  $kg^{-1}$  suelo. Sin embargo, cuando observamos los datos reportados para el páramo de El Banco (Cousteaux *et al.*, 2002; Barnola y Montilla, 1997) en la Sierra de La Culata, vemos que los valores de carbono ( $46,6$  g C  $kg^{-1}$  suelo), así como de otros parámetros edáficos, son comparables a los encontrados en el presente trabajo. Lo mismo ocurre con la cantidad de nitrógeno en suelos de Los Bahitos y Los Pozos, que resulta muy inferior a la reportada en Gavidia (Llambí y Sarmiento, 1998; Abadín *et al.*, 2002; Sarmiento y Bottner, 2002; Gonzales, 2004; Montilla *et al.*, 2002), y en Cruz Verde (Jaimes, 2000) y se acerca más a la del páramo de El Banco (Cousteaux *et al.*, 2002; Barnola y Montilla, 1997) lo cual puede tener su causa en la precipitación, que es alta en Gavidia y Cruz Verde, y baja en El Banco, Los Pozos y Los Bahitos.

El contenido de P de Los Bahitos-páramo  $25,9 \pm 9,6 \text{ mg kg}^{-1}$  fue relativamente alto ( $p < 0,05$ ) si lo comparamos con el de Los Pozos-páramo ( $1,9 \pm 0,7 \text{ mg kg}^{-1}$ ) y con los reportados para otros suelos de páramo no intervenido o en sucesión en los que los valores de P pueden variar entre 1,6 y  $21,4 \text{ mg kg}^{-1}$ . (Malagón 1982, Llambí y Sarmiento, 1998; Abadín *et al.*, 2002; Barnola y Montilla, 1997; Gonzales, 2004; Montilla *et al.*, 2002; Jaimes, 2000). Tal vez el suelo de Los Bahitos fue cultivado años atrás y como el P tiende a lavarse lentamente, el P detectado sea resultado de fertilizaciones anteriores.

La CIC mostró ser significativamente mayor ( $p < 0,05$ ) en Los Pozos-páramo que en Los Bahitos-páramo, lo cual puede estar relacionado con un mayor contenido de arcilla y de materia orgánica que en Los Bahitos, y por lo tanto de una mayor cantidad de cargas negativas que favorezcan el incremento de la CIC (Rivero y Paolini, 1994). Comparando con otros estudios, la CIC mostró valores que están dentro del rango reportado en otros suelos del páramo venezolano (Llambí y Sarmiento, 1998; Sarmiento y Bottner, 2002; Bartola y Montilla, 1997) pero muy inferiores a los encontrados en el páramo de Cruz Verde en Colombia (Jaimes, 2000).

En Los Bahitos, los aumentos significativos ( $p < 0,05$ ) asociados a la conversión se detectaron en el  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{K}^+$ , y  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ . Otros parámetros como conductividad, N-inorgánico, y  $\text{Mg}^{2+}$ , también aumentaron aunque no de manera significativa mientras que CC, N total, relación C/N,  $\text{Al}^{3+}$  y CIC disminuyeron significativamente ( $p < 0,05$ ). El contenido de C, aunque no fue significativo, también disminuyó. Por otra parte en Los Pozos la conversión del ecosistema páramo a cultivo de papa, trajo consigo aumentos significativos ( $p < 0,05$ ) en los siguientes parámetros: CC, N total,  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ , %  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ , P,  $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{K}^+$  y CIC; otros parámetros también mostraron aumento, aunque no fue significativo: pH, conductividad, C total, N inorgánico,  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ , y  $\text{Na}^+$ , mientras que unos pocos disminuyeron con la conversión: C:N y  $\text{Al}^{3+}$ . Como vemos, los cambios fueron más extendidos en el caso de Los Pozos, en donde una mayor cantidad de parámetros se mostraron afectados por la conversión, seguramente, debido al manejo más intensivo del cultivo, que incluye encalado y fertilización orgánica e inorgánica. En general estos resultados indican que en Los Pozos la conversión a cultivo trajo algunos cambios favorables en las propiedades del suelo: no hubo disminución en el C ni en el N total, por lo que el suelo mantuvo sus niveles de materia orgánica, lo que trae beneficios en el mantenimiento de la estructura del suelo; aumentó la CIC y el pH aumentó en 1,2 unidades respecto al suelo de páramo, a diferencia de los reportado por otros autores que observan disminución del pH con el cultivo, en suelos no encalados (Gonzales, 2004; Abadín *et al.*, 2002). Dichos autores asocian la disminución en el pH a la fertilización y al proceso de nitrificación microbiana que tiende a disminuir los valores de pH. En nuestro estudio, el encalado es la causa más probable del aumento del pH que observamos. También en los Pozos, la conversión trajo consigo el aumento en la CC, lo cual implica una mejoría en el mantenimiento del balance hídrico del ecosistema. Sin embargo, la fertilización

nitrogenada trajo consigo un aumento ( $p < 0,05$ ) importante en la cantidad de nitratos que predominaron sobre el ión amonio que no mostró aumento significativo con respecto al suelo de páramo natural, lo cual no es beneficioso para el cultivo ni para el ecosistema dada la alta movilidad del ión nitrato lo que conduce a su pérdida por lixiviación y la consiguiente contaminación de aguas. El pH de 6,2 del suelo de Los Pozos-papa posiblemente favoreció el proceso de nitrificación que realizan los microorganismos del suelo y que conduce a la formación de nitratos y nitritos, ya que es bien conocido que el pH neutro o alcalino es propicio para dicho proceso, mientras que puede ser inhibido a pH ácido (Alexander, 1977).

Los suelos de selva nublada (La Mucuy) presentan características similares a las reportadas por otros autores como Vera y López (1995) que estudiaron suelos de cuatro selvas nubladas de la Sierra Nevada de Mérida y la Sierra de la Culata, y Márquez (1988) que estudió el bosque experimental de San Eusebio. Los suelos de La Mucuy presentaron alto contenido de carbono y nitrógeno debido a los grandes aportes de materia orgánica por parte de la vegetación natural, que se acumula debido a su lenta descomposición. Esta acumulación de materia orgánica trae consigo altos valores de la capacidad de campo (CC) y de la CIC, tal y como se observa en la Tabla 2.3.

Los suelos de bosque siempreverde (Cacute) presentan características más orgánicas que los de La Mucuy-selva, es decir, mayor contenido de C y N (Tabla 2.3 y 2.4). Esto tal vez, porque la menor calidad de su materia orgánica (C:N 15,2) y una menor humedad de sus suelos hacen más lento el proceso de descomposición y de ahí la acumulación de mayor cantidad de materia orgánica.

En general la conversión de bosques (bosque siempreverde seco y selva nublada) en cultivo de maíz trajo consigo una importante y significativa ( $p < 0,05$ ) disminución en los valores de los siguientes parámetros del suelo (Tabla 2.3): C total, N total, N inorgánico,  $\text{N-NH}_4$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ , y CIC. Por su parte cuando se analiza el efecto que tiene la conversión de bosque siempre verde en potrero, se observa que también ocurre la disminución de los valores de los parámetros anteriormente mencionados aunque la misma es menos acentuada, alcanzando valores intermedios entre los de ecosistema natural y cultivo de maíz, debido posiblemente a que en este tipo de agroecosistema se caracteriza por presentar una cobertura continua y un extenso entramado de raíces que incorporan al suelo exudados y materia orgánica además de los aportes a través de las excretas de los animales de pastoreo aunque el potrero de Cacute estaba manejado con una carga animal moderada.

La disminución en el contenido de carbono y nitrógeno en los cultivos de maíz debe ser consecuencia de las actividades de labranza asociadas al cultivo, que conlleva a la ruptura de los agregados, exponiendo así la materia orgánica a la acción descomponedora de la microbiota edáfica (Chan *et al.*, 2002; Zinn *et al.*, 2005; Tan *et al.*, 2007) con la consiguiente disminución de C y N, es decir, de materia orgánica, lo cual a su vez es causa de la disminución en la CIC y capacidad de campo,

además de un manejo de bajos insumos con escasa incorporación de abonos orgánicos y una baja incorporación de residuos de cultivo en relación con el aporte que representa la hojarasca del bosque.

Comparando los cuatro ecosistemas naturales (Tabla 2.4), el bosque siempreverde (Cacute-bosque) es el que presenta los mayores valores ( $p < 0,05$ ) de pH, C total y de CIC. Otros parámetros, como CC, conductividad, N-total,  $Mg^{2+}$ ,  $K^+$  y  $Ca^{2+}$ , también muestran en Cacute-bosque valores superiores a los de los otros ecosistemas naturales, aunque no de manera estadísticamente significativa. Cuando comparamos la cantidad de C en los suelos de páramo y de selvas se observa que estas últimas almacenan más carbono que los primeros. En particular Cacute-bosque almacena 100 % más C por unidad de peso que Los Bahitos-páramo, lo cual es importante resaltar pues en general se suele considerar que los suelos de páramo son grandes almacenes de C, más aun que los de ecosistemas boscosos más bajos (Hofstede, 2003) lo cual es relativamente cierto pues como ya hemos mencionado anteriormente en otros trabajos se reportan valores altos de carbono en suelos de Gavidia y del páramo de Cruz Verde en Colombia. Algo importante que hay que considerar es que los páramos de Los Bahitos y de Los Pozos están en el extremo seco de lo que sería el clima de páramo. Otro factor que habría que considerar también para poder comparar con más justicia la capacidad de almacenamiento de carbono por los suelos de páramo es su profundidad, pues de ser más profundos, su capacidad total de almacenamiento sería superior.

## 2.5. Conclusiones

1) La conversión de páramo a cultivo de papa genera cambios en las propiedades abióticas de los suelos aunque dichos cambios no siempre se manifiestan en la misma dirección (aumento o disminución) ni de manera significativa en todos los casos. En los Bahitos, la conversión vino acompañada de la disminución de la calidad del suelo, ya que disminuyó la CC, el contenido de C y N total y el CIC. En los Pozos la conversión y su efecto sobre la calidad del suelo es más difícil de valorar en cuanto se observaron algunos cambios favorables (aunque no todos de manera significativa) en las propiedades abióticas tales como: pH, CC, el C y el N total, el amonio así como las bases cambiables y la CIC. Sin embargo, también aumentó de manera importante y significativa el  $N-(NO_3^-+NO_2^-)$  lo cual empaña los beneficios anteriormente mencionados dado el conocido efecto negativo que tienen los nitratos y nitritos sobre el ambiente. Estas diferencias en el efecto de la conversión en los dos páramos estudiados se explican por diferencias en el manejo, lo cual resalta la importancia que tendría conocer mejor las características de cada conversión en cuanto a las prácticas, cantidad de insumos, rotaciones, tiempo desde la conversión, etc. En este sentido los resultados indican también, un manejo intensivo en Los Pozos-papa, que incluiría el encalado y la aplicación de altos insumos de fertilizantes orgánicos e inorgánicos lo cual se refleja en el aumento significativo de pH, N total, P,  $Ca^{2+}$ ,  $Mg^{2+}$ , CC y CIC. Estos cultivos y su manejo fueron los que más efectos tuvieron sobre las propiedades abióticas del suelo. En los Bahitos, por el contrario, la conversión trajo consigo la disminución significativa de algunas propiedades abióticas como la CC, N total, relación C/N y CIC, lo que indicaría un manejo con menos insumos.

2) Comparando los suelos de páramo y bosques, estos últimos (selva nublada y bosque siempreverde seco) parecen ser más importantes reservorios de materia orgánica (carbono y nitrógeno) y en especial el bosque siempre verde (Cacute-bosque), aunque dado el reducido número de muestras que se estudiaron debemos asumir esta afirmación con cierta reserva. Por otra parte la conversión de estos ecosistemas naturales trajo consigo la disminución significativa de importantes parámetros relacionados con la calidad del suelo: CC, C, N total y CIC.

3) En la conversión de bosques a cultivo de maíz se produjeron grandes cambios en las propiedades abióticas de los suelos, de mayor magnitud en Cacute que en La Mucuy, pero en todo caso, de mayor magnitud que en los páramos y siempre manifiesta por la disminución de valores de importantes parámetros del suelo como CC, Ctotal, Ntotal, N-inor, N-amoniaco, Mg, y CIC, lo cual alerta sobre las consecuencias negativas de estos cultivos para la calidad del suelo.

4) En la conversión de bosque siempreverde a potrero se observa un resultado menos negativo para el suelo que con la conversión a maíz, esto como consecuencia del tipo de cultivo, que favorece la acumulación de carbono en el suelo, y por el manejo con una carga animal moderada, todo lo cual habla a favor de este tipo de conversión.

## 2.6. Referencias Bibliográficas

- Abadín J, González-Prieto SJ, Sarmiento L, Villar MC y Carballas T (2002). Successional dynamics of soil characteristics in a long fallow agricultural system of high tropical Andes. *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 1739-1748.
- Alexander M (1977). Introduction to soil microbiology. Second edition. Wiley & Sons. New York.
- Andressen R y Ponte R (1973): *Estudio integral de las cuencas de los ríos Chama y Capazón*. Subproyecto N° II, Climatología e Hidrología. ULA, Mérida. Mapa Isoyetas Medias Anuales, escala 1:250 000.
- Aranguren A (2009). *Caracterización de comunidades leñosas estacionalmente secas premontanas y montanas en el estado Mérida*. Tesis Doctoral. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 241 p.
- Ataroff M (2001). Venezuela. En M Kappelle y A Brown (eds.). *Bosques Nublados del Geotrópico*, editorial IMBIO, Costa Rica, pp. 397-442.
- Bartola LG y Montilla MG (1997). Vertical distribution of mycorrhizal colonization, root hairs, and belowground biomass in three contrasting sites from the tropical high mountains, Mérida, Venezuela. *Artic and Alpine Research*. 29: 206-212.
- Beloso MC (1991). Estudio de la gallinaza como fertilizante agrícola. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. España. 330p.
- Bravo S (2000). *Aspectos Básicos de Química de Suelos*. Colección Ciencia y Tecnología. Universidad Ezequiel Zamora.
- Casanova EO (2005). Introducción a la ciencia del suelo. Colección Estudios. CDCH. Universidad Central de Venezuela.
- Coûteaux MM, Sarmiento L, Bottner P, Acevedo D y Thiéry JM (2002). Decomposition of standard plant material along an altitudinal transect (65-3968) in the tropical Andes. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 69-78.
- Chan KY, Heenan DP y Oates A (2002). Soil carbon fractions and relationship to soil quality under different tillage and stubble management. *Soil and Tillage Research*. 63: 133-139.
- Diz CN (2003). *Respuesta microbiana a la quema y al abonado del suelo*. Tesis doctoral. Universidad Santiago de Compostela. España. 478p.
- Ferruquino A y Meneses L (2004). Los suelos del Trópico de Cochabamba (Bolivia): identificación de restricciones edáficas para cultivos de banano, palmito, piña y pastos. *Informaciones Agronómicas del Cono Sur*, N° 21, Marzo.

- Gonzales S (2004). *Microbiota Edáfica de Los Andes Tropicales*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. España. 258p.
- Hofstede R (2003). *Los Páramos del Mundo*. Proyecto Atlas Mundial de los Páramos. R Hofstede, P Segarra y P Mena Vásconez. Global Peatland Initiative/NC-IUCN/EcoCiencia. Quito
- Jaimes V (2000). *Estudio ecológico de una sucesión secundaria y recuperación de la fertilidad en un ecosistema de páramo*. Tesis de Maestría. Universidad de Los Andes. Mérida. Venezuela. 162 p.
- Klute A (1986). Water retention: Laboratory methods. En Klute A (ed.). *Methods of soil análisis. Part 1. Physical and mineralogical methods*. Agronomy . 9: 635-662.
- Llambí LD y Sarmiento L (1998). Biomasa microbiana y otros parámetros edáficos en una sucesión secundaria de los páramos venezolanos. *Ecotrópicos* 11(1): 1-14.
- Machado D (2005). *Un enfoque agroecosistémico para el manejo eficiente del suministro de nitrógeno en el cultivo de papa en los Andes venezolanos*. Tesis Doctoral. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela. 233p.
- Malagón D (1982). Evolución de suelos en el páramo andino (NE del Edo. Mérida-Venezuela). Serie: suelos y clima. CIDIAT. Mérida
- Márquez O (1988). Génesis de una secuencia de suelos en el bosque experimental San Eusebio, La Carbonera, estado Mérida. *Revista Forestal Venezolana*. Año XXII, N° 32, enero-diciembre
- Montilla M, Monasterio M y Sarmiento L (2002). Dinámica sucesional de la fitomasa y los nutrientes en parcelas en sucesión-regeneración en un agroecosistema de páramo. *Ecotrópicos*. 15(1): 75-84.
- Porta J, López M y Roquero (1999). Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 2ª edición. Ediciones Mundi-Prensa. España.
- Rivero C y Paolini J (1994). Efecto de la incorporación de residuos orgánicos sobre algunas propiedades químicas de dos suelos en Venezuela. *Venesuelos*. 2 (1): 19-25.
- Sarmiento L y Bottner P (2002). Carbon and nitrogen dynamics in two soils with different fallow times in the high tropical Andes: indications for fertility restoration. *Applied Soil Ecology*. 19: 79-89.
- Tan Z, Lal R, Owens L y Iazurralde RC (2007). Distribution of light and heavy fractions of soil organic carbon as related to land use and tillage practice. *Soil and Tillage Research* 92: 53-59.
- Vera M y López R (1995). Estabilidad estructural de suelos en zona de selvas nubladas de los Andes de Mérida, Venezuela. *Venesuelos*. 3 (1): 37-45.
- Zinn YL, Lal R y Resck DVS (2005). Changes in soil organic stocks under agriculture in Brazil. *Soil and Tillage Research*. 84: 28-40

## CAPÍTULO 3

### POTENCIAL DE NITRIFICACIÓN Y DE MINERALIZACIÓN

#### Resumen

El estudio de la dinámica del nitrógeno en los ecosistemas permite cuantificar los procesos asociados con el ciclado de este importante nutriente y conocer la velocidad y magnitud con que ocurren sus transformaciones. Con el presente trabajo hemos querido conocer la cantidad de amonio y nitratos originalmente presentes en suelos de bosques, páramos y sus sistemas de reemplazo, así como también, determinar las tasas de nitrificación relativa, absoluta y la mineralización neta de estos suelos. Para ello se agregaron a los suelos el equivalente a 212 mg N kg<sup>-1</sup> suelo seco, en la forma de sulfato de amonio, se ajustó el contenido de humedad al 60 % de la capacidad de campo y se incubaron a 25 °C durante tres semanas. Originalmente, los suelos de bosques tenían en promedio 52,02 ± 10,59 mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> y los de páramo 9,99 ± 2,47 mg kg<sup>-1</sup> suelo seco, mientras que el N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> se encontró en cantidades promedio de 0,33 ± 0,1 y 3,09 ± 1,61 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> suelo respectivamente. Durante la incubación con sulfato de amonio los suelos de páramo natural no mostraron cambios importantes en la cantidad de amonio mientras que en los suelos de bosques naturales, el amonio aumentó de manera considerable y sostenida hasta alcanzar en promedio 466,53 ± 1,33 mg de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> kg<sup>-1</sup> suelo seco lo cual sugiere que ocurrió amonificación de nitrógeno orgánico. El contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en los bosques sólo aumentó durante la primera semana de incubación y el máximo valor que alcanzó fue de tan sólo 2,92 ± 1,45 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> suelo seco. En los suelos de páramo, naturales y cultivados con papa, los primeros 7 días de incubación el N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> disminuyó y luego aumentó hasta alcanzar valores comparables a los iniciales. Su máximo valor fue de 53,10 ± 6,44 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> suelo cultivado con papa. En los cultivos (maíz y potrero) asociados a bosques, el N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> aumentó durante toda la incubación y alcanzó valores máximos de 32,89 ± 8,30 mg N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> en suelo de potrero. Las tasas de nitrificación absoluta y relativa de los suelos de páramo (natural y cultivados) mostraron valores negativos los primeros 7 días de incubación, mientras que los de bosques cultivados siempre fueron positivas durante todo el tiempo que duró la incubación. En los bosques naturales los valores de nitrificación estuvieron siempre alrededor de cero y en contraste estos ecosistemas mostraron altas tasas de mineralización (amonificación) lo que sugiere la existencia en estos suelos de N orgánico fácilmente mineralizable (fracción activa).

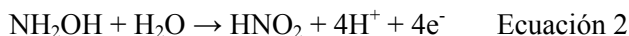
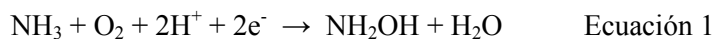
### 3.1. Introducción

La mayor parte del nitrógeno asimilado por las plantas se deriva del reservorio de N inorgánico presente en el suelo bajo las formas de  $\text{NH}_4^+$  y  $\text{NO}_3^-$ , las cuales son producidas a través de los procesos de mineralización y nitrificación. Debido a que el N es generalmente el nutriente mineral más demandado por las plantas terrestres, las diferencias entre las tasas de mineralización, nitrificación e inmovilización del N, pueden tener un profundo efecto sobre la productividad primaria de los ecosistemas terrestres (Hart *et al.*, 1994).

La mineralización del N consiste en la conversión del N orgánico en N inorgánico. En una primera etapa de la mineralización, denominada amonificación, ocurre la conversión de compuestos orgánicos nitrogenados (proteínas, urea, quitina, etc.) en  $\text{NH}_4^+$ . En una segunda etapa, la nitrificación, el  $\text{NH}_4^+$  es oxidado a  $\text{NO}_2^-$  y luego a  $\text{NO}_3^-$  por bacterias oxidantes del  $\text{NH}_4^+$  y oxidantes de nitrito, respectivamente (Kandeler, 1996; Coyne, 2000).

La nitrificación puede ser autotrófica o heterotrófica, y es una reacción catalizada por dos grupos de bacterias: las bacterias oxidantes del amoníaco, que utilizan este compuesto como sustrato (Suzuki *et al.*, 1974; Burton y Prosser, 2001) y que obtienen energía de este proceso, y las bacterias oxidantes del nitrito, que al igual que las primeras también utilizan la oxidación para generar energía (Bock y Wagner, 2002). El pH óptimo para el crecimiento de las bacterias nitrificantes autotróficas está en el rango de 7,6-7,8 aunque también han sido detectadas en ambientes con pH tan bajo como 2,9 (Nugroho *et al.*, 2005) así como en lagos con pH de 10,0 (Sorokin *et al.*, 2001).

En la nitrificación, la oxidación del amoníaco es iniciada por la enzima amoníaco monooxigenasa (AMO). Los sustratos de la AMO son el amoníaco, el oxígeno y dos electrones (Ecuación 1). Un átomo de oxígeno es reducido a agua, mientras que el otro es incorporado a la hidroxilamina. Esta molécula intermediaria, la hidroxilamina, es oxidada hasta nitrito por la enzima hidroxilamina oxidoreductasa (HAO) (Ecuación 2). Dos de los cuatro electrones derivados de esta reacción son requeridos para la propia actividad de la AMO y los otros dos son utilizados para la generación de energía a través de la cadena transportadora de electrones (Bock y Wagner, 2002).



La oxidación del nitrito es realizada por la enzima nitrito oxidoreductasa. En esta reacción, el oxígeno adicional de la molécula de nitrato procede del agua y los dos electrones que son liberados se utilizan para la generación de energía (Ecuación 3).



La nitrificación heterotrófica consiste en la oxidación del amoníaco hasta nitrito y nitrato por microorganismos quimiorganotrofos (bacterias, hongos y algunas algas). Se considera que este proceso puede ocurrir en ambientes con condiciones desfavorables para la nitrificación autotrófica, aunque algunos estudios indican que realmente su contribución a la nitrificación es comparativamente escasa. (Bock y Wagner, 2002; Islam *et al.*, 2007).

A diferencia de la amonificación, que es menos susceptible a los cambios ambientales, el proceso de nitrificación es considerablemente sensible a diversos factores, tanto físicos como químicos, por lo que los cambios ocurridos en el ambiente lo pueden afectar de manera importante. Los factores que más influyen sobre la nitrificación son: acidez, aireación, humedad, temperatura y tipo de vegetación (Alexander, 1976).

La acidez es el factor ambiental que más influye. En suelos ácidos, la nitrificación ocurre muy lentamente, pudiendo disminuir considerablemente por debajo de pH 6,0 y desaparecer a un pH inferior a 5,0. El pH no solamente afecta al proceso de nitrificación en sí, sino que determina además el número de microorganismos edáficos el cual generalmente es mayor en suelos neutros o ligeramente alcalinos (Alexander, 1976).

La aireación, es esencial para la nitrificación, aunque se conocen microorganismos que en condiciones anóxicas también pueden oxidar amoníaco a través de un proceso denominado “oxidación anóxica de amoníaco (anammox)” y que es realizado por bacterias del filum *Planctomycetales* (Madigan, 2004). Sin embargo, en la mayoría de los ambientes terrestres, la nitrificación es llevada a cabo por microorganismos para los que el O<sub>2</sub> es un requerimiento obligatorio. Además, el oxígeno presente en la molécula de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, proviene del oxígeno molecular, de modo que este no sólo es necesario para la respiración de los microorganismos nitrificantes sino que además es sustrato (Coyne, 2000).

La humedad influye en el régimen de aireación del suelo, por lo que el contenido de agua afecta la nitrificación. En suelos inundados, la difusión de O<sub>2</sub> es limitada, por lo que la nitrificación disminuye o desaparece. Por otra parte, en suelos con poco contenido de humedad, la escasez de agua limita el desarrollo de los microorganismos, incluidos los nitrificantes. Además en estas condiciones de baja disponibilidad de agua, la difusión de amonio y de los mismos microorganismos, se ven seriamente afectados. Se considera que la nitrificación ocurre más fácilmente cuando el mismo está entre 1/2 y 2/3 de la capacidad de campo (Alexander, 1976; Coyne, 2000).

La nitrificación también es severamente afectada por la temperatura. En general la temperatura óptima está alrededor de 30-35 °C y ocurre muy lentamente por debajo de 5 °C o por encima de 40 °C (Alexander, 1976).

El tipo de vegetación también ha sido considerado como uno de los factores que afecta la nitrificación. Así, en muchas praderas resalta la escasez de nitrógeno inorgánico y la relativa abundancia de amonio sobre el nitrato, por lo que se ha sugerido que en estos ecosistemas, las raíces excretan sustancias inhibitoras de la nitrificación (Alexander, 1976), proceso que se conoce como alelopatía.

Algunos de los factores anteriormente mencionados pueden ser manipulados durante el manejo del cultivo, lo que constituye otro factor que afecta la nitrificación. La utilización de maquinaria pesada trae consigo la compactación y alteración de la estructura de los suelos lo que disminuye la difusión de agua y oxígeno y en consecuencia de las tasas de nitrificación. El encalado de suelos ácidos, puede por el contrario favorecer la nitrificación como consecuencia del aumento en el pH lo cual propiciaría un aumento en el número de microorganismos así como condiciones favorables para la nitrificación. El régimen de humedad, controlado a través de la irrigación, de ser excesiva, limitaría la difusión de oxígeno, con la subsiguiente disminución en la tasa de nitrificación o de ser insuficiente, limitaría el crecimiento de los microorganismos nitrificantes. El tipo de fertilización, por su parte, al incorporar al suelo diferentes formas de nitrógeno (urea, amonio, abonos orgánicos) puede tener importantes consecuencias sobre la nitrificación. Por ejemplo, la fertilización con urea, implica que tiene que ocurrir primero la descomposición de este compuesto por los microorganismos ureolíticos para que el amonio esté disponible a las plantas y a los microorganismos nitrificantes, además de que la hidrólisis de los gránulos de urea pueden elevar el pH del suelo por encima de 9,0 y en consecuencia producir niveles tóxicos de  $\text{NH}_3$  (Beauchamp y Hume, 1997; Porta *et al.*, 1999).

Como consecuencia de las actividades humanas se ha incrementado considerablemente desde el inicio de la era industrial la cantidad de N incorporado a los ecosistemas terrestres. Las principales causas de este incremento son: el uso de fertilizantes nitrogenados, el cambio en el uso de la tierra con la siembra cada vez mayor de plantas leguminosas, fijadoras de nitrógeno atmosférico y, la quema de combustibles fósiles y biomasa, que conduce a la producción de distintos óxidos de nitrógeno (Matson *et al.*, 1999; Socolow, 1999). Socolow (1999), considera que el incremento antrópico en el flujo de N en los ecosistemas trae consigo los siguientes impactos adversos para el ambiente: aumento en la concentración atmosférica de óxido nitroso ( $\text{N}_2\text{O}$ ), un gas de efecto invernadero; contaminación del aire; aumento en la concentración de iones nitrato en aguas de consumo; deposiciones ácidas, eutroficación de ecosistemas acuáticos por altas concentraciones de nitrato; reducción de la biodiversidad y pérdida de las funciones del ecosistema.

Cuantificar los procesos asociados con el ciclo del N, como son, la nitrificación y mineralización neta, nos da información de la velocidad y magnitud con que ocurren las transformaciones del nitrógeno y la cantidad de este que queda disponible para las plantas o que puede

ser susceptibles de pérdidas por escorrentía o lixiviación. Sin embargo, hay que considerar que las perturbaciones y manipulaciones a los que se someten las muestras de suelo antes de su incubación en el laboratorio, tales como, tamizado, secado y rehidratación, almacenamiento, etc. aunado a las diferentes condiciones de incubación que en gran medida son muy diferentes a las encontradas en el campo, pueden resultar en tasas de nitrificación muy diferentes a las que se dan en los suelos en condiciones naturales (Hart *et al.*, 1994).

En el presente trabajo nos hemos propuesto estudiar las tasas de nitrificación relativa (neta), expresada como el porcentaje de  $\text{NH}_4^+$  que se transforma en  $\text{N}-(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  y absoluta (diferencia en la cantidad de  $\text{N}-(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  que hay entre uno ( $t_1$ ) y otro tiempo ( $t_2$ ) de incubación), así como también la mineralización neta (cantidad de  $\text{NH}_4^+$  producida en determinado periodo) de suelos de bosques (selva nublada y bosque siempreverde) y sus sistemas de reemplazo (maíz y potrero), y páramo andino y cultivo de papa. Las características generales de los sitios de muestreo así como las propiedades abióticas de los suelos ya se indicaron en las Tablas del Capítulo 2. Los resultados de este estudio nos darán información importante acerca del ciclado de nitrógeno en estos suelos y también nos permitirá evaluar el impacto que sobre el ciclo del nitrógeno tiene la conversión de estos ecosistemas en agroecosistemas.

### 3.2. Material y Métodos

Para la determinación de la cantidad de  $\text{N-NH}_4^+$  y  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  presentes inicialmente en los suelos ( $t = 0$ ) se pesaron el equivalente a 20 gramos de suelo seco de cada una de las muestras de suelo y se agregaron 100 ml de  $\text{K}_2\text{SO}_4$  0.5 M. La mezcla se agitó durante 30 minutos y luego se centrifugó a 6.000 rpm durante 15 minutos, el sobrenadante se filtró y se guardó en el congelador hasta el momento de su destilación. El contenido de  $\text{N-NH}_4^+$  y de  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  se determinó por destilación, agregando  $\text{MgO}$  y aleación Devarda, respectivamente. Todos los ensayos se realizaron por duplicado y todas las submuestras de suelo se trataron de manera independiente. Todos los resultados son expresados como mg de nitrógeno por kg de suelo seco ( $\text{mg N kg}^{-1}$  suelo seco)

Para medir la nitrificación absoluta y relativa (neta) se siguió el método descrito por Kandeler (1996) en el que se utiliza como sustrato 2 ml de sulfato de amonio 75,7 mM por cada 20 gramos de suelo colocados en recipientes de vidrio y se agrega agua suficiente para ajustar el contenido de humedad al 60% de la capacidad de campo. El sulfato de amonio agregado equivale a  $212,11 \text{ mg N kg}^{-1}$  de suelo seco. Luego los suelos se incubaron a  $28^\circ\text{C}$  durante 7 ( $t = 7$ ) y 21 días ( $t = 21$ ). Al término del tiempo de incubación, los suelos fueron extraídos y destilados como ya se indicó. Durante el tiempo de incubación a  $28^\circ\text{C}$ , los frascos se airearon una vez por semana y se ajustó el contenido de humedad cuando fue necesario.

Se hicieron en total 162 determinaciones: 9 suelos x 3 réplicas de campo x 2 réplicas analíticas x 3 muestreos (0, 7 y 21 días).

Para el cálculo de la nitrificación absoluta se restó el valor de  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  del tiempo 2 ( $t_2$ ) de su valor en el tiempo 1 ( $t_1$ ). Para el cálculo de la nitrificación relativa o neta (% N) se aplicó la ecuación siguiente (Kandeler, 1996; Machado, 2005):

$$\%N = 100(\text{N-NO}_3^-_{t_2} - \text{N-NO}_3^-_{t_1}) / [\text{N-NH}_4^+_{t_1} + (\text{Nmin}_{t_2} - \text{Nmin}_{t_1})], \text{ en donde:}$$

%N: Proporción de  $\text{N-NH}_4^+$  que se transforma en  $\text{N-NO}_3^-$  o lo que es lo mismo, nitrificación porcentual en un intervalo  $t_2 - t_1$

$\text{N-NO}_3^-$ : Nitrógeno en forma de nitratos y nitritos a los  $t$  días

$\text{N-NH}_4^+_{t_1}$ : Nitrógeno en forma de amonio a los  $t_1$  días

Nmin: Nitrógeno mineral ( $\text{N-NO}_3^- + \text{N-NO}_2^- + \text{N-NH}_4^+$ ) a los  $t_2$  y  $t_1$  días

$t_1, t_2$ : días (0, 7 ó 21 días)

Análisis estadístico: Los análisis estadísticos se realizaron con los paquetes STATISTICA 4.5 (StatSoft, INC, 1993) y STATISTIX 7.0 (Analytical Software, 2000). Se comprobaron si los datos cumplían los supuestos de normalidad con el test de Shapiro-Wilk. Las variables que no cumplieron con tales supuestos fueron transformadas logarítmicamente en unos casos y con el  $\log(x^2 + 1)$  en otros. Si

aun así no se lograba la normalización de los datos se aplicó el ANOVA no paramétrico de Kruskal-Wallis y la prueba de Comparación de Rangos Medios con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . Los demás datos fueron analizados con el ANOVA clásico en una vía y se aplicó la prueba HSD (distancias imparciales significativas) de Tukey con un nivel de significancia de  $p < 0,05$  para el análisis a posteriori. Las correlaciones entre variables se determinaron mediante el cálculo del coeficiente de Spearman.

### 3.3. Resultados

#### Amonio, nitrato y nitrógeno mineral iniciales

La Tabla 3.1.A muestra los valores de nitrógeno amoniacal ( $\text{N-NH}_4^+$ ), nitrógeno nítrico ( $\text{N-NO}_3^-$ ) y nitrógeno inorgánico ( $\text{N-NH}_4^+ + \text{N-NO}_3^-$ ) presentes en los suelos de los ecosistemas naturales, y en la misma puede observarse que los suelos de bosques (Cacute y La Mucuy) mostraron valores superiores de  $\text{N-NH}_4^+$  que los de páramo (Los Bahitos y Los Pozos), aunque estas diferencias no siempre fueron significativas. Los valores de N inorgánico total por su parte, resultaron ser más bajos en los suelos de páramo, mientras que en los bosques los valores fueron comparativamente altos (aunque no significativamente).

**Tabla 3.1.** Contenido de nitrógeno inicial en los suelos en forma de  $\text{N-NH}_4^+$ ,  $\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$  y nitrógeno inorgánico (N amoniacal + N-nítrico), expresado en mg de nitrógeno por kilogramo de suelo seco. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los valores.

	$\text{NH}_4^+$	$\text{N-(NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$	N-inorgánico
<b>A. Páramos y bosques</b>			
Los Bahitos, páramo	8,24±0,88(a)	4,22±1,08(a)	12,46±1,95(a)
Los Pozos, páramo	45,77±38,13(b)	18,44±6,92(b)	64,22±39,75(a)
Cacute, bosque	11,73±0,19(a)	1,95±0,16(a)	13,68±0,15(a)
La Mucuy, selva	17,98±0,81(a,b)	54,38±21,18(c)	72,36±21,89(a)
<b>B. Páramos y papa</b>			
Los Bahitos, páramo	8,24±0,88(a)	4,22±1,08(a)	12,46±1,95(a)
Los Bahitos, papa	45,77±38,13(b)	18,44±6,92(b)	64,22±39,75(a)
Los Pozos, páramo	11,73±0,19(a)	1,95±0,16(a)	13,68±0,15(a)
Los Pozos, papa	17,98±0,81(a,b)	54,38±21,18(c)	72,36±21,89(a)
<b>C. Bosques y cultivos</b>			
Cacute, bosque	44,53±5,45(a)	0,25±0,13(a)	44,78±15,59(a)
Cacute, maíz	9,21±0,95(b)	0,85±0,67(a)	10,07±0,86(b)
Cacute, potrero	22,24±1,71(c)	0,05±0,08(a)	22,29±1,73(c)
La Mucuy, selva	59,51±13,88(a)	0,41±0,43(a)	59,92±14,15(a)
La Mucuy, maíz	9,95±1,06(b)	0,08±0,10(a)	10,03±1,01(b)
<b>D. Cultivos</b>			
Los Bahitos, papa	45,77±38,13(a)	18,44±6,92(a,b)	64,22±39,75(a)
Los Pozos, papa	17,98±0,81(a,b)	54,38±21,18(a)	72,36±21,89(a)
Cacute, maíz	9,21±0,95(b)	0,85±0,67(a,b)	10,07±0,86(b)
Cacute, potrero	22,24±1,71(a,b)	0,05±0,08(b)	22,29±1,73(b)
La Mucuy, maíz	9,95±1,06(a,b)	0,08±0,10(a,b)	10,03±1,01(b)

En la conversión de ecosistemas boscosos a cultivos de maíz (Tabla 3.1.C) se observa una disminución ( $p < 0,05$ ) en la cantidad de  $N-NH_4^+$ , mientras que el N nítrico no varió de manera significativa. En La Mucuy, con la conversión, el contenido de amonio disminuyó el 83%, y en Cacute la disminución fue del 79%. En Cacute, además, la disminución en el N amoniacal fue más marcada en el cultivo de maíz que en el potrero.

En los cultivos se observa (Tabla 3.1.D), por una parte, que los cultivos asociados a bosques (Cacute-potrero, Cacute-maíz, La Mucuy-maíz) presentaron menores ( $p < 0,05$ ) valores de N-inorgánico que los suelos cultivados con papa y que debido a la escasez de  $N-NO_3^-$ , prácticamente todo el N-inorgánico es igual a N-amoniacal. Estos resultados nos indican la importancia que el manejo y, en particular, la fertilización nitrogenada pueden tener en el ciclado del nitrógeno. El manejo intensivo del cultivo de papa en Los Pozos, es posiblemente la causa de los valores superiores de N nítrico en esos suelos, mientras que en los cultivos de maíz así como en Los Bahitos-papa, con un manejo mucho menos intenso, se presentaron valores inferiores de N nítrico.

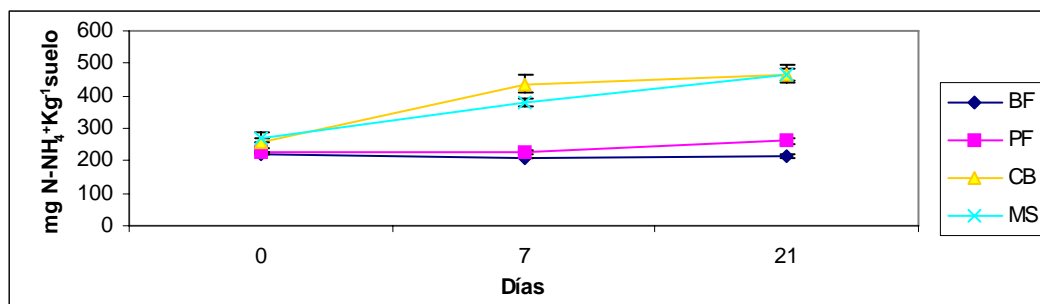
### **Variación del amonio, nitratos y N-mineral durante la incubación**

Las muestras incubadas con amonio durante 21 días mostraron variaciones en los contenidos de amonio, nitratos y nitrógeno mineral, tal y como lo muestra la Figura 3.1. En ella se observa que, mientras en el páramo natural no parece haber cambios importantes en la cantidad de amonio a lo largo de los 21 días de incubación, en los bosques (CB, MS), el amonio aumenta de manera considerable y sostenida (Figura 3.1.A).

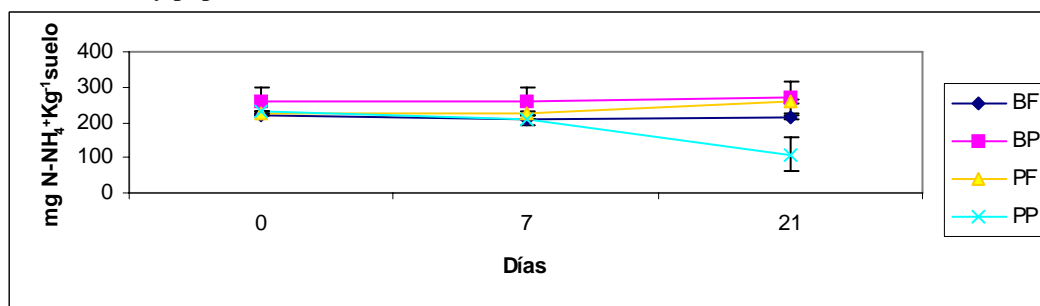
Los suelos cultivados con papa se comportaron de manera diferente durante la incubación (Figura 3.1.B). Los de Los Bahitos (BP) no presentaron variaciones importante en el contenido de amonio, mientras que en PP disminuyó y de manera más acentuada en el lapso 7-21 días.

Los suelos de potrero por su parte mostraron a lo largo de la incubación valores de N-amoniacal intermedios entre los de bosques y los cultivados con maíz (Figura 3.1.C). Comparando todos los suelos de cultivos (Figura 3.1.D) encontramos que en los dos cultivos de maíz (MM, CM) y en uno de papa (BP) durante toda la incubación no se evidenciaron cambios importantes en el valor de N amoniacal. Mientras que en Los Pozos-papa (PP), se observó que dicho valor disminuyó a lo largo de la incubación y de manera más notoria al final de la incubación (7-21 días).

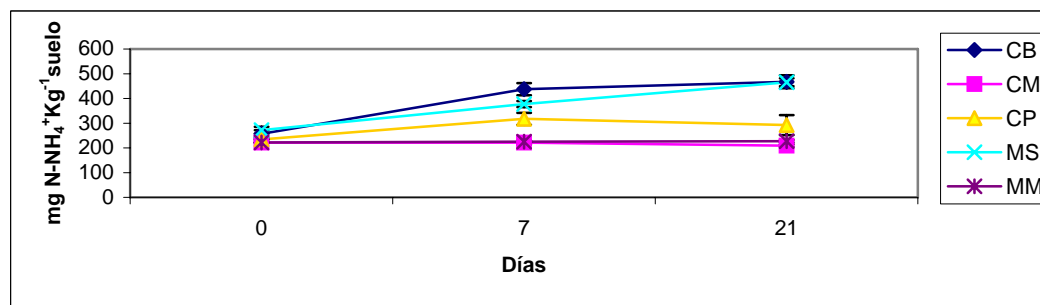
**A. Páramos y bosques**



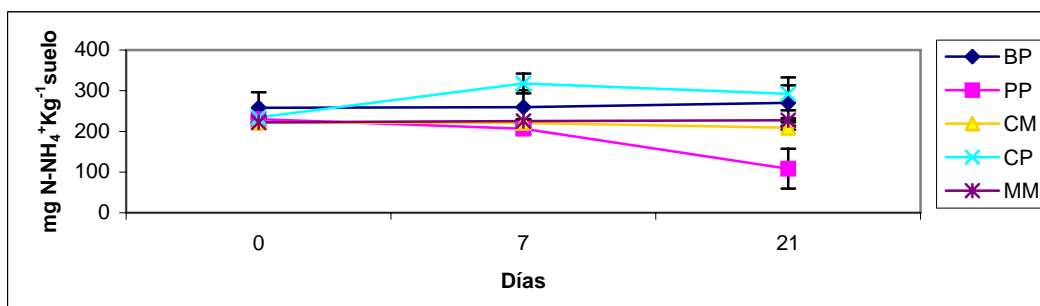
**B. Páramos y papa**



**C. Bosques y cultivos asociados**



**D. Cultivos**



**Figura 3.1.** Variación de N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> durante la incubación.

BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: La Mucuy, maíz.

observó que dicho valor disminuyó a lo largo de la incubación y de manera más notoria al final de la incubación (7-21 días).

En cuanto al nitrógeno nítrico, este disminuye en los suelos de páramo los primeros 7 días de incubación y luego (7-21 días) aumenta (Figura 3.2.A). En los bosques pareciera ocurrir algo muy diferente: el N nítrico aumentaría los primeros 7 días, y luego mantendría su valor (Figura 3.2.A) La Figura 3.2.B, por su parte indica que en los suelos de páramo, intervenidos o cultivados con papa, los primeros 7 días de incubación disminuyó el contenido de N-nítrico y luego aumentó hasta el día 21. En los cultivos asociados a bosques, el N nítrico aumentó de forma sostenida durante toda la incubación pero en especial en CP y CM en el que dicho aumento fue más notable (Figura 3.2.C).

Al observar las variaciones en el contenido de N-inorgánico durante la incubación (Figura 3.3.A) vemos que con excepción de Los Pozos-papa (PP) todos los suelos muestran el mismo comportamiento que el del N-amoniaco (Figura 3.1), en virtud del poco N-nítrico presente en los mismos, lo que trae consigo que la cantidad de N-inorgánico sea prácticamente igual que la de N-amoniaco.

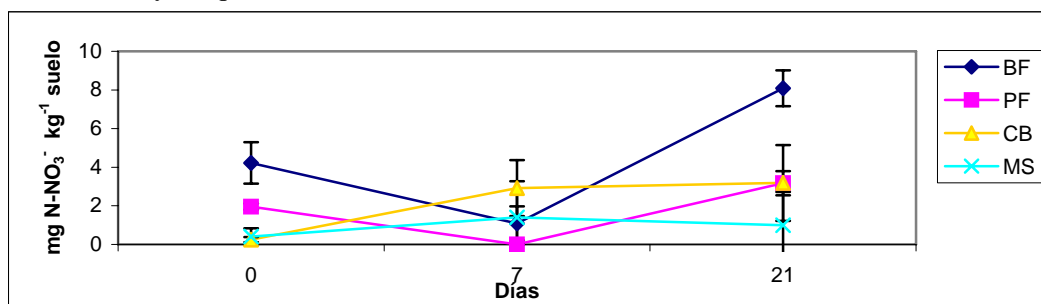
### **Nitrificación absoluta y relativa**

En la Tabla 3.2 se muestran los resultados del ensayo de nitrificación relativa o neta. Los resultados expresan el porcentaje de amonio que fue transformado en nitrato en un lapso determinado: 0-7 días, 7-21 días y 0-21 días. En la Tabla 3.3 se muestran los resultados de la nitrificación absoluta.

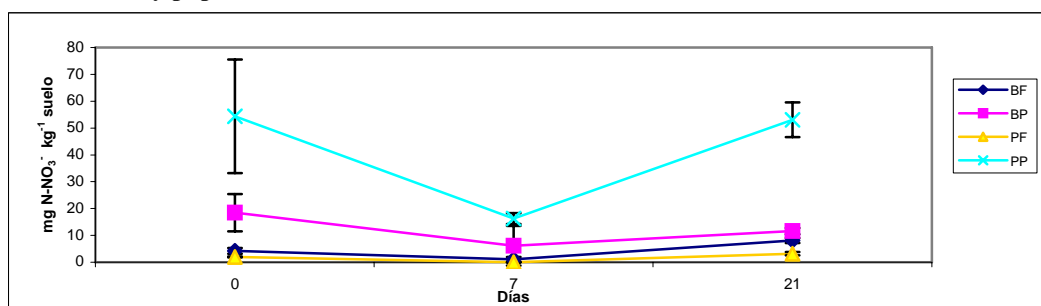
#### **Periodo 0-7 días**

Los resultados indican (Tabla 3.2 y 3.3), que en todos los suelos de páramo, tanto natural como cultivados con papa, los valores de nitrificación absoluta y relativa fueron negativos, es decir que, al final de la incubación hubo menos nitratos+nitritos que al comienzo de la misma, mientras que por el contrario en los suelos de bosques, naturales y cultivados, estos valores fueron positivos (Tabla 3.3.C y Tabla 3.2.C). Además, conviene señalar que los cultivos de Cacute (CM, CP) son los que, a diferencia de La Mucuy-selva (MS) que no muestra una tendencia clara, presentan los mayores valores de nitrificación, que se sitúan alrededor del 3% para la relativa y entre 7-9 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> kg<sup>-1</sup> suelo para la nitrificación absoluta.

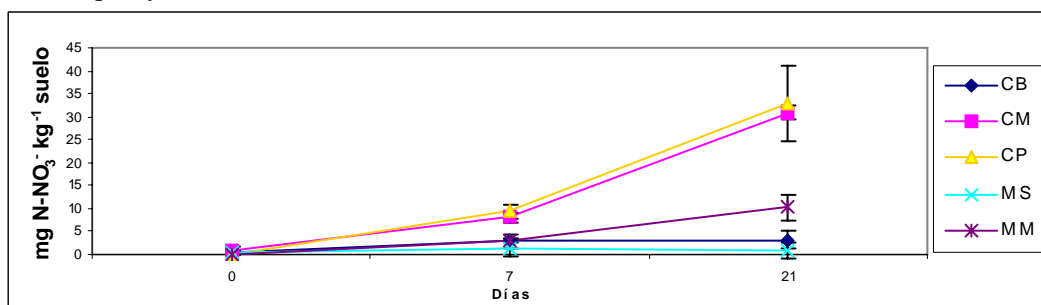
**A. Páramos y bosques**



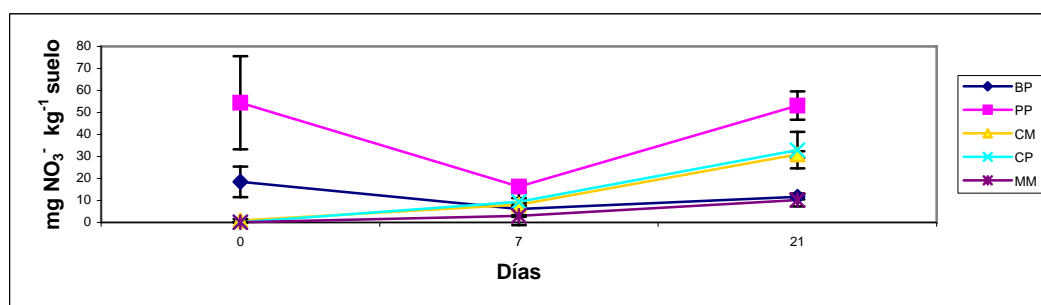
**B. Páramos y papa**



**C. Bosques y cultivos asociados**



**D. Cultivos**



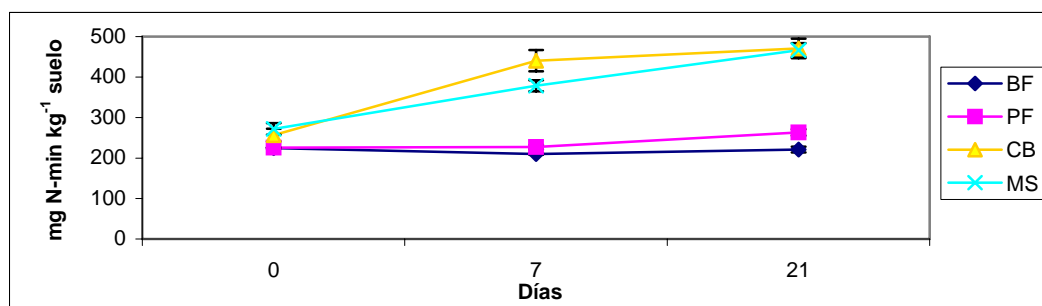
**Figura 3.2.** Variación del N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) durante la incubación.

BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: La Mucuy, maíz.

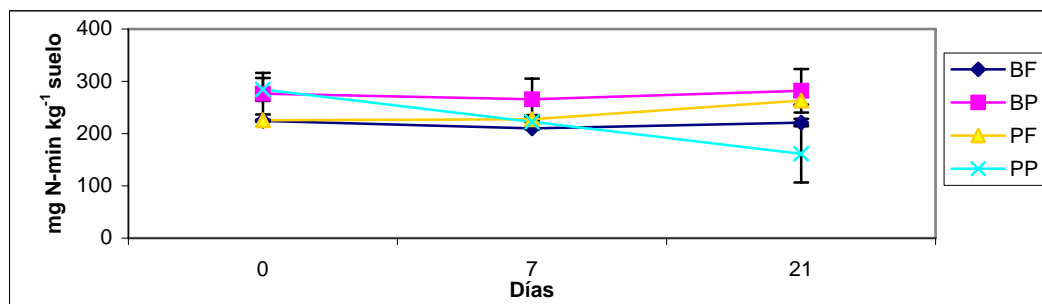
**Tabla 3.2.** Nitrificación relativa ocurrida entre 0 y 7 días, 7 y 21 días, 0 y 21 días de incubación. Los valores indican el porcentaje de  $\text{NH}_4^+$  que se transformó en  $\text{N}-(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ . Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

	0-7 días	7-21 días	0-21 días
<b>A. Páramos y bosques</b>			
Los Bahitos, páramo	-1,53±0,95(a)	3,18±0,27(a)	1,76±0,73(a)
Los Pozos, páramo	-0,87±0,09(a,b)	1,20±0,20(b)	0,46±0,27(b)
Cacute, bosque	0,60±0,26(b)	0,07±0,74(c)	0,64±0,48(a,b)
La Mucuy, selva	0,26±0,38(b)	-0,09±0,03(c)	0,12±0,28(b)
<b>B. Páramos y papa</b>			
Los Bahitos, páramo	-1,53±0,95(a)	3,18±0,27(a)	1,76±0,73(a)
Los Bahitos, papa	-4,90±0,75(b)	1,89±2,39(a)	-3,99±1,76(b)
Los Pozos, páramo	-0,87±0,09(a)	1,20±0,20(a)	0,46±0,27(a)
Los Pozos, papa	-23,16±14,24(c)	31,38±13,28(b)	-9,56±1,13(c)
<b>C. Bosques y cultivos</b>			
Cacute, bosque	0,60±0,26(a)	0,07±0,74(a)	0,64±0,48(a)
Cacute, maíz	3,15±0,26(b)	9,86±0,57(b)	12,58±0,43(b)
Cacute, potrero	2,90±0,73(b)	7,57±3,28(b,c)	10,28±3,22(b)
La Mucuy, selva	0,26±0,38(a)	-0,09±0,3(a)	0,12±0,28(a)
La Mucuy, maíz	1,25±0,16(a)	3,08±0,99(a,c)	4,24±1,08(c)
<b>D. Cultivos</b>			
Los Bahitos, papa	-4,90±0,75(a)	1,89±2,39(a)	-3,99±1,76(a)
Los Pozos, papa	-23,16±14,24(b)	31,38±13,28(b)	-9,56±1,13(a)
Cacute, maíz	3,15±0,26(a)	9,86±0,57(b,c)	12,58±0,43(b)
Cacute, potrero	2,90±0,73(a,c)	7,57±3,28(c)	10,28±3,22(b)
La Mucuy, maíz	1,25±0,16(c)	3,08±0,99(a,c)	4,24±1,08(c)

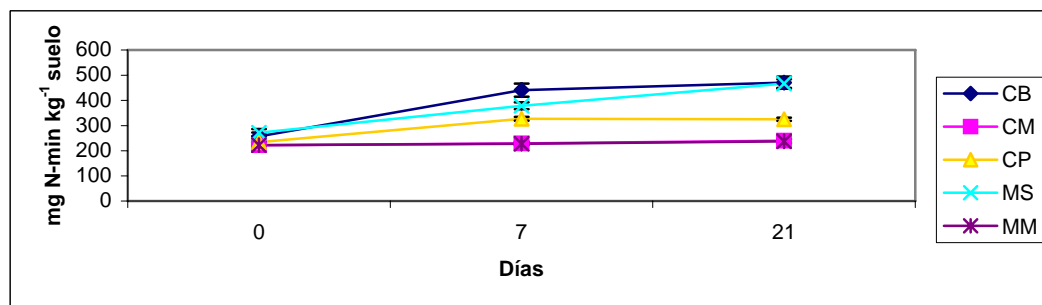
**A. Páramos y bosques**



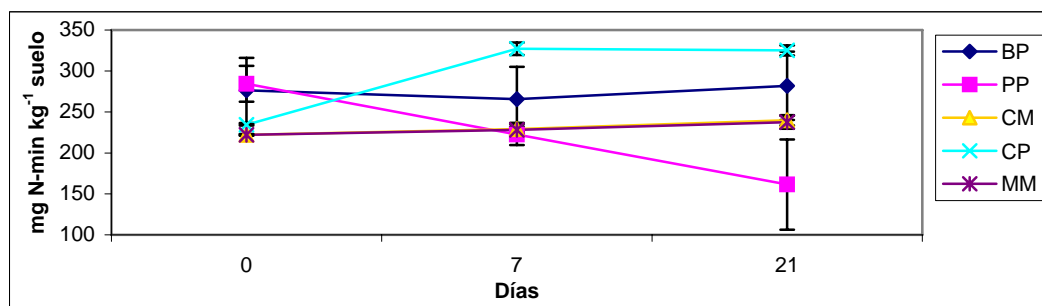
**B. Páramos y papa**



**C. Bosques y cultivos asociados**



**D. Cultivos**



**Figura 3.3.** Variación de nitrógeno inorgánico ( $\text{NH}_4^+ + \text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ ) durante la incubación. BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: La Mucuy, maíz.

### **Periodo 7-21 días**

En las Tablas 3.2 y 3.3 se muestran los resultados de los ensayos de nitrificación relativa y absoluta entre los días 7 y 21. Se puede observar que, excepto La Mucuy-selva, todos los suelos mostraron valores positivos de nitrificación. Se observa que los suelos de páramo natural fueron, entre todos los ecosistemas naturales, los que claramente presentaron valores positivos de nitrificación (absoluta y relativa). En la conversión de páramo a cultivo de papa (Tabla 3.2.B) mientras en Los Bahitos-papa no se apreciaron cambios de consideración, en Los Pozos-papa ambas medidas de nitrificación presentaron un considerable aumento. De todos los suelos estudiados en todos los periodos de incubación, los suelos de Los Pozos- papa mostraron los máximos valores de nitrificación.

En los suelos de bosques, con la conversión se observó (Figura 3.2.C) una tendencia similar al del periodo de incubación anteriormente comentado (0-7 días), y es que en Cacute, con la conversión, hubo más nitrificación relativa ( $p < 0,05$ ) que en los suelos de bosque natural, tanto en el cultivo de maíz como en el potrero (7-10%). En La Mucuy, los suelos cultivados con maíz también mostraron una mayor tasa de nitrificación que en los suelos no intervenidos, aunque de menor magnitud y, en todo caso, no significativo.

### **Periodo 0-21 días**

En las Tablas 3.2 y 3.3 se presentan los resultados de la nitrificación relativa y absoluta entre el tiempo cero y 21 días de incubación y en la Tabla 3.2.A vemos, que después de 3 semanas de incubación, los suelos de ecosistemas naturales, bosques y páramo, presentaron tasas de nitrificación muy bajas, que oscilaron entre  $0,12 \pm 0,3\%$  y  $1,8 \pm 0,7\%$ , en los suelos cultivados con papa (Figura 3.2.B) las tasas de nitrificación fueron negativas, mientras que en los suelos cultivados de Cacute (maíz y potrero) mostraron los mayores valores ( $p < 0,05$ ) de nitrificación. La nitrificación absoluta (Tabla 3.3) muestra, en general, las mismas tendencias que la nitrificación neta.

### **Variación del nitrógeno inorgánico en el tiempo (mineralización neta).**

La Figura 3.4 muestra los resultados de la mineralización neta de nitrógeno para los diferentes tiempos de incubación. Entre los ecosistemas naturales (Figura 3.4.A) los bosques (CB, MS) fueron los que mostraron tasas superiores ( $p < 0,05$ ) de mineralización entre 0-7 días y 0-21 días. En los bosques, además, se observa que mientras en CB, la mayor actividad mineralizadora tiene lugar los primeros 7 días de incubación, en MS un poco más del 50 % de esta actividad ocurre los primeros siete días y el resto entre 7-21 días.

**Tabla 3.3.** Nitrificación absoluta ocurrida entre 0 y 7 días, 7 y 21 días, 0 y 21 días de incubación. Los valores indican la diferencia de mg N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) entre los tiempos. Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05).

	0-7 días	7-21 días	0-21 días
<b>A. Páramos y bosques</b>			
Los Bahitos, páramo	-3,13±1,91(a)	7,00±0,51(a)	3,87±1,74(a)
Los Pozos, páramo	-1,95±0,16(a,c)	3,17±0,62(b)	1,21±0,76(a)
Cacute, bosque	2,67±1,32(b)	0,27±3,42(b)	2,93±2,10(a)
La Mucuy, selva	0,99±1,50(b,c)	-0,40±0,16(b)	0,58±1,34(a)
<b>B. Páramos y papa</b>			
Los Bahitos, páramo	-3,13±1,91(a)	7,00±0,51(a)	3,87±1,74(a)
Los Bahitos, papa	-12,30±3,87(a)	9,10±1,26(a)	-10,39±2,61(b)
Los Pozos, páramo	-1,95±0,16(a)	3,17±0,62(b)	1,21±0,76(a)
Los Pozos, papa	-38,11±21,50(b)	36,83±8,17(c)	-11,04±6,26(b)
<b>C. Bosques y cultivos</b>			
Cacute, bosque	2,67±1,32(a)	0,27±3,42(a)	2,93±2,10(a)
Cacute, maíz	7,19±0,37(b)	22,89±1,98(b)	30,08±1,82(b)
Cacute, potrero	9,37±1,66(b)	23,48±8,96(b)	32,84±8,22(b)
La Mucuy, selva	0,99±1,50(a)	-0,40±0,16(a)	0,58±1,34(a)
La Mucuy, maíz	2,86±0,41(a)	7,27±2,60(a)	10,13± 2,95(a)
<b>D. Cultivos</b>			
Los Bahitos, papa	-12,30±3,8(a)	9,10±1,26(a)	-10,39±2,61(a)
Los Pozos, papa	-38,11±21,5(b)	36,83±8,17(b)	-11,04±6,26(a)
Cacute, maíz	7,19±0,37(a)	22,89±1,98(a,b)	30,08±1,82(b)
Cacute, potrero	9,37±1,66(a)	23,48±8,96(a,b)	32,84±8,22(b)
La Mucuy, maíz	2,86±0,41(c)	7,27±2,60(a)	10,12±2,95(c)

Con la conversión de páramo a cultivo de papa (Figura 3.4.B) Los Bahitos (BF, BP) no muestra cambio alguno en cuanto a las tasas de mineralización del N, mientras que en los Pozos (PF, PP) la mineralización se vuelve negativa, es decir, los valores de N mineral disminuyen en el transcurso de la incubación.

En los cultivos asociados a los bosques (Figura 3.4.C), la variación de N-mineral en los dos cultivos de maíz es prácticamente idéntica, evidenciándose una disminución importante en la tasa de mineralización respecto a la de los suelos de bosques sin intervenir. En el potrero de Cacute, (CP), el suelo conserva cierta capacidad mineralizadora (50% menos que su ecosistema natural, el bosque siempreverde) pero sólo entre 0-7 días, siendo de todos los suelos de cultivo el que mayor tasa de mineralización (0-7 días) presenta (Figura 3.4.D).

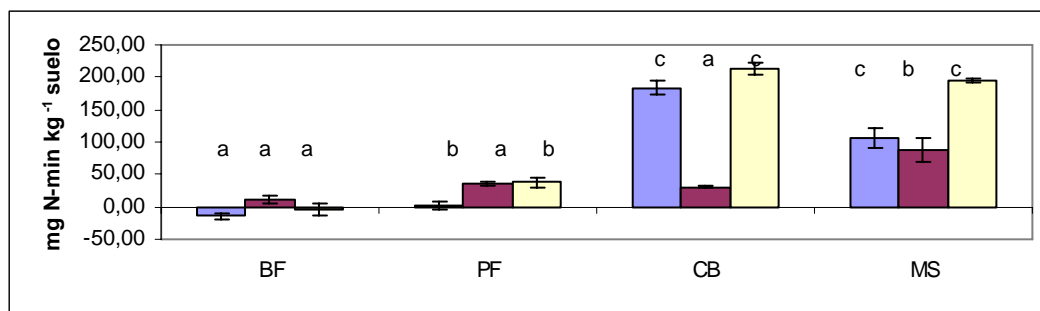
### **Análisis de correlación**

En la Tabla 3.4 se presentan los coeficientes ( $r$ ) de correlación de Spearman entre las propiedades abióticas de los suelos y las variables de nitrificación y mineralización. En ella observamos que la tasa de nitrificación neta entre 7-21 días, periodo en el que asumimos que el sistema suelo ya ha logrado estabilizarse producto de la rehidratación y reactivación de la biomasa microbiana, muestra una correlación positiva débil con arcilla ( $p < 0,05$ ), limo ( $p < 0,05$ ); positiva moderada con pH ( $p < 0,01$ ), fósforo disponible ( $p < 0,01$ ), calcio ( $p < 0,001$ ), sodio ( $p < 0,01$ ); negativa muy débil con N amo ( $p < 0,05$ ); negativa moderada con arena ( $p < 0,01$ ), C/P ( $p < 0,01$ ) y aluminio ( $p < 0,001$ ).

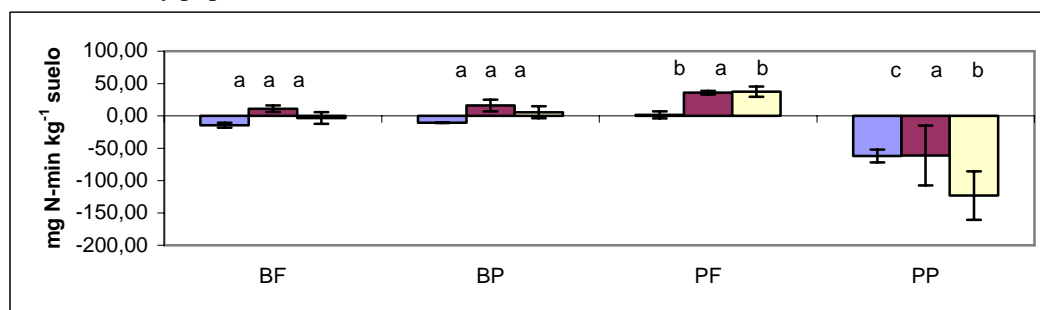
La tasa de mineralización neta entre 7-21 días por su parte presenta una correlación positiva débil con N amo ( $p < 0,05$ ); positiva moderada con C/P ( $p < 0,001$ ) y aluminio ( $p < 0,001$ ); negativa débil con pH ( $p < 0,05$ ); negativa moderada con fósforo ( $p < 0,001$ ), calcio ( $p < 0,01$ ).

En la Tabla 3.5 se muestran los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables de nitrificación y mineralización y en ella se puede ver que las tasas de nitrificación y mineralización ocurridas los primeros 7 días (N0 y M0) están positiva y fuertemente relacionadas con las de 0-21 días (M0 y M21), indicando esto el peso que tiene en las tasas globales (0-21 días) los valores de nitrificación o mineralización correspondientes a los primeros 7 días de incubación.

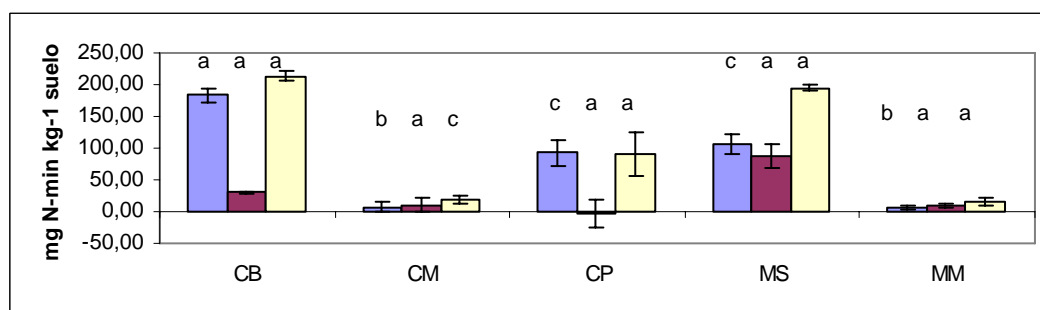
**A. Páramos y bosques**



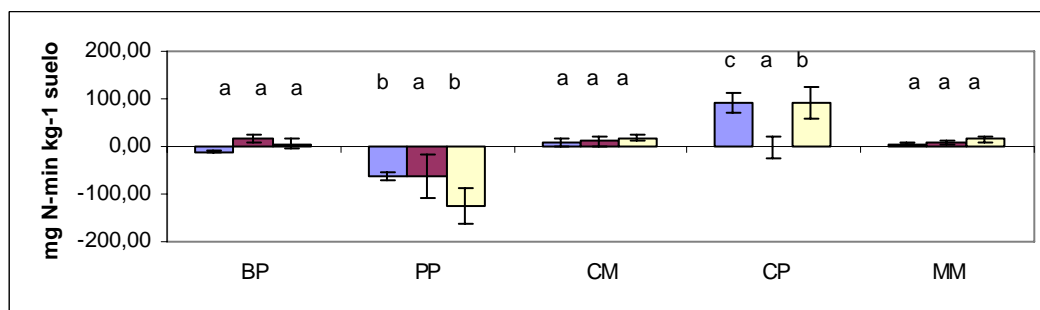
**B. Páramos y papa**



**C. Bosques y cultivos asociados**



**D. Cultivos**



0-7 días      7-21 días      0-21 días

**Figura 3.4.** Variación en el N-inorgánico entre los diferentes tiempos de incubación. Las barras representan los valores de desviación típica. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los suelos para un mismo periodo de incubación. BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: La Mucuy, maíz.

**Tabla 3.4.** Correlación (Spearman) entre las variables del suelo y los valores de nitrificación y mineralización.

	<b>N0</b>	<b>N7</b>	<b>N21</b>	<b>M0</b>	<b>M7</b>	<b>M21</b>
<b>A</b>	0,11	-0,50	0,045	0,37	0,32	0,31
<b>A</b>	-0,40*	0,41*	-0,18	-0,67***	-0,33	-0,62***
<b>L</b>	0,06	0,41*	-0,04	-0,056	-0,22	0,02
<b>pH</b>	0,06	0,59**	0,02	-0,034	-0,46*	-0,11
<b>CE</b>	-0,12	0,20	-0,35	0,11	-0,26	0,03
<b>CC</b>	-0,01	-0,13	-0,24	0,43*	0,18	0,49**
<b>C</b>	-0,05	-0,25	-0,27	0,47*	0,33	0,55**
<b>N<sub>t</sub></b>	0,07	-0,21	-0,19	0,52**	0,33	0,60***
<b>N<sub>amo</sub></b>	-0,11	-0,45*	-0,46*	0,44*	0,40*	0,54**
<b>N<sub>nitro</sub></b>	-0,85***	0,15	-0,68***	-0,80***	-0,21	-0,70***
<b>N<sub>inorg</sub></b>	-0,52**	-0,21	-0,73***	-0,02	0,13	0,10
<b>%N<sub>nitro</sub></b>	-0,77***	0,28	-0,55**	-0,86***	-0,36	-0,81***
<b>C/N</b>	-0,57**	0,01	-0,30	-0,35	-0,01	-0,23
<b>C/P</b>	0,15	-0,50**	-0,08	0,55**	0,62***	0,65***
<b>P</b>	-0,31	0,53**	-0,08	-0,56**	-0,67***	-0,63***
<b>Ca</b>	0,31	0,62***	0,18	0,13	-0,51**	0,02
<b>Mg</b>	0,42	0,17	0,12	0,56**	-0,07	0,52**
<b>Na</b>	0,29	0,50**	0,11	0,12	-0,28	0,06
<b>K</b>	-0,093	0,36	-0,24	0,00	-0,31	0,02
<b>CIC</b>	-0,03	-0,05	-0,28	0,36	0,16	0,43*
<b>Al</b>	-0,27	-0,60***	-0,21	-0,06	0,62***	0,09

a: arena; L: limo; A: arcilla; pH: pH; CE: conductividad eléctrica; CC: capacidad de campo; C: Carbono; N<sub>t</sub>: N total; N<sub>amo</sub>: N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; N<sub>inorg</sub>: N inorgánico; N<sub>nitro</sub>: N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>); %N<sub>nitro</sub>: % de N nítrico; C/N: relación carbono:nitrógeno; C/P: relación carbono:fósforo; CIC: capacidad de intercambio catiónico.

N0: Nitrificación neta 0-7 días; N7: Nitrificación neta 7-21 días; N21: Nitrificación neta 0-21 días;

M0: Mineralización neta 0-7 días; M7: Mineralización neta 7-21 días; M21: Mineralización 0-21 días.

\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

**Tabla 3.5.** Correlación (Spearman) entre los valores de nitrificación y mineralización

	<b>N0</b>	<b>N7</b>	<b>N21</b>	<b>M0</b>	<b>M7</b>	<b>M21</b>
<b>N0</b>	-	0,07	0,87***	0,69***	0,04	0,55**
<b>N7</b>	0,07	-	0,26	-0,43*	-0,75***	-0,53**
<b>N21</b>	0,87***	0,26	-	0,41*	-0,14	0,24
<b>M0</b>	0,69***	-0,43*	0,41*	-	0,49*	0,94***
<b>M7</b>	0,04	-0,75***	-0,15	0,49*	-	0,67***
<b>M21</b>	0,55**	-0,53**	0,24	0,94***	0,67***	-

N0: Nitrificación neta 0-7 días; N7: Nitrificación neta 7-21 días; N21: Nitrificación neta 0-21 días; M0: Mineralización neta 0-7 días; M7: Mineralización neta 7-21 días; M21: Mineralización 0-21 días.

\* p<0,05; \*\* p<0,01; \*\*\*p<0,001

### 3.4. Discusión

Al comparar los contenidos de N amoniacal de las muestras de páramo natural (BF y PF) con los reportados por otros autores vemos que nuestros valores (media=  $9,99 \pm 2,47$  mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) son ligeramente inferiores a los reportados por Aranguren y Monasterio (1997) en el páramo de Gavidia en suelos de parcelas con 12 años de sucesión, y superiores a los  $2,74 \pm 1,58$  mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> encontrados por Jaimes (2000) en el páramo de Santa Cruz en Colombia en parcelas con más de 20 años de sucesión, y a los  $1,38 \pm 1,06$  mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> en Llambí y Sarmiento (1998) en el páramo no intervenido de Gavidia o a los  $2,8 \pm 0,4$  mg N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> de suelo con 15 años de descanso también en el páramo de Gavidia (Sarmiento y Bottner, 2002).

El N-nítrico por su lado, que en nuestro estudio en suelos de páramo lo encontramos en promedio de  $3,09 \pm 1,61$  mg kg<sup>-1</sup> se encuentran por debajo de los 10,58 reportados por Aranguren y Monasterio (1997) en parcelas con más de 12 años de sucesión y similares a los de Sarmiento y Bottner (2002) y Llambí y Sarmiento (1998) en parcelas con 15 años de descanso y de páramo no intervenido en Gavidia.

En relación a los cultivos de papa estudiados en este trabajo, vemos que aunque en ambos cultivos (BP, PP) los niveles de N-mineral son similares, en BP el N amoniacal supera al N nítrico mientras que en PP ocurre lo contrario. También hay que resaltar la amplia variabilidad de los valores de N amoniacal en PP posiblemente debido a la heterogeneidad espacial de las parcelas estudiadas y de la aplicación de fertilizante. En general los niveles de N nítrico en PP son bastantes altos en comparación con otros suelos usados para el cultivo de papa estudiados por otros autores en la zona del páramo (Aranguren y Monasterio, 1997; Sarmiento y Bottner, 2002; Llambí y Sarmiento, 1998). Estos suelos (PP) son los que en el presente estudio muestran las más altas tasas de nitrificación, de 30% (Figura 6.6.B) lo cual explicaría los altos valores de nitratos en estos suelos. Estas tasas de nitrificación serían resultado de condiciones más favorables para el desarrollo y actividad de los microorganismos nitrificantes como es el pH de  $6,2 \pm 0,3$  de estos suelos (Alexander, 1976; Nugroho *et al.*, 2007; Aciego y Brookes, 2008). Esto último está apoyando por la correlación positiva (Tabla 3.4) entre el pH y la nitrificación neta entre 7 y 21 días. También la fertilización de estos suelos cultivados pudo estimular el aumento de las poblaciones de microorganismos nitrificantes, tal y como ha sido reportado por otros autores (Nugroho, 2007). Aún así, la tasa de nitrificación, 30% en 14 días, resulta muy baja en comparación con los resultados de otros estudios, como el de Machado (2005) en suelos de Mistequé en el estado Mérida, que reporta 98% de nitrificación, también en 14 días, aunque en suelos con pH de 6,64, lo cual pudo haber favorecido una mayor tasa de nitrificación.

Durante la incubación de los suelos de páramo, natural o cultivado, los primeros siete días tiene lugar una disminución en el contenido de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> lo que da como resultado valores negativos de

nitrificación. Dado que las condiciones experimentales para llevar a cabo este ensayo cuidaron de preservar la aerobiosis con el fin de evitar pérdidas de N por desnitrificación anaeróbica, la disminución observada pudo ser consecuencia de la asimilación (inmovilización) por la biomasa microbiana para la síntesis de moléculas orgánicas nitrogenadas, necesarias en la recuperación de las poblaciones que habían permanecido en estado de latencia como consecuencia del secado al aire de los suelos y que con la rehidratación a que se sometieron, fueron reactivadas y tuvieron que satisfacer sus demandas de nutrientes (C y N, entre otros) para volver a repoblar el suelo. A pesar de la existencia del amonio agregado al suelo al inicio de la incubación, que podríamos considerar potencialmente utilizable por los microorganismos para satisfacer tales demandas, algunos estudios indican que en ocasiones las poblaciones microbianas prefieren utilizar el nitrato y no el amonio para sintetizar sus macromoléculas nitrogenadas (Bengtson y Bengtsson, 2005), además hay que considerar que hay bacterias, como las aeróbicas del ciclo del azufre, que utilizan el nitrato no sólo como fuente de nitrógeno sino también como fuente de oxígeno. En efecto, Bengtson y Bengtsson (2005) estudian la influencia que tiene la tasa de crecimiento microbiano sobre la remineralización del N celular así como la influencia de diferentes concentraciones de  $\text{NH}_4^+$  extracelular sobre la inmovilización de  $\text{NO}_3^-$  y concluyen que, aunque generalmente se considera que los microorganismos heterótrofos prefieren el amonio como fuente de nitrógeno y que sólo inmovilizan  $\text{NO}_3^-$  bajo condiciones limitantes de nitrógeno sus resultados apuntan en otra dirección y señalan que algunos microorganismos expresan en este aspecto cierta plasticidad fenotípica que les permite inmovilizar nitrato aún cuando el amonio esté en elevadas concentraciones en el medio. De todas formas, en nuestro caso los valores negativos de nitrificación sólo indican que no hubo nitrificación neta los primeros 7 días; pudo haber ocurrido oxidación del amonio y generación de nitrato pero insuficiente para compensar el nitrato consumido de tal manera que no llegó a acumularse en cantidades detectables.

Los siguientes días de incubación muestran nitrificación neta positiva pero al hacer el balance total (0-21 días) el resultado sigue siendo negativo (para ambos cultivos de papa) dado que los valores negativos que toma esta variable los primeros 7 días tiene mucho peso en el balance final. De hecho existe una correlación fuertemente positiva ( $r = 0,87$ ;  $p < 0,001$ ) entre la nitrificación neta 0-7 días y nitrificación neta 0-21 días. Hay que tener en cuenta que es muy difícil interpretar si lo que ocurre los primeros siete días de incubación refleja realmente la dinámica del N en el experimento o si los resultados están enmascarados por los procesos involucrados en la reactivación de la biomasa microbiana que ha permanecido en estado de latencia durante un largo tiempo en los suelos secos. Tal vez sería más sensato considerar los datos emanados durante el lapso de 7 a 21 días como los más representativos de la dinámica del nitrógeno. En este sentido, diversas opiniones existen. Se ha sugerido que los datos del N mineralizado durante los primeros 7 a 14 días deben ser descartados debido a la

fuerte y variable influencia del pretratamiento sobre las cantidades de N mineralizados en este periodo mientras que otras opiniones indican que el patrón de mineralización durante las primeras semanas de incubación pueden ser críticas para conocer la disponibilidad del N en el suelo y por lo tanto deben ser consideradas (Bundy y Meisinger, 1994). Las poblaciones de PP parecen consumir más  $\text{N-NO}_3^-$  que los de BP pero esto puede ser porque en PP había originalmente más nitratos que en BP y también había mayor población microbiana tal y como sugieren los resultados preliminares del Capítulo 5.

Los suelos provenientes de bosques muestran mayores valores de amonio que los de páramo y menores valores de nitratos, lo que implicaría un menor potencial de nitrificación, lo cual coincide con los resultados de la experiencia de nitrificación neta.

Los niveles altos de amonio de los suelos de bosques (MS y CB) serían consecuencia del aporte de esta forma de nitrógeno a través de procesos de amonificación de la materia orgánica del suelo que en estos ecosistemas se encuentran en cantidades relativamente altas, si la comparamos con los suelos de páramo naturales y de cultivos (Capítulo 2). En general los valores de N amoniacal presentes inicialmente en Cacute-bosque y La Mucuy-selva son comparables a los reportados en otros suelos de bosques, tanto tropicales como de zonas templadas (Vernimmen *et al.*, 2007; Nugroho *et al.*, 2005). Los bajos niveles de N nítrico en suelos de bosques son característicos de estos ecosistemas y ha sido atribuido a bajas tasas de nitrificación (Nugroho *et al.*, 2005; Bengtsson *et al.*, 2003). Diversos factores pueden afectar la nitrificación en los suelos, tales como el pH, la humedad, temperatura, la relación C:N, la presencia de sustancias alelopáticas de origen vegetal, la carencia de fósforo, el contenido de ATP (Bengtsson *et al.*, 2003; Nugroho *et al.*, 2005; Vernimmen *et al.*, 2007; Alexander, 1977; Paul y Clark, 1989). En los suelos de La Mucuy-selva con un pH tan bajo como  $4,6 \pm 0,1$ , probablemente se vea inhibida la nitrificación, lo que daría cuenta de la acumulación de nitrógeno amoniacal.

En los suelos de bosques, las tasas de mineralización neta del N son relativamente elevadas y esto se refleja en las variaciones de N-mineral a lo largo de la incubación, pero sobre todo los primeros siete días. En estos ecosistemas, la amonificación resulta ser el principal proceso asociado en la mineralización mientras que la nitrificación contribuye escasamente a este proceso. Otros procesos que pueden contribuir a la mineralización y en particular a la amonificación son la depredación por organismos bacterívoros (protozoarios y nematodos) y el estrés por secado y rehidratación. Durante mucho tiempo ha sido estudiado el efecto que el secado y rehidratación de los suelos tiene sobre la biomasa microbiana y los procesos en los que participa. Se sabe que el secado de los suelos es causa de la muerte de los microorganismos que no están adaptados a situaciones de alta tensión de oxígeno y que además incrementa la disponibilidad de nutrientes para los microorganismos supervivientes (Mondini *et al.*, 2002). El secado y la posterior rehidratación de los suelos puede reducir significativamente el

tamaño de la biomasa microbiana y puede además incrementar las concentraciones del nitrógeno orgánico e inorgánico disuelto en la solución del suelo (Miller *et al.*, 2005; Gordon *et al.*, 2008). En suelos secados al aire aproximadamente el 55% del N mineralizado después de rehidratar el suelo proviene de la biomasa microbiana muerta (Marumoto *et al.*, 1982). Los ciclos de secado y rehidratación estimulan los procesos de descomposición de la materia orgánica del suelo debido a que más sustratos orgánicos susceptibles de descomposición quedan a disposición del ataque microbiano después del secado y la rehidratación (Denef *et al.*, 2001; Fierer y Schimel, 2002). Estos sustratos orgánicos provienen, en parte, de la microbiota muerta como consecuencia del secado y también de la liberación de compuestos orgánicos ocluidos en los agregados y que por lo tanto no se encontraban accesibles a los microorganismos (Denef *et al.*, 2001). En nuestros análisis, no todos los suelos muestran este proceso de mineralización con importantes aportes de N amoniacal a lo largo de la incubación. Los suelos de Cacute-bosque (CB), Mucuy-selva (MS) y en menor medida Cacute-potrero (CP) son los que amonifican a lo largo de la incubación. Son también los que muestran mayor contenido de carbono y de N-amoniaco inicial y podrían tener mayores contenidos de materia orgánica susceptible de ser mineralizada hasta amonio, que se acumularía al no poder ser nitrificado debido a un bajo pH o por la presencia de sustancias alelopáticas inhibitorias de la nitrificación. También podría estar ocurriendo que en los suelos de bosques, ricos en materia orgánica, existan cantidades importantes de nitrógeno orgánico (aminoácidos) que las poblaciones microbianas asimilan como fuente de nitrógeno y que el amonio acumulado es un subproducto de la mineralización del carbono.

Algunos autores han reportado la importancia del fósforo, además de la disponibilidad de carbono y nitrógeno en la respuesta que los microorganismos tengan entre los dos procesos opuestos: mineralización o inmovilización del N (Qiu *et al.*, 2008). En nuestro análisis de correlaciones encontramos que la mineralización neta (7-21) se correlaciona positivamente con la relación C/P y negativamente con el P pero desconocemos exactamente de qué manera el P podría estar afectando negativamente la mineralización.

En el potrero de Cacute (CP), en donde encontramos inicialmente cantidades de N amoniacal intermedias entre el bosque y el cultivo de maíz, también se encontraron en los primeros 7 días de incubación tasas de mineralización comparables a las de MS lo cual puede estar motivado en el pastoreo, que sabemos puede afectar la movilidad del nitrógeno en el sistema suelo-planta y retornar en buena parte al suelo en la forma de heces y orina y estimular la mineralización del nitrógeno (Han *et al.*, 2008). Por otra parte en CP, se observan tasas de nitrificación comparables a la de los cultivos de maíz pero muy inferiores a las de PP. El pH de  $5,3 \pm 0,05$  del potrero no debió favorecer el proceso de nitrificación al igual que en los cultivos de maíz.

La depredación por protozoos es otro de los mecanismos que ha sido relacionado con el ciclo de nutrientes en los suelos. Estos organismos durante mucho tiempo no fueron considerados como una parte muy importante de la biomasa microbiana de los suelos, sin embargo recientemente están recibiendo mucha más atención por su papel en regular las poblaciones microbianas y los procesos que tienen lugar en el suelo (Alexander, 1977; Clarholm, 2005). Muchos de estos organismos se alimentan fundamentalmente de bacterias y de esta manera son capaces de regular el tamaño de sus poblaciones y de mantener las comunidades microbianas fisiológicamente jóvenes y de esta manera mucho más eficientes en las labores de descomposición de residuos (Paul y Clark, 1989). Dos papeles importantes en la dinámica del suelo han sido atribuidos a los protozoos: afectan la estructura de las comunidades microbianas y estimulan el ciclo de nutrientes (Bryant *et al.*, 1982; Clarholm, 2002). En experimentos con microcosmos se ha determinado que después de la rehidratación de suelos secos la depredación por protozoarios trae consigo la estimulación en la mineralización del nitrógeno (Kuikman *et al.*, 1989; Uikman *et al.*, 1991). Los protozoos poseen mecanismos que le permiten sobrevivir eventos de secado y rehidratación por lo que han sido señalados como corresponsables del aumento en la mineralización del nitrógeno en suelos que son rehidratados después de haber sido secados al aire (Kuikman, 1989). Pero no podemos inferir de nuestros resultados cual sería la contribución, en caso de haberla, de los protozoos en la acumulación de N-amoniaco a lo largo de la incubación aunque tampoco la descartamos plenamente.

### 3.5. Conclusiones

Los resultados de este trabajo dan dos tipos de información. Por una parte los resultados del estatus original de las diferentes formas de nitrógeno, son la imagen de cómo estaba el sistema en el momento que se tomaron las muestras y son el resultado de los procesos naturales o de origen antrópico a que estuvieron sometidos los suelos durante un determinado periodo. En los ecosistemas naturales ese periodo puede extenderse por décadas o siglos. En los cultivos se remontan hasta por lo menos la fecha del inicio del cultivo. Los demás resultados nos dicen cómo respondieron los suelos al tratamiento de rehidratación e incubación. De ellos se pueden deducir las siguientes conclusiones:

1) Sobre la base del estatus original de los suelos, en los bosques predomina la amonificación sobre la nitrificación. Los resultados de incubación están acordes con lo dicho, pues a lo largo de la incubación los suelos amonificaron y no se detectó nitrificación neta.

2) La abundante liberación de amonio durante la incubación de los suelos de bosque indicaría la existencia en estos suelos de N orgánico fácilmente mineralizable (fracción activa).

3) La conversión de bosque a cultivos de maíz trajo consigo la disminución en las tasas de mineralización del N, lo que pudo estar motivado por la alteración de la calidad de la materia orgánica y específicamente del N orgánico.

4) Los ecosistemas naturales estudiados muestran características muy contrastantes en lo que a su potencial de mineralización de N se refiere, siendo los bosques los que mayor tasa de mineralización presentan. En cuanto a la nitrificación neta y tomando en consideración el lapso de 7-21 días, los suelos de bosques no nitrifican y los de páramo natural nitrifican poco.

5) En la conversión de páramo a cultivo de papa, los suelos respondieron de manera bien distinta en lo que a la nitrificación 7-21 días respecta. En Los Pozos, los suelos bajo cultivo de papa nitrifican mucho más que Los Bahitos y esto posiblemente esté asociado a un manejo más intensivo de este cultivo, que incluye fertilización y encalado (aumento del pH).

### 3.6. Referencias bibliográficas

- Aciego JC y Brookes PC (2008). Nitrogen mineralization along a pH gradient of a silty loam UK soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 797-802.
- Alexander M (1977). Introduction to soil microbiology. Second edition. Wiley & Sons. New York.
- Aranguren A y Monasterio M (1997). Aspectos de la dinámica del nitrógeno de parcelas con diferentes tiempos de descanso en el páramo de Gavidia (Andes venezolanos). En M Liberman y C Baied (eds.). *Desarrollo sostenible de ecosistemas de montaña: manejo de áreas frágiles en los Andes*. UNU, pp. 171-179.
- Beauchamp EG y Hume DJ (1997). Agricultural soil manipulation: the use of bacteria, manuring, and plowing. En JD van Elsas, JT Trevors y EMH Wellington. *Modern soil microbiology* (eds.). Marcel Dekker, Inc, pp. 643-664.
- Bengtsson C, Bengtson P y Mansoon KF (2003). Gross nitrogen mineralization-, immobilization-, and nitrification rates as a function of soil C/N ratio and microbial activity. *Soil Biology & Biochemistry*. 35: 143-154
- Bengtson P y Bengtsson C (2005). Bacterial immobilization and remineralization of N at different growth rates and N concentration. *FEMS Microbiology Ecology*. 54: 13-19.
- Bock E y Wagner M (2002). Oxidation of inorganic nitrogen compounds as an energy source. En: *The Prokaryotes: An Evolving Electronic Resource for the Microbiological Community*. <http://link.springer-ny.com/link/service/books/10125/>.
- Bryant RJ, Woods LE, Coleman DC, Fairbanks BC, McClellan JF y Cole CV (1982) Interactions of bacterial and amoebal populations in soil microcosms with fluctuating moisture content. *Applied and Environmental Microbiology*. 43: 747-752.
- Bundy LG y Meisinger JJ (1994). Nitrogen Availability Indices. En RW Waver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds.) *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin, EEUU, pp. 951-984.
- Burton SAQ y Prosser JI (2001). Autotrophic ammonia oxidation at low pH through urea hydrolysis. *Applied and Environmental Microbiology*. 67: 2952-2957.
- Coyne M (2000). Microbiología del Suelo: Un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo. Madrid. España.
- Clarholm M (2002). Bacteria and protozoa as integral components of the forest ecosystem- their role in creating a natural varied soil fertility. *Antonie van Leeuwenhoek*. 81: 309-318.

- Clarholm M (2005). Soil protozoa: an under-researched microbial group gaining momentum. *Soil Biology & Biochemistry*. 37: 811-817.
- Denef K, Six J, Bossuyt H, Frey SD, Elliot ET, Merckx R y Paustian K (2001). Influence of dry-wt cycles on the interrelationships between aggregate, particulate organic matter, and microbial community dynamics. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1599-1611.
- Fierer N y Schimel J (2002). Effects of drying-rewetting frequency on soil carbon and nitrogen transformations. *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 777-787.
- Gordon H, Haygarth P y Bardgett R (2008). Drying and rewetting effects on soil microbial community composition and nutrient leaching. *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 302-311.
- Han G, Hao X, Zhao M, Wang M, Ellert BH, Willms W y Wang M (2008). Effect of grazing intensity on carbon and nitrogen in soil and vegetation in a meadow steppe in Inner Mongolia. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 125: 21-32.
- Hart SC, Stark JM, Davidson EA y Firestone MK (1994). Nitrogen mineralization, immobilization, and nitrification. En RW Waver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds.) *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin, EEUU, pp. 985-1018.
- Islam A, Chen D y White RE (2007). Heterotrophic and autotrophic nitrification in two acid pasture soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 39: 972-975.
- Jaimes V (2000). *Estudio ecológico de una sucesión secundaria y recuperación de la fertilidad en un ecosistema de páramo*. Tesis de Maestría. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.
- Kandeler E (1996). Potencial Nitrificación. En F Schiner, R. Ohlinger, E. Kandeler y R. Margesin (eds.) *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag. Berlin, Alemania, pp. 146-161.
- Kuikman PJ, Van Vuure MMI y Van Veen JA (1989). Effect of soil moisture regime on predation by protozoa of bacterial biomass and the release of bacterial nitrogen. *Agriculture Ecosystems & Environment*. 27(1-4): 271-279.
- Lebedeva EV, Mashal A, Friencke C, Namsaraev B, Bock E y Spieck E (2005). Moderately thermophilic nitrifying bacteria from a hot spring of the Baikal rift zone. *FEMS Microbiology Ecology*. 54: 297-306.
- Lipponen MTT, Martikainen PJ, Vasara RE, Servomaa K, Zacheus O y Kontro MH (2004). Occurrence of nitrifiers and diversity of ammonia-oxidizing bacteria in developing drinking water biofilms. *Water Research*. 38: 4424-4434.
- Llambí LD y Sarmiento L (1998). Biomasa microbiana y otros parámetros edáficos en una sucesión secundaria de los páramos venezolanos. *Ecotrópicos*. 11(1): 1-14.

- Machado D (2005). *Un enfoque agroecosistémico para el manejo eficiente del suministro de nitrógeno en el cultivo de papa en los Andes venezolanos*. Tesis Doctoral. Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 257 p.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J (2004). Brock, Biología de los microorganismos. Décima edición. Pearson Educación, S.A., Madrid.
- Marumoto T, Anderson JPE y Domsch KH (1982). Mineralization of nutrients from soil microbial biomass. *Soil Biological & Biochemistry*. 14: 469-475.
- Matson P, McDowell W, Townsend A y Vitousek PM (1999). The globalization of N deposition: ecosystem consequences in tropical environments. *Biogeochemistry*. 46: 67-83.
- Miller AE, Schimel JP, Meixner T, Sickman JO y Melack JM (2005). Episodic rewetting enhances carbon and nitrogen release from chaparral soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 37: 2195-2204.
- Mondini C, Contin M, Leita L y De Nobili M (2002). Response of microbial biomass to air-drying and rewetting in soils and compost. *Geoderma*. 105: 111-124.
- Nugroho RA, Röling WFM, Laverman AM, Zoomer HR, Verhoef HA (2005). Presence of *Nitrosospira* cluster 2 bacteria corresponds to N transformation rates in nine acid Scots pine forest soils. *FEMS Microbiology Ecology*. 53: 473-481.
- Nugroho RA, Röling WFM, Laverman AM, Verhoef HA (2007). Low nitrification rates in acid scots pine forest soils are due to pH-related factors. *Microbial Ecology*. 53: 89-97.
- Paul EA y Clark FE (1989). *Soil Microbiology & Biochemistry*. Academic Press. San Diego, EEUU.
- Porta J, López M y Roquero C (1999). Edafología para la agricultura y el medio ambiente. 2ª Edición. Ediciones Mundi-Prensa. España.
- Qiu S, McComb AJ, Bell RW (2008). Ratios of C, N and P in soil water direct microbial immobilisation-mineralisation and N availability in nutrient amended sandy soils in southwestern Australia. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 127: 93-99.
- Sarmiento L y Bottner P (2002). Carbon and nitrogen dynamics in two soils with different fallow times in the high tropical Andes: indications for fertility restoration. *Applied Soil Ecology*. 19: 79-89.
- Socolow RH (1999). Nitrogen management and the future of food: Lessons from the management of energy and carbon. *Proceeding of National Academy of Science*. 96: 6001-6008.
- Sorokin D, Tourova T, Schmid MC, Wagner M, Koops HP, Kuenen JG y Jetten M (2001). Isolation and properties of obligatory chemolithoautotrophic and extremely alkali-tolerant ammonia-oxidizing bacteria from Mongolian soda lakes. *Archives of Microbiology*. 176: 170-177.
- Suzuki I, Dular U y Kwok SC (1974). Ammonia or ammonium ion as substrate for oxidation by *Nitrosomonas europaea* cells and extracts. *Journal of Bacteriology*. 120 (1): 556-558.

- Schmidt I, Sliemers O, Schmid M, Cirpus I, Strous M, Bock E, Kuenen JG y Jetten MSM (2002). Aerobic and anaerobic ammonia oxidizing bacteria-competitors or natural partners?. *FEMS Microbiology Ecology*. 39: 175-181.
- Uikman PJK, Jansen AG y Van Veen J (1991).  $^{15}\text{N}$ -Nitrogen mineralization from bacteria by protozoan grazing at different soil moisture regimes. *Soil Biology & Biochemistry*. 23(2): 193-200.
- Vernimmen RRE, Verhoef HA, Verstraten JM, Bruijnzeel LA, Klomp NS, Zoomer HR y Wartenbergh PE (2007). Nitrogen mineralization, nitrification and denitrification potencial in contrasting lowland rain forest types in Central Kalimantan, Indonesia. *Soil Biology & Biochemistry*. 39: 2992-3003.

## CAPÍTULO 4

### DIVERSIDAD FUNCIONAL MICROBIANA

**Resumen:** Se estudiaron suelos de páramo, bosque siempreverde y selva nublada, así como de sus cultivos asociados, papa, maíz y potrero. Se determinó la capacidad de la microbiota para degradar 28 sustratos carbonados, 22 de ellos utilizados en el sistema Biolog Ecoplate™ y 6 en Biolog GN™. Se determinaron el índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ), el de uniformidad ( $E$ ) y el porcentaje de degradación de los sustratos carbonados después que los suelos secos se reactivaron con inóculos de suelo fresco y se incubaron por 1 y 2 semanas. Las lecturas fueron hechas 3 y 7 días después de haber inoculados los sustratos con suspensiones de suelo. Los índices de diversidad mostraron variaciones en función del tiempo de incubación de los suelos como del tiempo de incubación de la mezcla suelos-sustratos. En los suelos del páramo de Los Bahitos, la conversión a cultivo de papa, no generó cambios significativos en el índice  $H'$ , mientras que en el páramo de Los Pozos, en 3 de las 4 lecturas,  $H'$  aumentó significativamente ( $p < 0,001$ ) como también aumentó el porcentaje de sustratos degradados. Estos resultados contrastan considerablemente con los reportados por otros autores en suelos sin intervenir y cultivados con papa en el páramo de Gavidia y sugieren la existencia de comunidades microbianas con diferentes características metabólicas. En los suelos de selva nublada la conversión a cultivo de maíz, trajo consigo la disminución ( $p < 0,05$ ) del índice de diversidad  $H'$  y del porcentaje de sustratos degradados en las 4 lecturas que se hicieron, mientras que en el bosque siempre verde  $H'$  disminuyó ( $p < 0,05$ ) en dos de las lecturas mientras que en el resto no hubo diferencias significativas. Con la conversión de bosque siempre verde a potrero, el índice  $H'$  disminuyó ( $p < 0,05$ ) en 3 de las lecturas y aumentó en la restante ( $p < 0,05$ ). Los resultados sugieren que aunque la conversión de ecosistemas naturales a agroecosistemas puede reducir la diversidad funcional microbiana, el manejo del cultivo también puede revertir esta situación y promover el desarrollo de comunidades microbianas con mayor diversidad que el ecosistema sin intervenir. Además, los resultados indican que entre los ecosistemas naturales, el bosque siempreverde y la selva nublada poseen comunidades microbianas con mayor diversidad funcional, mientras que entre los cultivos, en general no parece haber una tendencia clara, a excepción del cultivo de papa de Los Bahitos que en todas las lecturas muestra siempre un valor de  $H'$  menor que el resto de los cultivos.

#### 4.1. Introducción

Los microorganismos del suelo y muy especialmente las bacterias, llevan a cabo diversas actividades fundamentales para los ecosistemas tales como, el ciclado de nutrientes, formación y descomposición de la materia orgánica, formación y mantenimiento de la estructura del suelo, degradación de contaminantes y agroquímicos, promoción del crecimiento vegetal, entre otras (Kennedy, 1999; Pankhurst *et al.*, 1996). Las comunidades microbianas presentan mayor diversidad taxonómica y funcional que los organismos superiores y, desde el punto de vista ecológico, su diversidad funcional es considerada mucho más importante que la taxonómica. La diversidad funcional se entiende como la capacidad que los microorganismos tienen de llevar a cabo actividades como la descomposición de la materia orgánica, el ciclado de nutrientes y otras transformaciones que tienen lugar en el suelo (Kennedy, 1999).

La diversidad funcional microbiana es considerada un índice importante de la salud y calidad del suelo y parte integral de la sustentabilidad a largo plazo de los sistemas agrícolas, debido a que muchas de las actividades que llevan a cabo los microorganismos son claves en procesos que soportan dichos sistemas (Pankhurst *et al.*, 1996). En consecuencia, los cambios en la estructura o en la función de las comunidades microbianas pueden tener un importante impacto en el suelo y el resto del ecosistema y de ahí la importancia del estudio de la diversidad funcional microbiana y de conocer cómo está conectada con el funcionamiento del ecosistema. En general, se considera que la diversidad microbiana tiene un efecto positivo sobre la eficiencia en el ciclado de nutrientes (Torsvik y Øvreås, 2002; Entry *et al.*, 2008) y que en virtud de que los microorganismos poseen tasas de recambio muy altas y responden rápidamente a los cambios en el uso y manejo del suelo, pueden ser considerados excelentes indicadores para el estudio del impacto que la agricultura tiene en la salud del suelo (Entry *et al.*, 2008).

Numerosas técnicas han sido utilizadas para el análisis de la diversidad de las comunidades microbianas en el suelo (Hill *et al.*, 2000). Uno de los métodos para estimar la actividad potencial de las comunidades microbianas es determinando el perfil fisiológico a nivel de comunidades con el sistema Biolog GN™. Este sistema fue diseñado para la identificación de especies bacterianas y originalmente se basaba en la capacidad de las bacterias para metabolizar 95 diferentes sustratos carbonados (Garland y Mills, 1991) y modificado luego con la selección de únicamente 31 fuentes de carbono, más representativas de los sustratos encontrados frecuentemente en el suelo, además de un control (sin sustrato), cada uno con 3 réplicas (Ecoplates™) (Insam, 1997). Estos métodos no dependen del aislamiento de los microorganismos sino que consisten en la preparación de suspensiones de suelo que luego son utilizadas para inocular microplacas de titulación de 96 pozos que contienen los sustratos

carbonados y el indicador de oxidorreducción violeta de tetrazolio (2,5 difenil 3- $\alpha$ -naftil tetrazolium cloruro) que actúa como aceptor final de electrones (siempre y cuando la comunidad microbiana sea capaz de degradar el sustrato carbonado que se está ensayando), y se transforma en formazán, un compuesto insoluble y coloreado, visible a simple vista. Han sido utilizados para determinar, entre otras cosas, la diversidad funcional microbiana de suelos contaminados (Derry *et al.*, 1998; Avidano *et al.*, 2005), la respuesta de la comunidad microbiana al uso del suelo (Bossio *et al.*, 2005; Shishido *et al.*, 2008), el manejo (Crecchio *et al.*, 2004; Qingchao *et al.*, 2004), la diversidad microbiana de suelo rizosférico y no rizosférico (Tam *et al.*, 2001; Singh *et al.*, 2006), a lo largo de un gradiente climático (Staddon *et al.*, 1998), en suelos de bosques y prados (Diz, 2003), en suelos cultivados, en descanso y en el páramo clímax de los Andes tropicales (Gonzales, 2004). Existen excelentes revisiones que analizan a profundidad las ventajas y limitaciones de este método (Garland, 1997; Preston-Mafham *et al.*, 2002).

La diversidad funcional de la comunidad puede ser estimada aplicando diferentes criterios, como por ejemplo calculando, el índice de diversidad de Shannon (Staddon *et al.*, 1998; Derry *et al.*, 1999; Diz, 2003; Gonzales, 2004), el porcentaje de sustratos degradados, el índice de uniformidad (E) de Shannon y de diversidad de Margalef (Diz, 2003; Gonzales, 2004), y el índice de Jaccard (Derry *et al.*, 1999).

El uso de estos sistemas es rápido, reproducible, relativamente de bajo coste, genera una gran cantidad de información, y permite el uso de diferentes fuentes de carbono. Sus desventajas son, que sólo representa la fracción cultivable de la comunidad microbiana, favorece a los microorganismos de crecimiento rápido, sólo representa a aquellos microorganismos capaces de utilizar las fuentes de carbono disponible y es una expresión de la diversidad metabólica potencial y no de la diversidad *in situ* (Kirk *et al.*, 2004). Sin embargo, sigue siendo un método conveniente para comparar las diferentes comunidades microbianas en diferentes suelos (Powlson *et al.*, 2001).

Con el presente trabajo queremos determinar la capacidad de los suelos de los ecosistemas naturales (páramos y bosques) y sus cultivos asociados (papa, maíz y potrero) para degradar 28 sustratos carbonados a fin de determinar: a) el porcentaje de sustratos que son degradados, b) el índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) y el de uniformidad (E), c) el efecto que tiene sobre la diversidad funcional microbiana, la conversión de páramos y bosques en cultivos, d) comparar la diversidad funcional microbiana de páramos, bosques y cultivos.

## 4.2. Material y métodos

Se utilizó el método de estudio de patrones de degradación de fuentes carbonadas desarrollado por Garland y Mills (1991), Kennedy (1994), y modificado por Diz (2003). Para ello se inocularon 20 g de suelo seco con 0,2 ml de una suspensión de suelo fresco, se ajustó el contenido de humedad al 95% de la capacidad de campo y se incubaron a 22 °C y oscuridad. Al cabo de 1 y 2 semanas de incubación se pesó el equivalente a 5 g de suelo seco y se le agregaron 45 ml de H<sub>2</sub>O destilada estéril, se agitó con un magneto durante 15 minutos y se dejó reposar. Se tomaron 2 ml de esta suspensión y se hicieron dos diluciones 1/10 más. De la última dilución se tomaron 50 µl y se inocularon las microplacas que contenían los 28 sustratos carbonados (un sustrato por pozo) indicados en la Tabla 4.1. Se realizaron tres réplicas analíticas de cada una de las réplicas de campo.

Preparación de la suspensión de suelo fresco: Se hizo una suspensión de 10 g de suelo fresco en 90 ml de agua destilada, se agitó por 10 minutos y finalmente se decantó y filtró con papel Whatman N° 1. El filtrado fue utilizado para inocular los suelos secos.

Las microplacas se prepararon repartiendo en cada pozo, 150 µl de medio salino base (MSB) que contenían cada uno de los 28 sustratos carbonados (un sustrato por pozo) y violeta de tetrazolio, al 0,1% y 0,15 mM, respectivamente. El medio MSB contenía K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 1,75 g l<sup>-1</sup>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0,5 g l<sup>-1</sup>, NH<sub>4</sub>Cl 0,582 g l<sup>-1</sup> y MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O 0,25 g l<sup>-1</sup>. Los sustratos carbonados se prepararon en agua al 10% (p/v) y se esterilizaron por filtración (filtro millex-GP, 0,22 µm). De los 28 sustratos carbonados, 22 han sido utilizados en el sistema Biolog GN<sup>TM</sup> y 6 en Biolog Ecoplates<sup>TM</sup>. El pozo control (pozo n° 29) sólo contenía 150 µl medio MSB y violeta de tetrazolio. La capacidad de degradación de los sustratos se evaluó después de 1(I) y 2 (II) semanas de incubación de los suelos a 25 °C y oscuridad y a los 3 (I,3;II,3) y 7 (I,7; II,7) días de inoculadas las placas de microtitulación. Se consideró un resultado positivo, la aparición de color morado (formazán) en el fondo de los pozos.

### Procesamiento de los resultados.

Se calcularon los índices de riqueza, diversidad y uniformidad en los suelos de ecosistemas (selva, bosque y páramo) y agroecosistemas (papa, maíz, potrero). Estos índices han sido aplicados mayoritariamente para estudios ecológicos con comunidades de animales y plantas, sin embargo, también tienen aplicación en el estudio de las comunidades microbianas del suelo. Para tal fin, se deben considerar las siguientes equivalencias:

**Tabla 4.1.** Sustratos carbonados

Clase	Sustrato carbonado	Nomenclatura	Fórmula
<b>Polímeros</b>	Tween 40 (Monopalmitato de sorbitán)	P1	C <sub>36</sub> H <sub>60</sub> O <sub>30</sub>
	Tween 60 (Monoestereato de sorbitan)	P2	
	α-Ciclodextrina	P3	
	Glucógeno	P4	
<b>Carbohidratos</b>	D-(+) Celobiosa	Ch1	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub>
	α-Lactosa	Ch2	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> x H <sub>2</sub> O
	β-Metilglucósido	Ch3	C <sub>7</sub> H <sub>14</sub> O <sub>6</sub>
	D(+) Xilosa	Ch4	C <sub>5</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub>
	i-Eritritol	Ch5	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O <sub>4</sub>
	Maltosa	Ch6	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>11</sub> x H <sub>2</sub> O
	N-Acetil-D-Glucosamina	Ch7	C <sub>8</sub> H <sub>15</sub> NO <sub>6</sub>
	Gliceraldehido	Ch8	C <sub>3</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
<b>Compuesto Fosforilado</b>	α-D-Glucosa-1-P	F1	C <sub>6</sub> H <sub>11</sub> O <sub>6</sub> P
<b>Ácidos Carboxílicos</b>	Ácido D-Galactónico δ-Lactona	AC1	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>6</sub>
	Ácido Galacturónico	AC2	C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> x H <sub>2</sub> O
	Ácido o-Hidroxibenzoico	AC3	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
	Ácido p-Hidroxibenzoico	AC4	C <sub>7</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
	Ácido Malónico	AC5	C <sub>3</sub> H <sub>4</sub> O <sub>4</sub>
	Ácido α-Cetobutírico	AC6	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>3</sub>
	Ácido Málico	AC7	C <sub>4</sub> H <sub>6</sub> O <sub>5</sub>
<b>Aminoácidos</b>	L-Arginina	Aa1	C <sub>6</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>2</sub>
	L-Asparagina	Aa2	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub> x H <sub>2</sub> O
	L-Fenilalanina	Aa3	C <sub>9</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>
	L-Serina	Aa4	C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO <sub>3</sub>
	L-Treonina	Aa5	C <sub>4</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>3</sub>
	Ácido L-Glutámico	Aa6	C <sub>5</sub> H <sub>9</sub> NO <sub>4</sub>
<b>Aminas</b>	β-Feniletilamina	Am1	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N
	Putrescina	Am2	C <sub>4</sub> H <sub>12</sub> N <sub>2</sub>

Número de territorios (N): Es el nº de réplicas (campo + analíticas) que dan un resultado positivo (reducción del cloruro de violeta de tetrazolio) para la degradación de los sustratos carbonados en cada uno de los sitios estudiados (Los Pozos páramo, Los Pozos papa, etc.).

Nº de especies(s): nº de sustratos diferentes degradados. De esta manera en un territorio dado, por ejemplo suelo de páramo de Los Pozos, en el que se observase degradación de 20 sustratos diferentes, el número de especies sería 20.

Nº de individuos de una especie determinada (ni): Nº de réplicas donde se degrada un sustrato determinado. Por ejemplo, si en el territorio “suelo de papa de Los Pozos” se observase que en las tres réplicas analíticas de cada una de las tres réplicas de campo se degrada el sustrato P1,  $n_{P1}=9$ .

Nº total de individuos (N): nº total de sustratos degradados en un territorio. Así, por ejemplo, si en el territorio “suelo de papa de Los Pozos” se observase que al menos en una de las réplicas (analíticas o de campo) se degrada el sustrato P1, en tres el sustrato AC3 y en 4 el sustrato Aa2,  $N=8$ .

**Se calculó:**

- 1) El porcentaje de sustratos en los que se observó crecimiento positivo con respecto al total de sustratos ensayados.
- 2) Índice de diversidad de Shannon (H') que es una medida de heterogeneidad ya que considera tanto la uniformidad como la riqueza

$$H = - \sum p_i \ln(p_i), \text{ donde } p_i = n_i/N$$

- 3) Índice de uniformidad (E), es una medida de uniformidad adicional al índice de Shannon. Este índice alcanzaría su valor máximo cuando en un suelo todos los sustratos fuesen degradados en todas las réplicas de suelo:

$$E = H_{\max}/H = H/\ln(s)$$

Análisis estadístico: Para la comparación de la diversidad se aplicó el test de t, siguiendo el procedimiento descrito por Magurran (1988).

**Análisis de Componentes Principales**

Se utilizó el programa CANOCO versión 4.0 (1998) para hacer el Análisis de Componentes Principales (ACP) a partir de la matriz de datos construida con los resultados de degradación de los 28 sustratos carbonados. Se evaluó, de manera independiente, cada uno de los tratamientos (tiempo de incubación y tiempo de lectura), con la finalidad de determinar cuál discriminaba mejor los diferentes suelos y su diversidad funcional. Cada suelo, natural o cultivado, estaba constituido por tres réplicas de campo y a cada una se le hizo el ensayo de degradación por triplicado. De esta manera, cada réplica de

campo tendría asignado un valor de 0, 1, 2 ó 3, en función de la cantidad de réplicas analíticas que dieran resultado positivo. Con los resultados de cada suelo y cada tratamiento (I,3; I,7; II,3 y II,7) se construyeron las matrices. Para el ACP, los valores sólo fueron centrados (ACP ordinario basado en una matriz de covarianza).

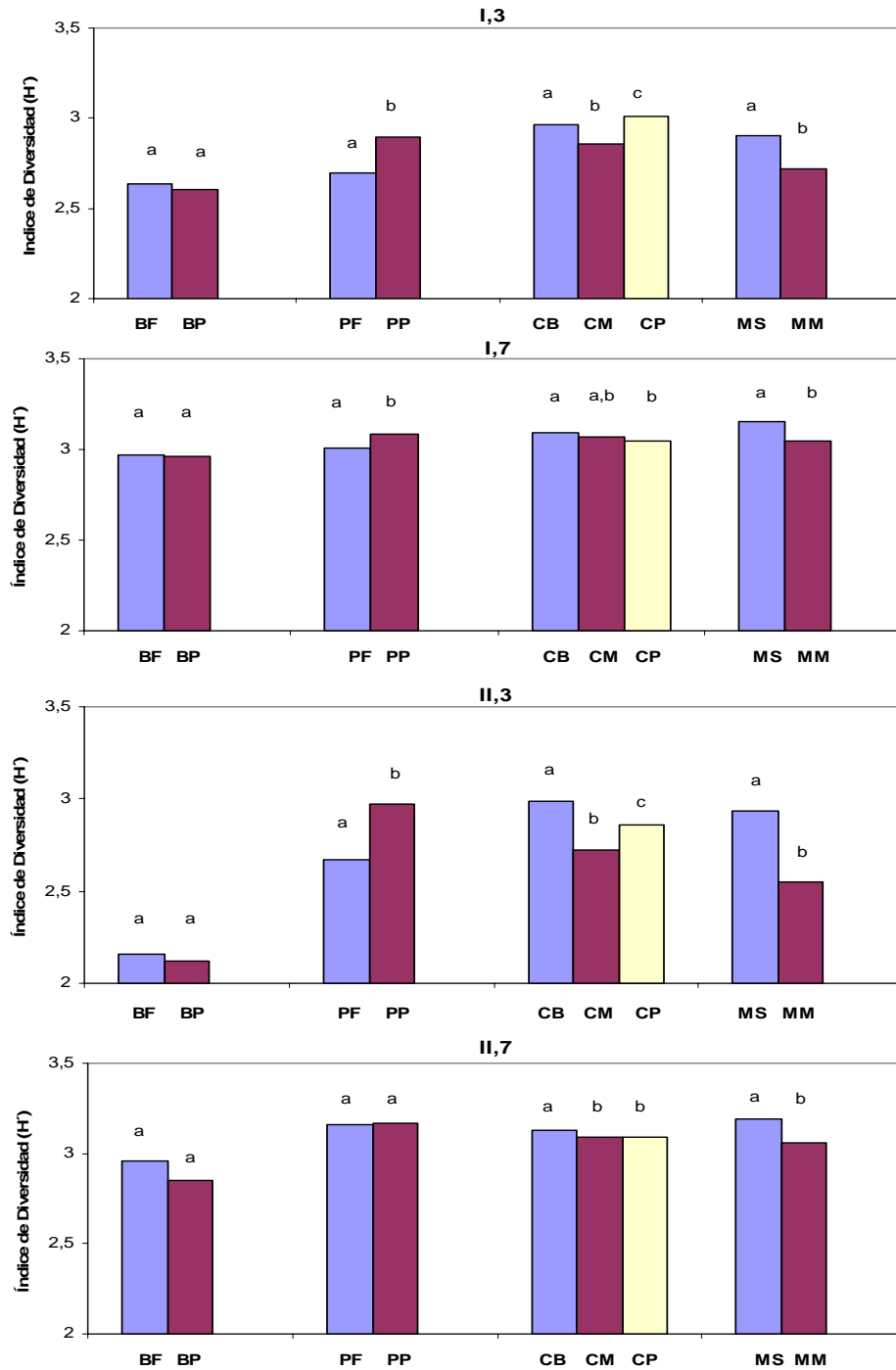
### 4.3. Resultados

#### Índices de diversidad de Shannon ( $H'$ ), uniformidad ( $E$ ) y porcentaje de degradación de sustratos carbonados

La capacidad de degradar sustratos carbonados y los índices de diversidad calculados en función de dicha capacidad, variaron entre los diferentes suelos y dependieron del tiempo de incubación de los suelos como del tiempo transcurrido desde la inoculación de los sustratos.

En los suelos de Los Bahitos (BF, BP), después de una semana de incubación de los suelos y tres días de inoculados los sustratos (Fig. 4.1; I,3) no se detectaron cambios significativos en el índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) entre el suelo natural y el cultivado, el cual registró valores de 2,639 (BF) y 2,608 (BP). El porcentaje de sustratos degradados en BF fue de 57,14% y en BP aumentó hasta el 60,71%. El índice de uniformidad ( $E$ ) mostró valores de 0,952 (BF) y 0,920 (BP). Por otro lado, en las muestras del páramo de Los Pozos,  $H'$  aumentó desde 2,698 en PF hasta 2,899 ( $t=6,69$ ;  $p<0,001$ ) en las muestras de suelo cultivado con papa (PP) mientras que  $E$  varió entre 0,973 (PF) y 0,985 (PP). Al igual que en Los Bahitos, en Los Pozos, con la conversión, el porcentaje de sustratos carbonados degradados aumentó; esta vez de 57,14% (PF) a 67,86% (PP).

Cuando la lectura de las microplacas se hizo una semana después de inocular los sustratos (Fig. 4.1; I,7), los índices de diversidad, como es de esperar, presentaron valores superiores a los encontrados en la primera lectura ya que los microorganismos con poblaciones más bajas o con crecimiento y/o metabolismo más lento tuvieron más tiempo para desarrollarse y expresar su actividad metabólica sobre los sustratos. También esta vez en los suelos de Los Bahitos (BF, BP) con la conversión, no se encontraron diferencias significativas en el índice de diversidad mientras que en Los Pozos, PP presenta un índice de diversidad ( $H'$ ) superior, 3,085 mientras el de PF fue de 3,007, ( $t=4,7$ ;  $p<0,001$ ). El porcentaje de sustratos degradados en Los Bahitos no varió con la conversión de páramo a cultivo de papa y se mantuvo en 75% mientras que en Los Pozos aumentó de 75% en PF a 82,14% en PP. Por otra parte, el índice de uniformidad ( $E$ ) varió en Los Bahitos de 0,975 (BF) a 0,972 (BP) y en los Pozos de 0,988 (PF) a 0,984 (PP).



**Figura 4.1:** Índice de Diversidad de Shannon ( $H'$ ) en los ecosistemas naturales y sus cultivos asociados.

BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: La Mucuy, maíz. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) dentro de cada grupo.

I,3: Una semana de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos

I,7: Una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos

II,3: Dos semanas de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos

II,7: Dos semanas de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos

En los suelos de Los Bahitos incubados por dos semanas, la lectura a los 3 días de inoculados muestra que el índice de diversidad  $H'$  presenta los valores más bajos de todos los ensayos, 2,155 (BF) y 2,124(BP) (Fig. 4.1; II,3), mientras que el valor del índice de uniformidad (E) fue de 0,899 (BF) y 0,923 (BP). También el porcentaje de sustratos degradados presenta su valor más bajo en Los Bahitos: 39,29% en BF y 35,71 % en BP. En los suelos de Los Pozos, se observa que con la conversión el índice  $H'$  aumenta ( $t = 5,73$ ;  $p < 0,001$ ) de 2,669 (PF) a 2,97(PP) mientras que E lo hace de 0,942 (PF) a 0,961(PP) y el porcentaje de sustratos degradados aumentó con la conversión y pasa de 60,71% en PF a 78,57% en PP.

Cuando la lectura de los sustratos se hizo a la semana, no se detectaron diferencias significativas producto de la conversión, en ninguno de los suelos de páramo estudiados (Fig. 4.1; II,7) mientras que el índice de uniformidad (E) cambió de 0,972 (BF) a 0,921 (BP) y de 0,969 (PF) a 0,996 (PP). El porcentaje de sustratos carbonados aumentó en Los Bahitos, de 75% en BF a 78,57% en BP, mientras que en Los Pozos, la conversión trajo consigo la disminución en el porcentaje de degradación, que pasó de 92, 86% en PF a 85,71% en PP.

Según estos resultados, en los suelos de Los Bahitos la conversión no condujo a cambios significativos en la diversidad ( $H'$ ) de la microbiota, mientras que en el sitio de Los Pozos, con la conversión, los suelos tienden a un aumento en el índice de diversidad de Shannon.

En los dos suelos de Bosques (CB, MS) la conversión a cultivo de maíz (CM, MM) trae consigo la disminución en el índice de diversidad (Fig.4.1). En Cacute esta disminución es más acentuada cuando la lectura de las microplacas se hace 3 días después de inoculados los sustratos. En general, cuando se hicieron las lecturas a los 7 días de inoculados los sustratos las diferencias en los índices de diversidad fueron menos acentuadas e incluso pueden desaparecer.

En los suelos de Cacute, después de una semana de incubación y tres días de inoculados los sustratos (Fig. 4.1; I,3) los suelos del potrero (CP) mostraron mayor ( $t = 3,32$ ;  $p < 0,001$ ) índice de diversidad  $H'$ , de 3,013, seguido del bosque (CB), con 2,966 y el cultivo de maíz (CM) con 2,856. El índice de uniformidad fue de 0,99 (CB), 0,97(CM) y 0,99 (CP). El porcentaje de sustratos degradados en CB fue de 71,43%, mientras que en el cultivo de maíz (CM) disminuyó hasta 67,86% y en el potrero aumentó hasta 75%. De todos los suelos estudiados, incubados por 1 semana y leídos 3 días después de inocular los sustratos, CP fue el que presentó mayor índice de diversidad  $H'$ , mayor porcentaje de sustratos degradados y, junto con CB, el mayor índice de uniformidad (E). En general, con excepción de la lectura hecha a los 7 días en los suelos incubados por una semana, en la que la disminución en el índice  $H'$  no es significativa, todas las demás lecturas mostraron que la conversión de bosque (CB) en cultivo de maíz (CM) disminuyó ( $p < 0,05$ ) el índice de diversidad de Shannon (Fig.4.1). Cuando la lectura de los sustratos se hizo a la semana (Fig. 4.1; I,7) sólo se encontraron diferencias significativas

entre CB y CP, en los que el valor de H disminuyó de 3,095 (CB) a 3,05 (CP). En ese momento el valor del índice E fue de 0,974 (CB), 0,992 (CM) y 0,987 (CP). El porcentaje de sustratos degradados disminuyó con la conversión de bosque siempre verde en cultivos, de 85,71% en CB a 78,57% en CM y CP.

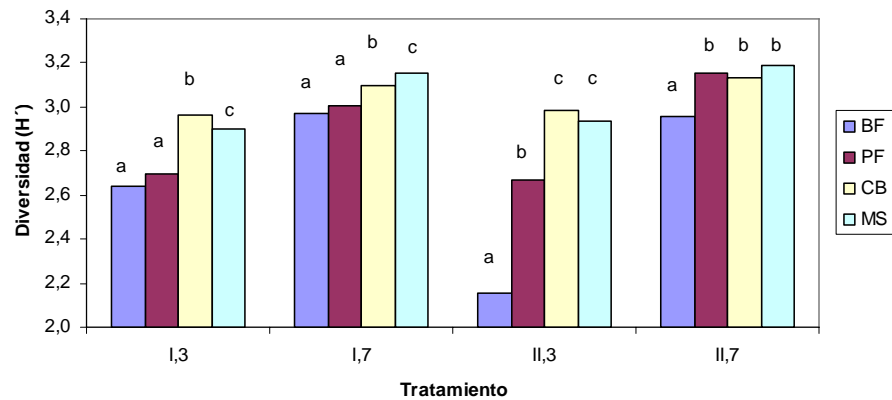
En los suelos de Cacute incubados por dos semanas (Fig. 4.1; II,3) la lectura a los tres días de los suelos de bosque (CB) mostró el mayor índice de diversidad H' de todos los de este grupo (II,3) y su valor fue de 2,984, mientras que en CP y CM, su valor descendió ( $p < 0,001$ ) a 2,861 y 2,726 respectivamente. El índice de uniformidad por su parte fue de 0,98 (CB), 0,943 (CM) y 0,99 (CP) y el porcentaje de sustratos carbonados de 75% en CB y descendió hasta 64,29% en CM y CP. Cuando la lectura se hizo a la semana, el índice (Fig. 4.1; II,7) H' fue superior ( $p < 0,05$ ) en CB, de 3,13, mientras que en los cultivos disminuyó hasta 3,088 y 3,094 en CM y CP, respectivamente, valores estos que no mostraron ser significativamente diferentes entre sí. El índice de uniformidad fue de 0,998 (CB), 0,972 (CM) y 0,987 (CP) y el porcentaje de sustratos carbonados degradados que en CB era de 82,14% se mantuvo igual en el potrero (CP) mientras que en suelos cultivados con maíz (CM) aumentó hasta el 85%. En los suelos de La Mucuy, también la conversión de bosque (MS) a cultivo de maíz (MM) trajo consigo la disminución ( $p < 0,001$ ) en el índice de diversidad, la cual se detectó en todos los ensayos (Fig. 4.1). Esta disminución fue de 2,901 a 2,719 (I,3  $t = 4,3$ ;  $p < 0,001$ ), de 3,154 a 3,046 (I,7  $t = 3,51$ ;  $p < 0,001$ ), de 2,933 a 2,55 (II,3;  $t = 9,8$ ;  $p < 0,001$ ), y de 3,192 a 3,057 (II,7  $t = 7,19$ ;  $p < 0,001$ ). El índice de uniformidad (E) varió entre MS y MM de 0,969 a 0,96 en I,3; 0,968 a 0,971 en I,7; 0,979 y 0,966 en II,3 y 0,992 y 0,975 en II, 7. Con la conversión de bosque a cultivo de maíz el porcentaje de degradación de sustratos carbonados también disminuyó en todos los ensayos. Después de una semana de incubación de los suelos y tres días de inocular los sustratos, este porcentaje pasó de 71,43% en MS a 60,71% en MM, y con la lectura siguiente, de 92,86 % (MS) a 82,14% (MM). Estos suelos de bosque de La Mucuy incubados por una semana y leídos 7 días después de inocular los sustratos fueron los que presentaron, al igual que los de páramo de Los Pozos, el mayor porcentaje de degradación de sustratos carbonados (92,86%), consecuencia de la degradación de 26 de los 28 sustratos utilizados.

Cuando los suelos se incubaron por dos semanas y se leyeron a los 3 días, la disminución en el porcentaje de degradación de sustratos carbonados fue de 71,43 % (MS) a 50% (MM) y cuando la lectura se hizo una semana después de inocular los sustratos, el porcentaje en MS fue de 89,14% y de 82,14% en MM.

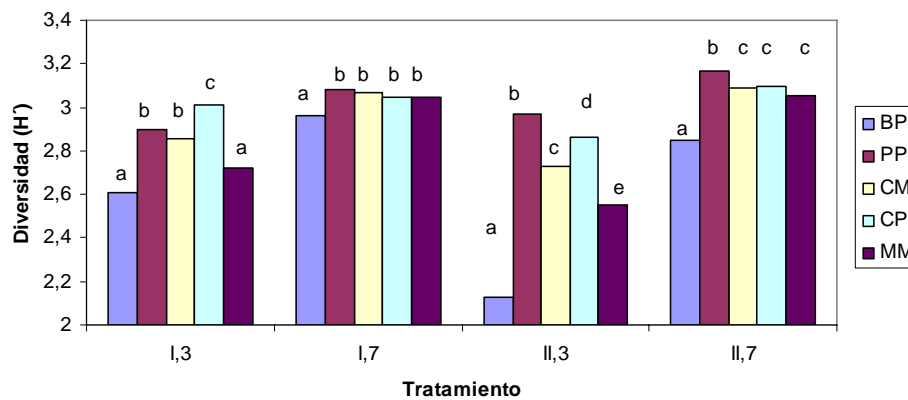
### **Diversidad de ecosistemas naturales y agroecosistemas**

La Figura 4.2 muestra los índices de diversidad de Shannon de los suelos de ecosistemas naturales, páramo y bosques. Se puede ver que los índices muestran variaciones entre los diferentes

ecosistemas y los tiempos de incubación de los suelos y de incubación de la mezcla suelo-sustrato (tratamientos). La Figura 4.2 indica que los bosques (CB, MS) siempre mostraron un índice de diversidad superior al páramo de BF, mientras que al comparar con PF, en 3 de los 4 tratamientos aplicados, los suelos de bosques (CB, MS) mostraron mayor índice ( $p < 0,05$ ) de diversidad. Cuando los suelos se incubaron por 2 semanas y se leyeron 7 días después de inocular los sustratos (II,7) los índices de diversidad de los bosques sólo fueron superiores a BF y no mostraron diferencias significativas con respecto a PF. Este ecosistema de páramo, PF, en todo momento mostró valores superiores de diversidad a los de BF, aunque sólo fueron significativos cuando el tiempo de incubación de los suelos se prolongó por 2 semanas (II,3 y II,7). Lo más resaltante es la diferencia mostrada entre BF y PF en el tratamiento II,3 y la capacidad de “recuperación” de BF cuando la incubación de los sustratos se extiende hasta el 7º día. En tan poco tiempo (4 días) el valor del índice  $H'$  pasó de 2,155 a 2,959. La incubación de los suelos de BF (y también de BP) por 2 semanas y la posterior inoculación en los sustratos parecieron que condujo a la microbiota de esta muestra hacia un estado de latencia metabólica del que tardaría más de 72 horas en salir. Entre los dos ecosistemas de bosque no parece haber diferencias muy claras en cuanto a los índices de diversidad, ya que los mismos varían en función del tiempo de incubación de los suelos y de los sustratos. Lo que sí está claro es que en general, los bosques presentaron índices de diversidad entre 2,901 y 3,192, superiores a los de páramo cuyos valores estuvieron comprendidos entre 2,155 y 3,157.



**Figura 4.2.** Índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) de los suelos de ecosistemas naturales. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) dentro de cada grupo  
 BF: Los Bahitos, páramo; PF: Los Pozos, páramo; CB: Cacute, bosque; MS: La Mucuy, selva.



**Figura 4.3.** Índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) de los suelos cultivados. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) dentro de cada grupo  
 BP: Los Bahitos, papa; PP: Los Pozos, papa; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MM: La Mucuy, maíz.

**Tratamientos:**

- I,3: Una semana de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos
  - I,7: Una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos
  - II,3: Dos semanas de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos
  - II,7: Dos semanas de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos
- Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) dentro de cada grupo.

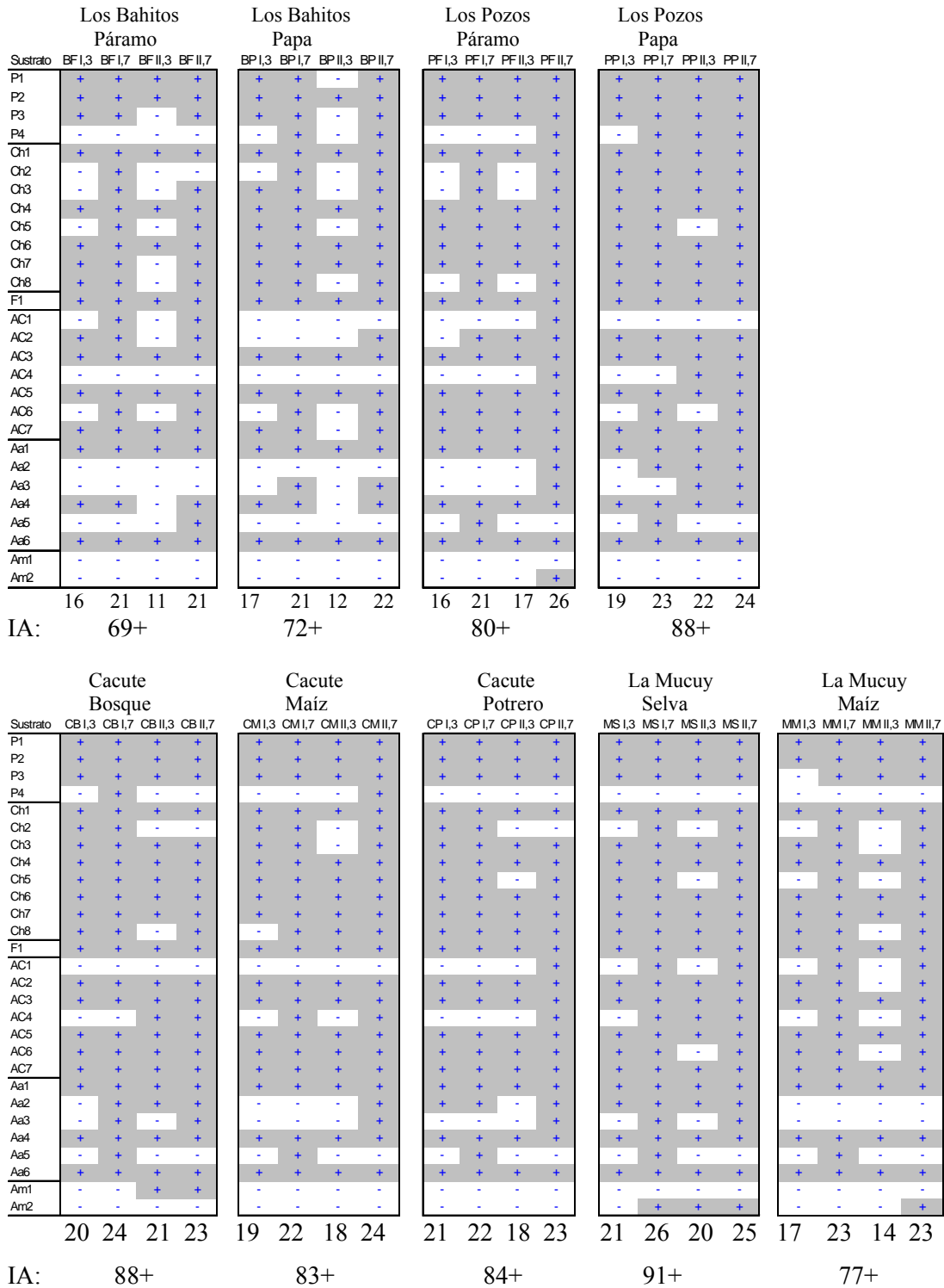
La Figura 4.3 muestra los índices de diversidad de Shannon de los agroecosistemas cultivo de papa, de maíz y potrero. Se puede observar que de todos los cultivos, BP es el que tiene menos diversidad ( $H'$ ) y que entre los dos cultivos de maíz (CM, MM) en dos de los tratamientos se evidencia mayor diversidad de CM sobre MM. Esto último cuando al lectura se hace a los tres días de inocular los

sustratos, lo que puede estar motivado al efecto del tamaño del inóculo, dado que CM posee una población microbiana superior a MM (Capítulo 5). Por la misma razón cuando comparamos entre CM y CP, vemos que el índice de diversidad de CP es muy superior que CM si la superior cuando la lectura se hace a los 3 días de inocular los sustratos pero no difiere significativamente en la lectura a los 7 días pues, con este tiempo de incubación de los sustratos inoculados es suficiente para que las comunidades microbianas se reproduzcan y de esta manera se minimiza el efecto que supone la diferencia en la densidad del inóculo, aunque esta diferencia es parte de la realidad de los suelos.

### **Patrón de degradación de sustratos carbonados**

En la Figura 4.4 se muestran los patrones de degradación de sustratos carbonados y en ella vemos que en los suelos de los Pozos (PF, PP) con la conversión, sustratos que en el páramo natural (PF) eran más “lentos” en degradarse (los suelos y/o los sustratos requerían de 7 días de incubación para evidenciarse la actividad sobre un sustrato) ahora con el cultivo (PP), se degradan en 3 días. Tal es el caso de P4, Ch2, Ch3, Ch8, Aa2, Aa3. Esto pudo haber ocurrido si los microorganismos responsables de la actividad sobre estos sustratos, se encontraran en los suelos de páramo natural en poblaciones relativamente bajas y necesitaran de más tiempo para multiplicarse y alcanzar valores de población capaces de expresar su actividad, o también por que se encontraran en formas de latencia (esporas) que requirieran de condiciones adecuadas para germinar y crecer como células vegetativas activas. La conversión de páramo a cultivo y su manejo podría estar favoreciendo el desarrollo de estas poblaciones más activas o una mayor población de las mismas, con lo cual su actividad sobre los sustratos se manifiesta en menos tiempo, en este caso en 3 días. También se observa que sustratos que en el páramo natural (PF) fueron degradados en algún momento, ahora, con la conversión en cultivo de papa (PP) no lo son (AC1 y Am2), lo cual estaría sugiriendo que la conversión no favoreció el desarrollo de los microorganismos responsables de esta actividad.

También en los suelos de Los Bahitos con la conversión (BP) algunos sustratos que en páramo natural (BF) eran degradados, ahora no lo son, como ocurre con AC1 y Aa5. Además, sustratos que en el páramo (BF) no fueron degradados en ningún momento, en BP si lo son, como ocurre con Aa3. En general, al comparar el patrón de degradación (Fig. 4.4) en los dos sitios de páramo, se observa que en Los Bahitos el efecto de la conversión no es tan marcado como en Los Pozos que muestra un aumento en la cantidad y frecuencia de sustratos degradados (zona sombreada). En BP el resultado es más heterogéneo: con la conversión algunos sustratos dejan de ser degradados o lo son en menos ocasiones (P1, AC1 AC2, AC7, Aa5), otros que en BF no eran degradados o lo eran pero en menos ocasiones, ahora, en BP, pasan a serlo o lo son con mayor frecuencia (P4, Ch2, Ch3, Ch5, Ch7, Aa3).



**Figura 4.4.** Patrón de degradación de los sustratos carbonados.

P= Polímeros: Ch = carbohidratos, F = fosforilado; AC = ácidos carboxílicos; Aa = aminoácidos; Am = aminas.  
 I, II = 1 y 2 semanas de incubación      3,7 = días de incubación del sustrato + inóculo.

Los números a pie de columna de cada figura indican la cantidad de sustratos que fueron degradados (+) en cada ensayo.  
 IA (Índice de actividad) = total de resultados positivos en cada suelo.

Comparando los suelos de páramo natural, la microbiota de Los Pozos (PF) degrada, en alguna ocasión, todos los sustratos con excepción de Am1, mientras que la de los Los Bahitos (BF), no degradó un total de 6 sustratos, P4, AC4, Aa2, Aa3, Am1 y Am2. Entre los suelos del Páramo, vemos también en Los Bahitos que ningún suelo (páramo o cultivo) degradó AC4, Aa2, Am1 y Am2.

En suelos de La Mucuy, resalta que con las muestras de bosque, en 3 de los 4 ensayos realizados se detectó actividad sobre Am2, sustrato que sólo fue degradado también en uno de los ensayos hechos con suelo del cultivo de maíz (MM) y por otro ecosistema natural PF (II,7). También llama la atención que Aa2, sustrato degradado en los 4 ensayos de MS no lo es en ninguno de MM. En La Mucuy, ningún sustrato que no haya sido degradado en MS lo llega a ser en MM (ningún resultado negativo en MS cambia a positivo en MM). Por el contrario ocurre, como ya dijimos, que algunos sustratos que eran degradados en MS dejan de serlo en algún momento en MM, pero solo Aa2 y Aa3 dejan de ser degradados en todos los ensayos. Esto podría significar que con la conversión y el manejo la microbiota del suelo responsable de la degradación de estos sustratos desaparece (en el peor de los casos) o disminuye su población metabólicamente activa y necesita de más tiempo para expresar la actividad.

En los suelos de Cacute, el patrón de degradación de sustratos carbonados, (Fig.4.4) muestra como detalle más resaltante que los suelos de bosque no intervenido fueron los únicos de todos los suelos estudiados en degradar el sustrato Am1. Para ello se necesitó incubar los suelos por 2 semanas. Esta actividad no se detectó en las muestras de cultivo de maíz (CM) ni en el potrero (CP) y constituye junto con P4 las dos pérdidas totales de actividad que se observa en el ensayo con suelos de Cacute. Por otra parte con la conversión a potrero hay degradación del sustrato AC1, cuando el suelo se incuba por dos semanas y se leen a los siete días de inocular los sustratos.

Cuando comparamos el patrón de degradación de sustratos de los ecosistemas naturales, vemos que en los bosques la degradación de Ch3 y AC2 ocurre en todas las ocasiones, mientras que en los páramos esta ocurre sólo en algunos de los ensayos. Por otra parte MS es el único ecosistema natural que en todos los ensayos presenta actividad sobre Ch8 y Aa2 y CB es el único ecosistema natural que presenta ausencia total de actividad sobre AC1.

Además, la Fig. 4.4 indica las “ganancias” y “pérdidas” que tuvieron los suelos en lo que se refiere a la capacidad para degradar los sustratos carbonados. Ella muestra los cuatro tipos de ensayos con sus resultados positivos (+) o negativos (-). En el pie de cada patrón de degradación se muestra el total de resultados que dieron positivos y que denominaremos “índice de actividad (IA)”. Podemos ver además, si algún suelo que no degradaba (-) un sustrato determinado, lo hizo (+) cuando fue convertidos en cultivo. A esto lo llamaremos “ganancia”. También observamos lo contrario: suelos que degradaban un sustrato, pero que no lo hicieron en el cultivo: a esto lo llamaremos “pérdida”. Por ejemplo, el

sustrato P1 es degradado en los cuatro ensayos de BF pero en BP hay uno cuyo resultado es negativo. Esto sería considerado una “pérdida”. Por el contrario, con el sustrato P4 ocurre, que ninguno de los tratamientos en BF da positivo, mientras que en BP, dos resultados cambian de negativo a positivo. Esto sería considerado ganancia (+2). Sobre la base de esto podemos afirmar que en Los Bahitos (BF), con la conversión a papa, hubo una ganancia neta de tres, mientras en Los Pozos, con la conversión, la ganancia fue de ocho. Los bosques por su parte, mostraron resultados bien distintos ya que con la conversión, no hubo ganancias sino pérdidas. La conversión de selva nublada (MS) a cultivo de maíz (MM), da el resultado más drástico pues pasó de un índice de actividad +91, el más alto de todos, a +77, lo cual significa una pérdida de 14 puntos. Además, con esta conversión ocurrió una “pérdida total” que tiene que ver con el sustrato L-asparagina (Aa2), el cual era degradado en todos los tratamientos de bosque (MS) y pasó a no serlo en ninguno del cultivo de maíz (CM). En el otro bosque, CB, el balance no fue tan devastador pero siguió dando un balance negativo: con la conversión a cultivo de maíz (CM) hubo una pérdida de cinco puntos, uno más que en la conversión a potrero (CP).

Enfocando los mismos resultados que se muestran en la Figura 4.4 pero desde otra perspectiva, podemos agregar también lo siguiente: las dos conversiones de páramo a cultivo de papa (BF→BP; PF→PP), tuvieron “ganancias” con diversos sustratos, algunas comunes a ambos procesos como fueron los casos de P4, Ch2, Ch3 y Aa3; lo que marcó la diferencia fue que BF→BP ganó además con Ch5 y Ch7, y PF→PP con Ch8, AC2, AC4, Aa2 y Aa5.

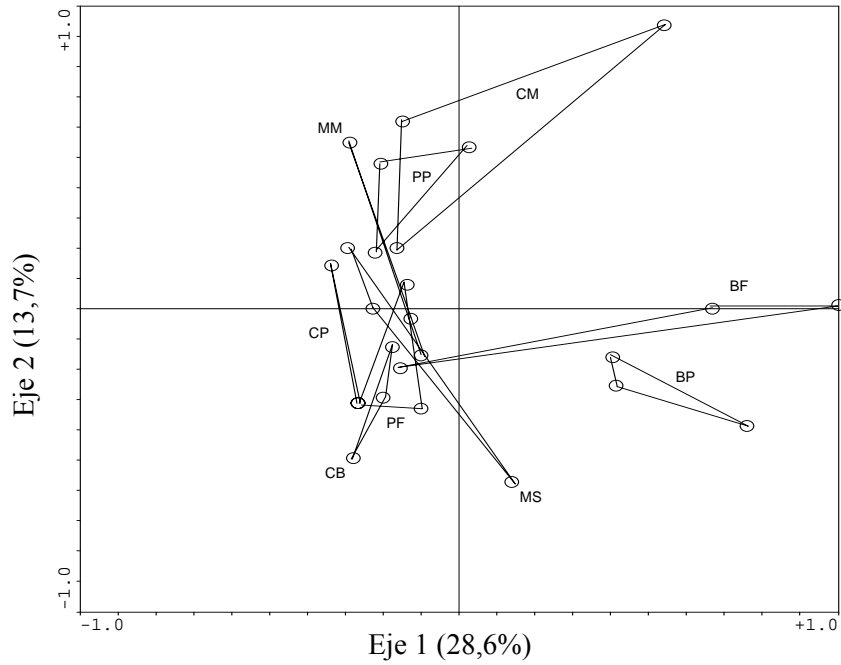
### **Análisis de Componentes Principales**

Todos los tratamientos fueron analizados, pero el ACP pudo discriminar mejor con aquel en el que los suelos se incubaron por dos semanas y la lectura se hizo a los siete días (II,7). Todos los resultados que vamos a presentar a continuación corresponden a ese tratamiento. También se analizaron los nueve suelos juntos pero como no se lograron separar bien (Figura 4.5 y 4.6) los resultados que se presentan a continuación corresponden a los análisis por separado de los suelos de páramo y de los bosques.

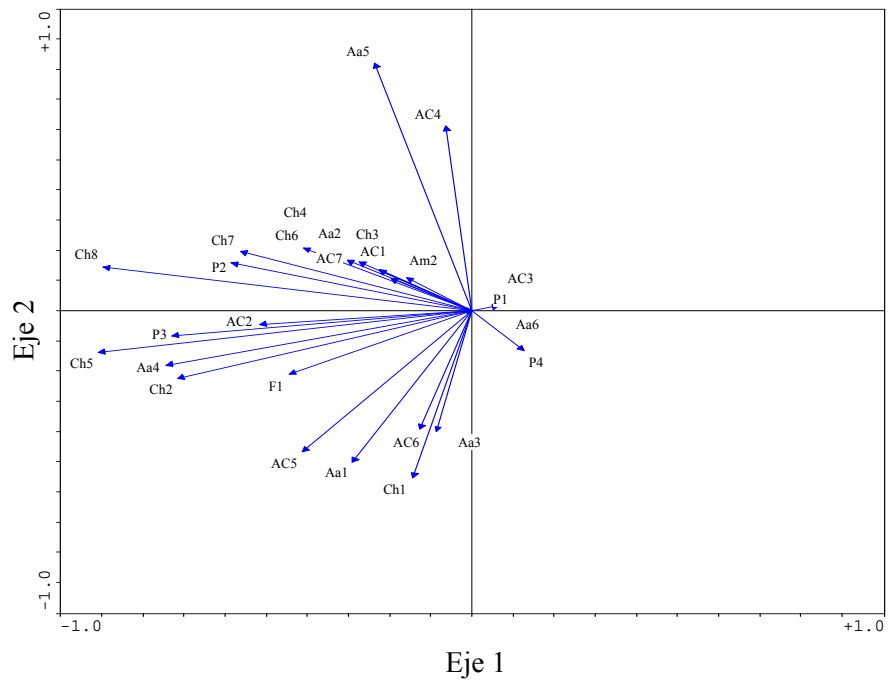
En el ordenamiento de los suelos de páramo, el primer eje explica el 41,2% de la variabilidad, el segundo 22,6% y el tercer eje un 12% adicional. En la Figura 4.7 vemos que el plano formado por los dos primeros ejes separa los cuatro grupos de suelos: suelos de páramo de Los Bahitos (BF) y suelos cultivados con papa (BP), y suelos de Los Pozos (PF) sin cultivar y cultivados con papa (PP). El primer eje del ordenamiento, separa bien los suelos de Los Bahitos, ubicados en su parte positiva, de los suelos de Los Pozos, pero no discrimina tan bien entre los suelos sin cultivar (BF, PF) y los cultivados (PP, BP). El segundo eje, separa en su parte superior, los suelos de páramo (BF, PF) de los suelos cultivados con papa (BP, PP). Esto significa que, el cambio en el uso y/o el manejo de estos suelos tendría cierto

efecto sobre la actividad microbiana, pero por ser este eje menos importante que el primero, dicho efecto debe ser relativamente moderado. Si analizamos la Figura 4.8. con el ordenamiento de los sustratos carbonados, vemos que el primer eje se asocia en su parte positiva, donde están los suelos de Los Bahitos, con la degradación de Aa5, Aa4, Ch4, Ch6, AC5 y AC5 mientras que en el extremo negativo, donde están Los Pozos, con la degradación de AC2, Ch2, Ch3, Ch5, Ch7, Aa3 y P4. En esta misma Figura vemos que el eje dos está asociado en su parte positiva (páramos) con la degradación de AC1, Aa5 y Aa1, y los cultivos lo hacen con la degradación de P4, Aa3 y AC4.

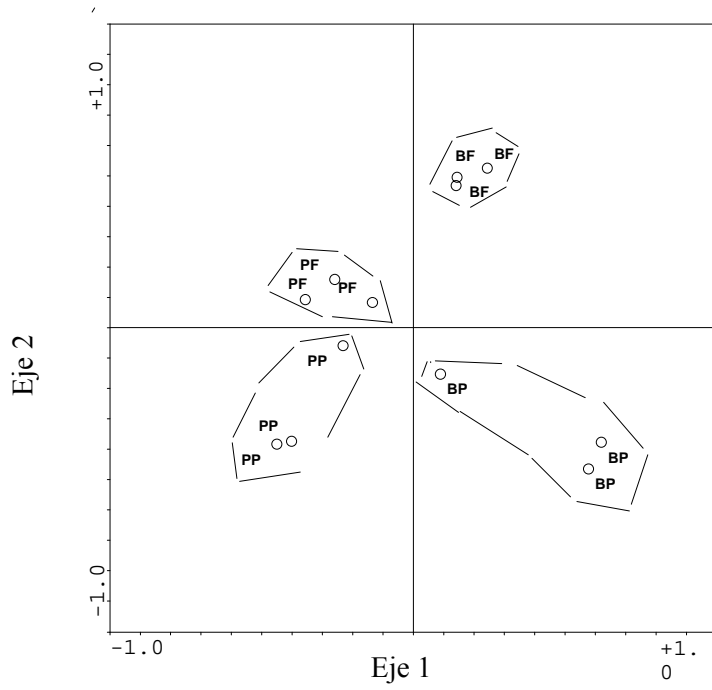
En la Figura 4.9 se muestra el ACP de los suelos de bosques y sus cultivos asociados. En este análisis se obtuvo que el primer eje explica el 41% de la variabilidad, el segundo 19,3% y el tercero un 12,6%. Observando el plano que forman los dos primeros ejes, vemos que el primer eje del ordenamiento separa en el extremo derecho a los suelos de La Mucuy cultivados con maíz (MM) seguidos de los cultivos de Cacute (CM, CP) y de los bosques (MS, CB), que se ubican en el extremo negativo de este eje, lo que resalta el carácter contrastante de la diversidad funcional entre los bosques y el cultivo MM. El segundo eje por su parte, separa muy bien a los suelos de bosque, con MS en el extremo superior, CB en el inferior y los cultivos en el medio de ambos. Si vemos la Figura 4.10 con la ordenación de los sustratos carbonados, encontramos que lo más resaltante es la asociación de los sustratos Am1 con CB, Am2 con MS, Ch2 con CM (y MS), lo cual está relacionado con la capacidad de estos suelos para degradar estos sustratos.



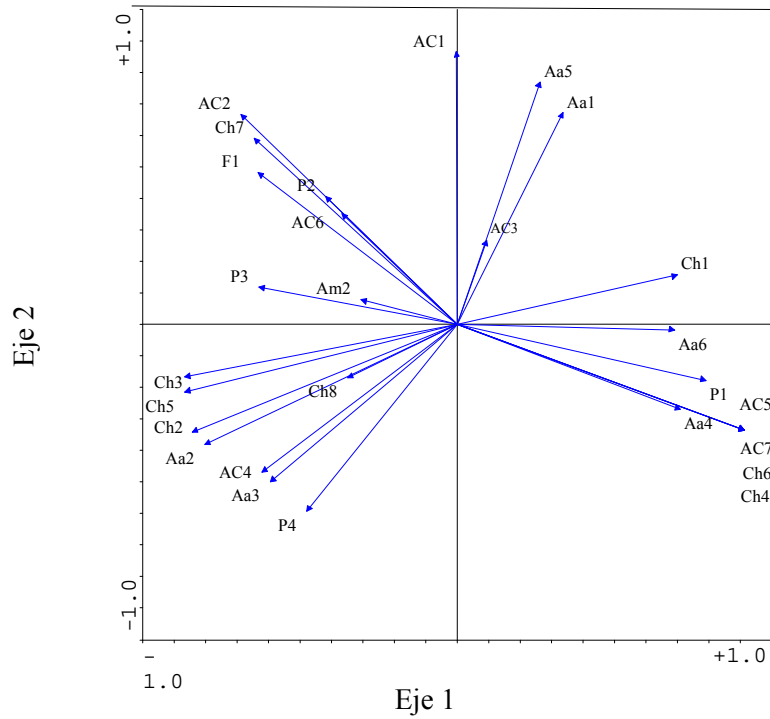
**Figura 4.5.** Ordenamiento de todos los sitios estudiados



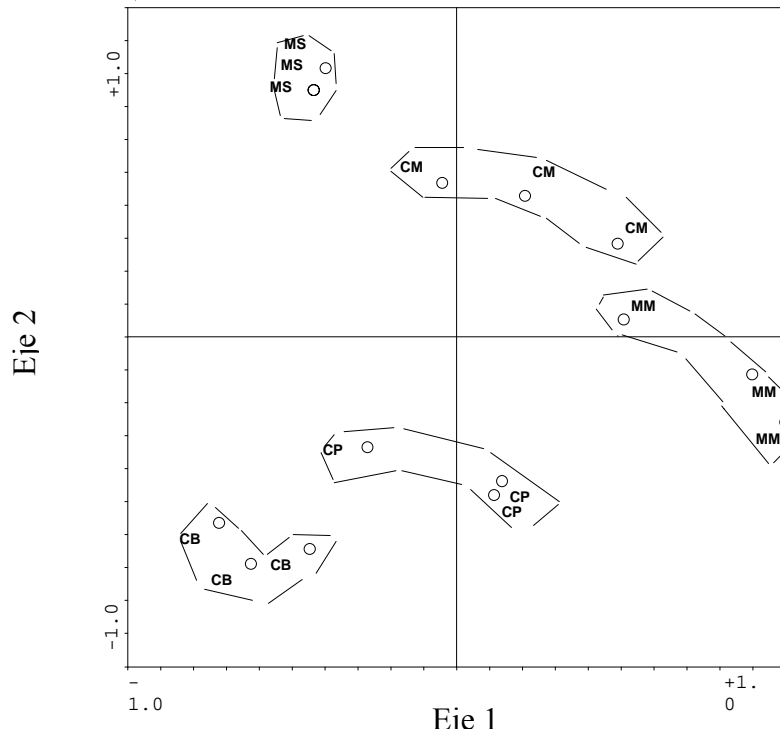
**Figura 4.6.** Ordenamiento de los sustratos en todos los sitios estudiados



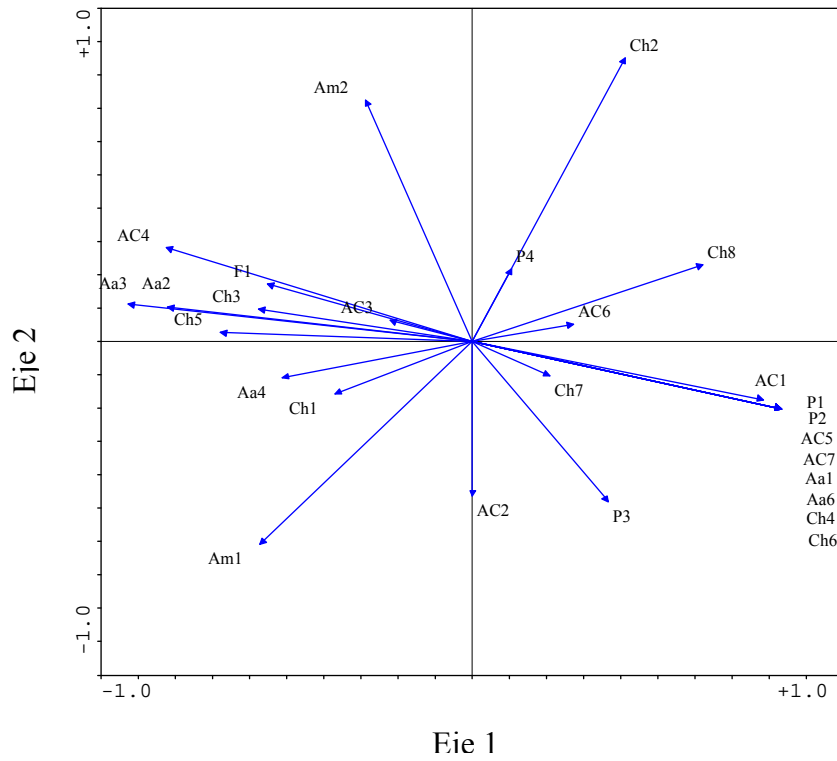
**Figura 4.7.** Ordenamiento de los sitios de páramos y sus cultivos asociados  
 BF, Los Bahitos, páramo; BP, Los Bahitos, papa; PF, Los Pozos, páramo; PP, Los Pozos, papa.



**Figura 4.8.** Ordenamiento de los sustratos en la conversión de páramos a cultivos  
 Símbolos: ver Tabla 4.1.



**Figura 4.9.** Ordenamiento de los sitios de bosques y sus cultivos asociados. MS, La Mucuy, selva; MM, La Mucuy, maíz; CB, Cacute, bosque; CM, Cacute, maíz; CP, Cacute, potrero.



**Figura 4.10.** Ordenamiento de los sustratos en la conversión de bosques a cultivos. Símbolos: ver Tabla 4.1

#### 4.4. Discusión

En general los índices de diversidad mostraron variaciones en función del tiempo de incubación de los suelos y el tiempo de incubación de la mezcla suelo-sustratos. Es de esperar que al aumentar el tiempo de incubación de la mezcla suelo-sustrato el índice de diversidad también aumente pues los microorganismos tienen más tiempo para desarrollarse y expresar su actividad metabólica. De igual manera el incubar los suelos por dos semanas puede influir en la expresión de la diversidad metabólica microbiana ya que al aumentar el tiempo de incubación, los microorganismos con poblaciones más bajas tienen la oportunidad de multiplicarse y alcanzar valores de población favorables para expresar sus potencialidades metabólicas. Sin embargo, la dinámica de las relaciones entre los distintos microorganismos que comparten espacio y nutrientes en el suelo presenta también otros aspectos como competencia, mutualismo, comensalismo, depredación, sinergismo y antagonismo, aparición de comunidades microbianas sucesionales, que puede hacer más compleja la respuesta microbiana a la incubación de los suelos (Ekschmitt y Griffiths, 1998). Es por lo tanto importante considerar que un mayor tiempo de incubación es también una oportunidad para algunos microorganismos de producir sustancias que perjudiquen a sus vecinos al inhibir su crecimiento o sus actividades. Por esta razón, no es de extrañar que en algunos casos, la incubación de los suelos por dos semanas, trajera consigo la desaparición de una actividad que se había expresado con sólo una semana.

Llama considerablemente la atención la abrupta disminución de los índices de diversidad de los suelos de BF y BP después de dos semanas de incubación de los suelos y tres días de inoculados los sustratos (Fig. 4.1; II,3). Este fenómeno puede tener su causa en la ocurrencia del fenómeno conocido como “muerte acelerada por sustrato” que puede ocurrir cuando células microbianas de crecimiento lento o nulo, son inoculadas en placas de Biolog que contienen concentraciones de sustratos más altas que las encontradas en su ambiente natural lo cual provoca que se acelere su muerte (Konopka *et al.*, 1998). Este fenómeno no habría ocurrido cuando se incubaron los suelos por una semana ni en los otros suelos, porque en esos casos los microorganismos se encontrarían en una fase activa de crecimiento. Además habría que considerar otros factores como la esporulación o la disminución del sustrato fácilmente asimilable después de dos semanas de incubación.

En general los resultados de diversidad microbiana en suelos de páramo encontrados en el presente trabajo difieren de los reportados por Gonzales (2004) en suelos de Gavidia. Gonzales (2004) analiza muestras de suelo procedentes de 33 parcelas, 6 de las cuales se encontraban cultivadas con papa, 23 en fase de descanso y 4 correspondían a zonas de páramo clímax que nunca habían sido cultivadas, y determina la capacidad de degradación de los mismos sustratos empleados en el presente trabajo, aunque sólo incubó los suelos por una semana. Esta autora encuentra que en los suelos de

páramo clímax el porcentaje de sustratos carbonados degradados a los 3 días de la inoculación de los sustratos, fluctuó entre 65% y 91% mientras que a los 7 días los porcentajes de degradación aumentaron hasta alcanzar entre 79 % y 92%, y los valores de los índices de diversidad de Shannon y de uniformidad (E) fueron de 3,3 y 0,99 respectivamente y no variaron con el tiempo. En el presente trabajo, con suelos de Los Bahitos (BF) y Los Pozos (PF), los valores de estos parámetros resultaron ser de menor magnitud que los reportados por Gonzales (2004) en Gavidia, sobre todo el índice de diversidad de Shannon cuyo máximo valor fue de 3,007 (Fig. 4.2) en suelo de PF. Además, en nuestro estudio, a diferencia de lo reportado por Gonzales (2004) si se encontraron diferencias entre los parámetros medidos a los 3 y 7 días de inoculados los sustratos. Por otra parte, según el patrón de degradación de los sustratos reportado por Gonzales (2004), todos los suelos de páramo de Gavidia degradaron P4 y Am. También difieren sus resultados con los nuestros en lo que se refiere a la actividad que los suelos de Gavidia mostraron sobre otros sustratos, como P3, F1, Aa1, Aa2 y Aa3. En definitiva, los suelos de páramo de Los Bahitos y Los Pozos presentaron menor índice de diversidad de Shannon que los de páramo clímax de Gavidia además de un patrón de degradación y una diversidad funcional muy diferente a la de los suelos de Los Bahitos y Los Pozos lo que indica que las comunidades microbianas de Gavidia poseen características funcionales distintas a las de las comunidades de los suelos de páramo estudiados en el presente trabajo, lo cual puede tener su explicación en las diferencias existentes entre estos páramos. Los suelos de Gavidia, estudiados por Gonzáles, poseen mucha más materia orgánica, 118,5 g kg<sup>-1</sup> de C y 6,9 g kg<sup>-1</sup> de N en promedio, y presentan valores de precipitación alrededor de 1300 mm, muy superior a los encontrados en Los Bahitos y Los Pozos.

En cuanto a las parcelas cultivadas con papa, el estudio de Gonzales (2004) indica que el porcentaje de degradación fue inferior al encontrado por nosotros en BP y PP. Gonzáles reporta un 25% de sustratos degradados a los 3 días de la inoculación, valor que aumenta hasta alcanzar el 50% a los 7 días. Los suelos cultivados con papa en Gavidia, a diferencia de los estudiados en este trabajo, no muestran capacidad para degradar P3, Ch2, Ch3, Ch5, Ch6, F1, Ac1, Ac6 y Aa1. Estas diferencias pueden atribuirse, además de lo ya señalado con respecto al contenido de materia orgánica y la precipitación, a la diferencia en el manejo que se da al cultivo de papa en Gavidia, en donde no se utilizan abonos orgánicos de origen animal, lo cual debe influir negativamente sobre la diversidad funcional microbiana de estos suelos.

Hay que resaltar lo ocurrido con el glucógeno (P4) y la fenilalanina (Aa3) que fueron degradados con la conversión más no en ninguno de los ensayos con suelos de Los Bahitos-páramoBF. En cuanto a las pérdidas, en BF→BP estuvieron asociadas a P1, AC2, AC7 y Aa5, y en PF→PP a Ch5, AC6 y Am2. Las ganancias se pueden asociar a diferentes mecanismos. Por una parte, cuando ocurre una ganancia como la de P4 y Aa3, en la que no se había detectado actividad sobre estos sustratos en

ninguno de los ensayos con suelos de páramo, podemos suponer que con la conversión y/o el manejo, dichos sustratos fueron incorporados al suelo, bien sea a través de los insumos aportados al cultivo o porque fueron liberados como exudados y/o secreciones por la vegetación, lo cual estimuló el desarrollo de microorganismos capaces de utilizar esos sustratos (Grayston *et al.*, 2001). Por otra parte, en aquellos ensayos en los que se detectó un aumento en los resultados positivos, pudo obedecer a que la conversión y/o el manejo estimuló el aumento en las poblaciones microbianas capaces de degradar determinado sustrato y de ahí que fueran detectados en mayor número de ensayos, y en particular, en aquellos donde la actividad se detectó con menor tiempo de incubación. El mismo fundamento podemos aplicar para explicar las pérdidas: con la conversión y/o el manejo algunos sustratos, desaparecen, disminuyen su concentración o se hacen menos disponibles, por lo que cesa el estímulo a las poblaciones microbianas. Las variaciones en la naturaleza química (aminoácidos, carbohidratos, etc.) de los sustratos que fueron degradados (o dejaron de serlo), pueden estar asociadas a su vez a cambios en los tipos de sustratos que son incorporados (o desincorporados) al suelo con el cambio en la vegetación y el manejo, pues la naturaleza de los exudados, secreciones, etc., varía entre las especies de plantas, su edad y estado de desarrollo, temperatura, luz y humedad del suelo (Curl y Truelove, 1986). Por ejemplo, la papa contiene importantes cantidades de almidón, sustrato utilizado por hongos y levaduras para su crecimiento, por lo que su cultivo puede estimular la proliferación de estos microorganismos, los cuales a su vez poseen glucógeno como sustancia de reserva que finalmente sean incorporado al suelo y de ahí que en los cultivos de papa se haya detectado la degradación de este sustrato.

Por otro lado, en el presente trabajo encontramos que con la conversión de páramo a cultivo de papa los suelos responden de diferente manera. En Los Bahitos, con la conversión no cambia de manera significativa el índice de diversidad de Shannon mientras que en Los Pozos, puede aumentar de manera significativa. Este aumento no es solamente con respecto al páramo natural al que está asociado (PF) sino que también el índice  $H'$  de PP es superior al del otro cultivo de papa (BP) (Fig.4.2). La conversión de ecosistemas naturales a cultivos trae consigo diferentes respuestas en lo que a la diversidad microbiana se refiere. Algunos estudios indican aumentos (Kennedy, 1999) en los índices de diversidad de los cultivos mientras que otros señalan la disminución de los mismos (Bossio *et al.*, 2005; Gonzales, 2004). Los ecosistemas naturales como el páramo, pueden ser muy ricos en diversidad vegetal, que aportan diversos sustratos orgánicos al suelo a través de sus exudados radicales y la incorporación de restos vegetales al suelo, lo que constituye un “variado menú” para los microorganismos descomponedores que habitan en el suelo. Con el cultivo, la oferta de sustratos se puede reducir considerablemente lo que redundaría en una diversidad funcional microbiana menor, como ocurre en el suelo de Los Bahitos. Sin embargo, cuando los cultivos vienen acompañados de un manejo que mejora

las condiciones generales del suelo y además incorpora nuevos sustratos, la diversidad funcional microbiana puede mostrar cambios que favorezcan el aumento en los índices de diversidad (Kennedy, 1999). En PP, el manejo del cultivo incluyó la aplicación de enmiendas orgánicas, como la cáscara de arroz y el gallinazo, lo cual implica la incorporación al suelo de nuevos microorganismos (junto con las enmiendas orgánicas) y materia orgánica. Además, el manejo trajo consigo la elevación del pH desde 5,0 hasta 6,2, el aumento (aunque no de manera significativa) de la cantidad de C orgánico, de N total, de P, Ca, Mg y K, (Capítulo 2) es decir, de una “mejoría” en la características generales del suelo, lo cual pudo promover un cambio en la constitución y/o estructura de las comunidades microbianas que resultaría en una mayor diversidad de utilización de sustratos y de ahí que los suelos de PP mostraran mayor índice de diversidad de Shannon y mayor porcentaje de degradación de sustratos que el suelo de páramo natural (PF) y que el otro cultivo de papa (BP), cuyo manejo no parece haber tenido el mismo impacto positivo ni sobre las propiedades fisicoquímicas (Capítulo 2) del suelo ni sobre la diversidad funcional microbiana.

Los restos vegetales de las plantas que yacen sobre el suelo, y que en su conjunto denominamos mantillo, proveen de hábitat, energía y nutrientes a muchos organismos del suelo, entre ellos a los microorganismos. Además, cada especie de planta difiere en cuanto la cantidad y cantidad de los recursos que incorpora al suelo, por lo que la composición florística puede tener un efecto muy importante sobre los componentes de la biota del suelo y los procesos que ellos regulan (Wardle *et al.*, 2004). A diferencia de los suelos de páramo estudiados en este trabajo, los suelos de bosques de Cacute y La Mucuy presentaban abundante capa de restos vegetales, que aportan sustratos diversos a las comunidades microbianas lo que podría tener relación con el hecho de que en los suelos provenientes de estos ecosistemas naturales se detectaron los mayores índices de diversidad y el mayor porcentaje de sustratos degradados.

En el presente trabajo encontramos una disminución en los valores de los índices de diversidad de los suelos cultivados con maíz con respecto a los del ecosistema natural lo cual coincide con lo reportado por otros autores. Bossio *et al.*, (2005) compararon el índice de diversidad de Shannon basado en el patrón de utilización de sustratos carbonados de suelos de un bosque primario y uno cultivado con maíz y encontraron que en el cultivo el índice  $H'$  era significativamente menor. En el presente estudio, la disminución en el índice de diversidad en el cultivo de maíz se hace más patente en suelos de La Mucuy, en donde en todas las mediciones que se hicieron, el índice de diversidad de Shannon fue significativamente inferior ( $p < 0,05$ ) que el de selva nublada. En Cacute, el otro cultivo de maíz, aunque el índice  $H'$  siempre fue menor que el del bosque, no siempre fue significativo. Este cultivo de maíz, a diferencia del de La Mucuy, recibió aportes frecuentes de abono orgánico (bosta de ganado vacuno y hojas de pino) y había cultivo de *Phaseolus vulgaris* lo que pudo contribuir a enriquecer el suelo en

sustratos rizosféricos y otros que acompañaron a las enmiendas orgánicas lo cual estimuló el desarrollo de comunidades microbianas más diversas. Tal vez por estas razones el suelo de CM presenta en dos de las mediciones (Fig. 4.3, I,3 y II,3) mayor ( $p < 0,05$ ) índice  $H'$  que MM y no muestra diferencias significativas con el bosque siempreverde cuando el índice  $H'$  es calculado después una semana de incubado el suelo y los sustratos son leídos después de 7 días (Fig. 4.1, I,7).

Con la conversión de bosque a potrero, encontramos que en CP, después de 1 semana de incubación de los suelos y 3 días de inoculados los sustratos, el índice de diversidad  $H'$  y el porcentaje de sustratos carbonados alcanza valores superiores a los de el resto de los suelos del mismo tratamiento (I,3) lo cual estaría motivado al hecho de que, la vegetación presente en los potreros, se caracteriza por mayores aportes rizosféricos que los bosques, lo cual enriquece los suelos en sustratos degradables, estimulando así el aumento de la diversidad funcional microbiana.

#### 4.5. Conclusiones

1) Entre los ecosistemas naturales, los suelos de bosque siempreverde y de selva nublada mostraron, en la mayor parte de los ensayos, valores superiores de diversidad ( $H'$ ) que los suelos de páramos, así como porcentajes superiores de degradación de sustratos carbonados, lo que sugiere la existencia de comunidades microbianas más activas y con mayor capacidad para degradar diferentes sustratos.

2) Aunque no se encontraron diferencias importantes entre los dos suelos de bosque en los que se refiere a los índices de diversidad ( $H'$ ), sin embargo, hay que resaltar que el patrón de degradación de sustratos carbonados mostró importante diferencias entre ambos bosques lo que sugiere la presencia de comunidades microbianas con capacidades metabólicas diferentes lo que podría estar motivado a la existencia en cada bosque de sustratos orgánicos distintos que promueven la diferenciación de las comunidades microbianas.

3) La conversión de páramo en cultivo de papa mostró efectos diferentes en los dos suelos estudiados. En el suelo de Los Bahitos no se detectaron diferencias significativas en el índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) mientras que en el suelo de Los Pozos, el índice  $H'$  aumentó en 3 de las 4 mediciones que se hicieron. Este suelo recibió un manejo mucho más intensivo que el de Los Bahitos, con importante aportes que mejoraron sus propiedades físicoquímicas lo que estaría determinando el aumento en el índice de diversidad  $H'$  y el porcentaje de sustratos degradados.

4) En la conversión de bosques a cultivo de maíz, la respuesta fue más homogénea que en el páramo, ya que en La Mucuy, el índice  $H'$  siempre disminuyó y en Cacute lo hizo en 3 de las 4 ensayos. Ninguno de estos cultivos recibió un manejo intensivo lo que podría estar provocando la reducción en los índices de diversidad.

5) En la conversión de bosque a potrero, en tres de los cuatro ensayos, el índice  $H'$  disminuyó, no obstante, cuando se midió después de una semana de incubación del suelo y 3 días de inoculación de los sustratos, el índice  $H'$  mostró un valor ligeramente superior que CB lo que sugiere que la conversión estaría propiciando el desarrollo de comunidades microbianas de crecimiento más rápido.

6) La conversión de ecosistemas naturales a cultivos, puede reducir de manera importante la diversidad funcional microbiana

7) El mejor tratamiento para detectar diferencias en el índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) fue el de dos semanas de incubación de los suelos y tres días de inoculados los sustratos.

#### 4.6. Referencias Bibliográficas

- Avidano L, Gamalero E, Cossa GP y Carraro E (2005). Characterization of soil health in an Italian polluted site by using microorganisms as bioindicators. *Applied Soil Ecology*. 30: 21-33.
- Bossio DA, Girvan MS, Verchot L, Bullimore J, Borelli T, Albrecht A, Scow KM, Ball AS, Pretty JN y Osborn AM (2005). Soil microbial community response to land use change in an agricultural landscape of western Kenya. *Microbial Ecology*. 49: 50-62.
- Crecchio C, Gelsomino A, Ambrosoli R, Minati JL y Ruggiero P (2004). Functional and molecular responses of soil microbial communities under differing soil management practices. *Soil Biology & Biochemistry*. 36: 1873-1883.
- Curl EA y Truelove B (1986). Root exudates. En DFR Bommer, BR Sabey, GW Thomas, Y Vaadia y LD Van Vleck (eds.). *The Rhizosphere*. Springer-Verlag, pp 55-92.
- Derry AM, Staddon WJ y Trevors JT (1998). Functional diversity and community structure of microorganisms in uncontaminated and creosote-contaminated soils as determined by sole-carbon-source-utilization. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*. 14: 571-578.
- Derry AM, Staddon WJ, Kevan PG y Trevors JT (1999). Functional diversity and community structure of micro-organisms in three arctic soils as determined by sole-carbon-source-utilization. *Biodiversity and Conservation*. 8: 205-221.
- Diz CN (2003). *Respuesta microbiana a la quema y al abonado del suelo*. Tesis doctoral. Universidad Santiago de Compostela. España. 478 p.
- Entry J, Mills D, Mathee K, Jayachandran K, Sojka RE y Narasimhan G (2008). Influence of irrigated agriculture on soil diversity. *Applied Soil Ecology*. 40: 146-154
- Ekschmitt K y Griffiths BS (1998). Soil biodiversity and its implications for ecosystem functioning in a heterogeneous and variable environment. *Applied Soil Ecology*. 10: 201-215.
- Garland JL (1997). Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS Microbiology Ecology*. 24: 289-300
- Garland JL y Mills AL (1991). Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied and Environmental Microbiology*. 57 (8): 2351-2359.
- Gonzales S (2004). *Microbiota edáfica de los Andes tropicales*. Tesis doctoral. Universidad Santiago de Compostela. España.
- Grayston SJ, Griffith GS, Mawdsley JL, Campbell CD, Bardgett RD (2001). Accounting for variability in soil microbial communities of temperate upland grassland ecosystem. *Soil Biology & Biochemistry*. 33: 533-551.

- Hill GT, Mitkowski NA, Aldrich-Wolfe L, Emele LR, Jurkonie DD, Ficke A, Maldonado-Ramirez S, Lynch ST y Nelson EB (2000). Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Microbiology*. 15: 25-36.
- Insam H (1997). A new set of substrates proposed for community characterization in environmental samples. En H Insam y A Rangger (eds.). *Microbial Communities*. Springer-Verlag. Berlin, pp, 259-260.
- Kennedy AC (1994). Carbon utilization and fatty acids profiles for characterization of bacteria. En RW Waver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicsek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds.). *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin, EEUU, pp. 543-556.
- Kennedy AC (1999). Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture Ecosystems & Environmental*. 74: 65-76
- Kirk JL, Beaudette LA, Hart M, Moutoglis P, Klironomos JN, Lee H y Trevors JT (2004). Methods of studying soil microbial diversity. *Journal of Microbiology Methods*. 58: 169-188.
- Konopka A, Oliver L y Turco RF (1998). The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological microbiology. *Microbial Ecology*. 35: 103-115.
- Magurran A (1988). *Ecological diversity and its measurement*. University Press, Cambridge.
- Pankhurst CE, Ophel-Keller K, Doube BM y Gupta VVSR (1996). Biodiversity of soil microbial communities in agricultural systems. *Biodiversity and Conservation*. 5: 197-209.
- Powlson DS, Hirsch PR y Brookes PC (2001). The role of soil microorganisms in soil organic matter conservation in the tropics. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*. 61: 41-51.
- Qingchao L, Allen HL y Wollum II AG (2004). Microbial biomass and bacterial functional diversity in forest soils: effects of organic matter removal, compaction, and vegetation control. *Soil Biology & Biochemistry*. 36: 571-579.
- Preston-Mafham J, Boddy L, Randerson PF (2002). Analysis of microbial community functional using sole-carbon-source utilisation profiles- a critique. *FEMS Microbiology Ecology*. 42:1-14.
- Shishido M, Sakamoto, K, Yokoyama H, Momma N y Misyashita SI (2008). Changes in microbial communities in an apple orchard and its adjacent bush soil in response to season, land-use, and violet root rot infestation. *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 1460-1473.
- Singh BK, Munro S, Reid E, Ord B, Potts JM, Paterson E y Millard P (2006). Investigating microbial community structure in soils by physiological, biochemical and molecular fingerprinting methods. *European Journal of Soil Science*. 57: 72-82.

- Staddon WJ, Trevors JT, Duchesne LC y Colombo CA (1998). Soil microbial diversity and community structure across a climatic gradient in western Canada. *Biodiversity and Conservation*. 7: 1081-1092.
- Tam L, Derry AM, Kevan PG y Trevors JT (2001). Functional diversity and community structure of microorganisms in rhizosphere and non-rhizosphere Canadian arctic soils. *Biodiversity and Conservation*. 10: 1933-1947.
- Torsvik V y Øvreås L (2002). Microbial diversity and function in soil: from genes to ecosystems. *Currents Opinion in Microbiology*. 5: 240-245.
- Wardle DA, Bardgett RD, Klironomos JN, Setälä H, van der Putten WH y Hall DH (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*. 304: 1629-1633.

## CAPÍTULO 5

### ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS

#### Resumen

Con la finalidad de analizar cómo responden las poblaciones microbianas a la conversión de páramos y bosque a cultivos de papa, maíz y potrero, se determinó en suelos sin intervenir y en suelos cultivados, el tamaño de las poblaciones de bacterias heterótrofas, celulolíticas, amilolíticas, amonificantes, proteolíticas, oligotrofas, copiotrofas, y propágulos de hongos. Además se estimó la biomasa microbiana y fúngica por Respiración Inducida por Sustrato y extracción de ergosterol respectivamente. Los resultados muestran que en todos los suelos estudiados, las bacterias superan numéricamente a los propágulos de hongos y que el orden predominante del tamaño de población de los grupos funcionales fue amonificantes>proteolíticos>amilolíticos>celulolíticos. En los cultivos de maíz las poblaciones de bacterias heterótrofas y propágulos de hongos disminuyeron mientras que en los cultivos de papa los propágulos se mantuvieron igual y las bacterias aumentaron en uno de los cultivos mientras que en el otro no se detectaron cambios. La biomasa microbiana promedio de los suelos de páramo sin intervenir fue de 160 mg C kg<sup>-1</sup> suelo y de 225 mg C kg<sup>-1</sup> suelo en los cultivos de papa mientras que en el bosque siempreverde, alcanzó la sorprendente cantidad de 14143±1381 mg C kg<sup>-1</sup> suelo, contrastando con los 2223±26 de la selva nublada. Con la conversión de los bosques, la biomasa microbiana y fúngica disminuyeron, y en el bosque siempreverde esta disminución fue de mayor magnitud en el cultivo de maíz que en el potrero. Con la conversión a cultivos de papa no se evidenciaron cambios significativos en los valores de biomasa fúngica. La relación C fúngico/C bacteriano sólo varió de manera significativa en la conversión del bosque siempreverde a cultivos y la relación oligotrofos/copiotrofos disminuyó en una de las conversiones a papa y aumentó en la conversión del bosque siempreverde. En este bosque resalta la baja población de microorganismos oligotrofos, la más baja de todos los suelos estudiados y se discute la importancia que puede tener esto. En general, los resultados indican que los ecosistemas estudiados responden al cambio en el uso de manera muy diferente y que con el cultivo de maíz se reduce de manera importante las poblaciones de microorganismos y la biomasa microbiana, lo cual señala lo perjudicial que puede resultar para el suelo este cultivo y/o su manejo.

## 5.1. Introducción

Los suelos están constituidos por una multitud de microhábitats en donde hacen vida diversos organismos, muchos de ellos con dimensiones microscópicas, tales como, bacterias, hongos, protozoos, algas y virus (Alexander, 1977; Voroney, 2007). Las bacterias y los hongos son los microorganismos más abundantes y los que llevan a cabo la mayoría de los procesos involucrados en la descomposición de la materia orgánica y el ciclado de nutrientes (Prosser, 2007).

En virtud del amplio rango de hábitats que existen en los suelos, estos albergan una enorme biomasa de microorganismos, estimada para toda la biosfera en  $2,6 \times 10^{29}$  células procariotas, y poseen buena parte de la diversidad genética del planeta -un solo gramo de suelo puede contener kilómetros de hifas fúngicas y más de  $10^9$  células bacterianas (Voroney, 2007; Whitman *et al.*, 1998).

Las bacterias y los hongos constituyen en la práctica una sola entidad, denominada biomasa microbiana, en la que también se podría incluir a los protozoos, i.e., flagelados, ciliados y amebas, aunque por estar presentes en una cantidad considerablemente menor que las bacterias y los hongos, en general no contribuyen de manera significativa a las dimensiones de la biomasa (Clarholm *et al.*, 2007; Alexander, 1977). Sin embargo, en algunos suelos de zonas templadas y en el mantillo de los bosques, la biomasa de los protozoos pueden alcanzar valores tan elevados como  $20 \text{ g/m}^2$  (Anderson, 1988). La biomasa microbiana es un importante componente de la materia orgánica del suelo, que además de intervenir en la transformación y el almacenamiento de los nutrientes (Horwath y Paul, 1994) contiene cantidades importantes de carbono, nitrógeno y nutrientes inorgánicos, como el P,  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{2+}$ , que son liberados después de la muerte de los microorganismos, contribuyendo así con la fertilidad del suelo (Díaz-Raviña *et al.*, 1993, 1995). Su actividad está asociada además, a la regulación del secuestro de carbono por parte del suelo, a su mineralización y a la productividad del ecosistema (Han *et al.*, 2007).

Los valores de biomasa microbiana bacteriana suelen situarse entre 100 y 8000 mg por kg de suelo seco (Diz, 2003) y algunos cálculos estiman entre 100 y 4000 kg de bacterias, el peso de las bacterias vivas contenidas en una ha de suelo superficial (Dommerges y Mangenot, 1970; Alexander, 1977). Los hongos, por otra parte, más difíciles de cuantificar que las bacterias, debido a que crecen en forma de hifas, pueden predominar en biomasa sobre las bacterias y todos los demás organismos del suelo, excepto las raíces de las plantas (Thorn y Lynch, 2007). Los hongos son sumamente importantes por su papel en el ciclado de C y N, debido a su capacidad de degradar sustratos complejos de origen vegetal que representan hasta el 90% de la producción primaria neta de la mayoría de los ecosistemas terrestres (Thorn y Lynch, 2007).

Los suelos pueden presentar una enorme variabilidad en su organización física y composición química que sumado a las variaciones en el clima y las provocadas por la intervención humana, resulta en la generación de múltiples microhábitats. Las comunidades microbianas del suelo son influenciadas

por las propiedades bióticas y abióticas de estos microhábitats, entre los que se incluyen el pH (Standing y Killham, 2007), tamaño de poro (Strong *et al.*, 2004), tamaño de partícula (Sessitsch *et al.*, 2001), disponibilidad de agua y carbono (Chenu *et al.*, 2001), tipo de minerales que constituyen los microhábitats (Carson *et al.*, 2009), y depredación por protozoos y nematodos (Villenave *et al.*, 2004; Foissner 1999; Rønn *et al.*, 2002). Además de estos factores, la vegetación y el manejo del suelo, también puede modificar la abundancia y la diversidad taxonómica y funcional de los microorganismos (Lagomarsino *et al.*, 2009).

Para cuantificar las bacterias presentes en los suelos se han desarrollado diversos métodos, algunos independientes de cultivo, como el recuento total de las poblaciones bacterianas por microscopía de epifluorescencia (Li *et al.*, 2004), la citometría de flujo (Chitarra y van der Bulk, 2003), la hibridización fluorescente in situ (FISH) (Wagner *et al.*, 2003), así como técnicas basadas en la extracción de ácidos nucleicos (Ogram, 2000; Kent y Triplett, 2002). Otros métodos dependen del crecimiento de los microorganismos en medios de cultivo, como son el conteo total en placas de agar y el método del número más probable (NMP), que puede realizarse en tubos de ensayo o en su forma miniaturizada, más rápida y práctica, en placas de microtitulación de 96 pozos (Alexander, 1965; Rowe *et al.*, 1977). Se considera que los métodos dependientes de cultivo, estiman únicamente, entre el 1 y el 5 % del total de la población microbiana, debido a las limitaciones propias de proveer las condiciones necesarias para el crecimiento de la gran diversidad de microorganismos presentes en los suelos (Torsvik y Ovreas, 2002; Torsvik *et al.*, 2002). Aunado a esta limitación, se añade que estos métodos pueden ser tediosos y consumir mucho tiempo (Balestra y Misaghi, 1997). Aun así, los métodos dependientes del cultivo, siguen siendo una opción que provee de importante información acerca del tamaño de la fracción cultivable de la microbiota edáfica y de las actividades que realiza. Muestra de ello, es que el método del número más probable se ha utilizado recientemente, entre otros estudios, para estimar la población de bacterias reductoras de arsénico (Kuai *et al.*, 2001), la población de *Rhizobium* (Woomer *et al.*, 1988), el impacto de los exudados aleloquímicos sobre las comunidades microbianas (Kong *et al.*, 2008), la cantidad de microorganismos degradadores de hidrocarburos (Phillips *et al.*, 2006; 2008), las poblaciones de bacterias del género *Nocardia* (Ramírez *et al.*, 2003), la de oxidadores autotróficos de amonio, bacterias amonificantes y desnitrificantes (Amora-Lazcano *et al.*, 1998), y el efecto de los incendios forestales sobre las poblaciones microbianas del suelo (Acea y Carballas, 1996, 1999).

La biomasa microbiana, puede determinarse con diferentes métodos, directos e indirectos, entre los que podemos citar: recuento directo de microorganismos por microscopía (Li *et al.*, 2004), estimando la cantidad de ATP (Lundin *et al.*, 1986), fumigación-incubación (Jenkinson y Powlson, 1976), fumigación-extracción (Brookes *et al.*, 1985; Vance *et al.*, 1987), y la respiración inducida por

sustrato (Anderson y Domsch, 1978). La biomasa microbiana, como ya dijimos, incluye a bacterias y hongos, por lo que su estimación no nos permite cuantificar separadamente a los dos grupos de microorganismos. Por esta razón se han desarrollado métodos que permiten cuantificar también la biomasa fúngica y conocer así la contribución que la misma hace a la biomasa microbiana. Para ello, se ha utilizado la determinación de ergosterol (Zhao *et al.*, 2005; Gong *et al.*, 2001) y de fosfolípidos de membrana específicos de hongos como el 18:2 $\omega$ 6,9, presente sólo en las membranas celulares de hongos saprófitos y ectomicorrizas, y el 16:1 $\omega$ 5 usado para cuantificar micorrizas arbusculares (de Vries *et al.*, 2009).

Las actividades agrícolas traen consigo importantes cambios en la composición y la estructura de las comunidades microbianas del suelo, afectando por esta razón, los procesos en los que intervienen y en consecuencia las propiedades y funciones del ecosistema (Kennedy, 1999; Upchurch *et al.*, 2008; Buckley y Schmidt, 2003; Dominy y Haynes, 2002). Cada vez son más los trabajos dirigidos a conocer de qué manera el cambio en el uso del suelo y su manejo influyen en las poblaciones microbianas, aunque los resultados de dichas investigaciones son en ocasiones contradictorios. Generalmente se considera que el cambio en el uso del suelo induce cambios en las comunidades microbianas debido, fundamentalmente, a los cambios en la vegetación y en las propiedades del suelo (Nüsslein y Tiedje, 1999; Borneman y Triplett, 1997), sin embargo, Upchurch *et al.*, (2008) al estudiar suelos de bosques de vieja data, otros en sucesión o en proceso de reforestación, y cultivos con diferentes manejos, encuentran que las comunidades microbianas cambian muy lentamente su diversidad taxonómica, y sugieren que buena parte de la comunidad microbiana está muy bien adaptada a las condiciones del suelo independientemente de la vegetación imperante. También, en este mismo orden de ideas, Buckley y Schmid (2003) sugieren que aunque existe evidencia de que la vegetación influye en la estructura de las comunidades microbianas en las porciones de suelo inmediatamente adyacentes a las raíces de las plantas, no es tan evidente que las comunidades de plantas puedan influir en la distribución de los microorganismos a lo largo de todo el campo de cultivo y, con base en los resultados de su trabajo, estos autores afirman que las prácticas de manejo ejercen mayor influencia sobre la composición de las comunidades microbianas que el actual uso del suelo o el tipo de vegetación imperante.

Dicho esto, y debido a la importancia que tienen los microorganismos en los diferentes procesos que ocurren en el suelo, y en virtud de que sus poblaciones son indicadores muy sensibles, que responden rápidamente a los cambios en las propiedades físicas, químicas, bioquímicas y biológicas como consecuencia del cambio en el uso del suelo (Trasar *et al.*, 2008) hemos querido determinar de qué manera la conversión de ecosistemas de páramos y bosques a cultivos, afecta a las comunidades microbianas del suelo. Para ello medimos los siguientes parámetros:

- 1) Población total de propágulos de hongos y de bacterias heterótrofas, amonificantes, proteolíticas, amilolíticas, celulolíticas, oligotrofas y copiotrofas (por el método del número más probable).
- 2) Biomasa microbiana (por respiración inducida por sustrato).
- 3) Biomasa fúngica (determinando el contenido de ergosterol en los suelos).

## 5.2. Materiales y métodos

**Humedad del suelo:** Se tomaron por triplicado 20 g de suelo húmedo de cada una de las submuestras y se dejaron por 48 horas en un horno a 105 °C, para determinar su peso seco y se calculó la humedad según la fórmula:

$$\% \text{ de humedad} = \{(\text{Peso húmedo} - \text{peso seco})/\text{peso seco}\} 100$$

**Reactivación de la población microbiana:** Después de la recolección de las muestras de suelo, una parte de las mismas se secó por tres días a temperatura ambiente (25 °C) y otra porción se guardó a 4 °C (suelo fresco). Para la realización del estudio microbiológico, los suelos secos fueron reactivados con un inóculo de suelo fresco. Para ello, los suelos secos se inocularon con suelo fresco a razón de 1 ml de inóculo por cada 50 g de suelo seco y se ajustó la humedad al 95 % de la capacidad de campo. Para preparar el inóculo de suelo se hizo una suspensión de 10 g de suelo fresco en 90 ml de agua destilada, se agitó esta suspensión durante 10 minutos, se decantó y filtró con papel Whatman N° 1. El filtrado resultante constituyó el *inóculo de suelo fresco*. Una vez inoculados los suelos, estos se incubaron en oscuridad a 24 °C, en envases de polipropileno, durante siete días. Al final de este tiempo se hicieron las determinaciones de la estructura de las comunidades microbianas (Diz, 2003).

**Densidad de bacterias heterótrofas:** Se utilizó el método descrito por Diz (2003) y Gonzales (2004) en el que se combinaba el uso de placas de microtitulación (8 x 12 pozos) con el método del número más probable (Alexander, 1965; Woomey, 1994). El medio de cultivo empleado fue el indicado por Clark (1965), (Anexo A, medio bacterias heterotrofas) al que se le agregó el indicador de oxidoreducción, cloruro de trifeniltetrazolio (CTT), esterilizado por filtración (filtro Millipore de 0,22 µm de diámetro de poro), y a una concentración final de 0,075 mM. Este medio que contiene glucosa como principal fuente de carbono y como fuente de nitrógeno KNO<sub>3</sub> y extracto de levadura, ha sido muy utilizado para el conteo de bacterias del suelo (Nodar *et al.*, 1992; Díaz-Raviña *et al.*, 1992; Díaz-Raviña *et al.*, 1993; Vázquez *et al.*, 1993; Acea y Carballas, 1996; Diz, 2003; Gonzales, 2004). El procedimiento consistió en distribuir con una pipeta multicanal, 150 µl del medio de cultivo con CTT en cada uno de los 96 pozos. Las placas así preparadas se sembraron, en cada pozo, con 50 µl de cada una de las diluciones (10<sup>-2</sup>→10<sup>-9</sup>) de suelo preparadas a partir del equivalente a 5 g de suelo seco (5g suelo + 45 ml H<sub>2</sub>O = dilución 10<sup>-1</sup>). Se sembraron 4 réplicas por dilución y 3 réplicas por cada submuestra de suelo. Una vez hecha la siembra, las placas se sellaron con papel parafilm, se guardaron en bolsas plásticas y se incubaron a 24 °C, en oscuridad, durante 3 semanas.

**Propágulos de hongos:** Se utilizó también el método que combina el uso de placas de microtitulación con el del número más probable. Las placas se prepararon con caldo peptona-dextrosa rosa bengala (Anexo 1) el cual ha sido ampliamente utilizado para el aislamiento y conteo de hongos del suelo (Martin, 1950; Jones y Edington, 1968; Dwivedi y Dwivedo, 1971; Aon *et al.*, 2001, Yang *et al.*, 2003, Kaushik *et al.*, 2005; Nuhoglu *et al.*, 2006). Las muestras de suelo se procesaron de igual manera que para cuantificar la población de bacterias heterótrofas. Dado que la mayoría de los hongos no utilizan el CTT como aceptor artificial de electrones, el conteo de propágulos se hizo constatando si había crecimiento en los pozos. Para evitar la contaminación por invasión de hifas a otros pozos, una vez evidenciado el crecimiento se agregaron 50 µl de una solución de CuSO<sub>4</sub> al 2% (Buyer *et al.*, 2001).

**Población de microorganismos del ciclo de C y N:** Al igual que en la determinación de bacterias heterótrofas y con excepción de los celulolíticos, se implementó el método descrito por Diz (2003) y Gonzales (2004), en el que se combinaba el método del número más probable con el uso de placas de microtitulación. Los medios de cultivo utilizados se describen en el Anexo A. Para la determinación de los microorganismos celulolíticos se repartieron 8 ml del medio de cultivo en tubos de ensayo 1x10 cm, a los que se les introdujo una tira de papel Whatman N° 1 de 1x7 cm. Luego de esterilizar a 121 °C durante 20 minutos, cada tubo se sembró con 1 ml de la suspensión de suelo a razón de 4 tubos por dilución. Se consideró un resultado positivo si la tira de papel de filtro mostraba evidencias de haber sido atacado por microorganismos (coloreada, rota).

Para el recuento de los microorganismos amilolíticos se consideró un resultado positivo si al agregar el reactivo de yodo-yodurado (Anexo B) aparecía una coloración amarilla pálida a marrón oscuro, indicadora de una hidrólisis parcial o total del almidón, mientras que en el resultado negativo se observaba el color violeta o azul oscuro (Diz, 2003; Gonzales, 2004).

Los microorganismos proteolíticos se comprobaron después de haber colocado las placas a 4 °C por 1½ horas; si se mantenía la licuefacción de la gelatina se consideraba que el resultado era positivo. Los microorganismos amonificantes se evidenciaron agregando unas gotas de reactivo de Nessler (anexo B); el desarrollo de color naranja indicaba un resultado positivo (Diz, 2003; Gonzales, 2004).

**Oligotrofos y copiotrofos:** Se sembraron 50 µl de diluciones ( $10^{-2}$  a  $10^{-9}$ ) de suelo en el medio de alto contenido de nutrientes (ACN, anexo A) y de bajo contenido de nutrientes (BCN, similar al medio ACN pero diluido 1:100). Después de 60 horas de incubación a 25 °C se contaron los pozos positivos (reducción del CTT) en el medio ACN (copiotrofos) y a 4 semanas en el medio BCN para los

oligotrofos (Van Diepeningen *et al.*, 2006). Con los valores obtenidos se calculó el número más probable por gramo de suelo seco (Woomer, 1994), de bacterias copiotrofas y oligotrofas.

**Biomasa fúngica ( $C_f$ ):** El ergosterol es el esteroide más abundante encontrado en la membrana celular de la mayoría de los hongos filamentosos y levaduras, y su concentración en el suelo constituye un estimado muy útil de biomasa fúngica encontrándose una correlación significativa entre la concentración de ergosterol edáfico y la biomasa fúngica, medida por respiración inducida por sustrato o microscopía (Zhao *et al.*, 2005).

Para la determinación del ergosterol se siguió el procedimiento de disruptión física descrito por Gong *et al.*, (2001) que, de manera resumida, consiste en lo siguiente: se agregaron 4 gramos de suelo fresco a un vial con 6 mL de metanol y 4 gramos de perlas de vidrio (Sigma-Aldrich) de 1 mm de diámetro. La mezcla se agitó 10 segundos en el vortex y se incubó con agitación orbital a 250 r.p.m. durante 90 minutos. Al término de este tiempo se dejó reposar 15 minutos y se transfirieron 1,5 mL del sobrenadante a un tubo Eppendorf que fue centrifugado a 5 °C 10 minutos y a 11.000 r.p.m. Luego el sobrenadante resultante se pasó a través de un filtro de 0,22  $\mu\text{m}$  de diámetro y se guardaron 0,9 mL en frascos ámbar y a -20 °C. Cada muestra fue procesada por triplicado ( $n= 81$ ). Para el análisis del ergosterol por HPLC se utilizó un equipo Waters LC 4000 equipado con un detector UV (Waters 486: Tunable Absorbance Detector), una bomba (Waters Prep. L C System Controller), un inyector (Waters Delta Prep 4000) y una columna de fase reversa  $C_{18}$ . La detección se hizo a 281 nm y como fase móvil se utilizó metanol (HPLC grade) a una velocidad de flujo de 1 mL  $\text{min}^{-1}$ . Antes de los análisis, el metanol fue desgaseado por 15 minutos en un baño de ultrasonido. La presión de la columna fue mantenida a 850-900 psi; en estas condiciones el tiempo de retención fue de 3-4 minutos. El volumen de muestra inyectado fue de 20  $\mu\text{L}$ . Se construyó una curva de calibración a partir de patrones con diferentes concentraciones de ergosterol (Sigma, min. 70%). Para calcular el equivalente en biomasa fúngica seca se consideró el factor de conversión de 250  $\mu\text{g}$  de biomasa fúngica por  $\mu\text{g}$  de ergosterol (Montgomery *et al.*, 2000) y un contenido de carbono en la biomasa fúngica de 45% (Rousk y Baath, 2007).

**Biomasa microbiana ( $C_{\text{mic}}$ ):** La cantidad de C microbiano se determinó por el método de respiración inducida por sustrato. Para ello se pesaron 50 gramos de suelo seco, se inocularon con una suspensión de suelo fresco preparada como se indica anteriormente (reactivación de la población microbiana, *inóculo de suelo fresco*), y se ajustó el contenido de humedad agregando agua destilada en cantidad suficiente para alcanzar el 95% de su capacidad de campo. Los suelos se preincubaron en oscuridad por dos días, se incubaron a 22 °C en un respirómetro de medición continua RESPICOND III

(Nordgren, 1988) por 28 días y entonces se le agregaron 2500 mg glucosa  $\text{kg}^{-1}$  suelo. Para el cálculo de la biomasa microbiana se consideró el valor de velocidad de respiración ( $\text{mg CO}_2 \text{ h}^{-1}$ ) cinco horas después de agregada la glucosa.

El valor de biomasa microbiana se determinó a partir de la ecuación de Anderson y Domsh (1978):

$$X=40,04 \times Y+0,37 \quad \text{donde } X= C \text{ microbiano } (\mu\text{g C g}^{-1} \text{ suelo})$$

Y= valor de la actividad respiratoria 5 horas

después de agregar glucosa ( $\mu\text{l CO}_2 \text{ h}^{-1} \text{ g}^{-1}$  suelo)

**Biomasa bacteriana ( $C_b$ ):** La biomasa bacteriana ( $C_b$ ) se calculó restando el valor de la biomasa fúngica al de la biomasa microbiana ( $C_{mic}$ ).

**Análisis estadístico:** Los análisis estadísticos se hicieron con el paquete STATISTICA 4.5 (Statsoft, INC, 1993). Los valores del número más probable de microorganismos (NMP) fueron normalizados mediante el  $\log_{10}$ , ( $\log \text{ NMP}$ ) antes de hacer el ANOVA clásico. Las diferencias entre las medias fueron determinadas con la prueba HSD (distancias imparciales significativas) de Tukey. Los datos de  $C_{mic}$ ,  $C_{mic}/C_{total}$  (%),  $C_f$ ,  $C_b$  y  $C_f/C_b$  fueron evaluados con el test de Shapiro-Wilk para verificar si cumplían los supuestos de normalidad. Las variables que no cumplieron con tales supuestos fueron transformados con  $\log_{10}$  y una vez verificada su normalización fueron evaluados con ANOVA, y la prueba HSD para establecer las diferencias entre las medias. Para el análisis de correlación entre las variables bióticas (estructura de las comunidades microbianas) y las abióticas, se utilizaron los datos sin transformar (NMP) y se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman (prueba no paramétrica).

El porcentaje de grupos funcionales (Fig. 1 y Fig. 2) corresponde a los valores de población no transformados con logaritmo.

**Análisis de Componentes Principales:** Las relaciones entre las variables estudiadas fueron analizadas mediante el programa CANOCO versión 4.0 (1998). Para ello, se utilizaron los datos del  $\log \text{ NMP}$ , centrados y estandarizados.

### 5.3. Resultados

En las Tablas 5.1, 5.2, 5.3 y 5.4 se muestran los resultados del estudio de las poblaciones microbianas, expresados como el logaritmo del número más probable (log NMP) de organismos por gramo de suelo seco. En general, los resultados indican, que tanto en los ecosistemas naturales como en los cultivos, las bacterias predominaron numéricamente sobre los propágulos de hongos y que de los grupos funcionales estudiados, los amonificantes fueron, excepto en Cacute-bosque, más abundantes que los proteolíticos, y estos más abundantes que los amilolíticos (excepto en La Mucuy- selva). Por su parte, los amilolíticos fueron, siempre superiores que los celulolíticos. También, los resultados muestran claramente que, con la conversión de ecosistemas naturales a agroecosistemas, las comunidades microbianas de páramos y bosques respondieron de manera diferente. En los cultivos de papa, aumentaron los valores de algunos grupos de microorganismos: los celulolíticos, en los dos sitios estudiados, mientras que los amilolíticos lo hicieron en Los Pozos, y los proteolíticos, copiotrofos y bacterias heterótrofas totales en Los Bahitos. Ningún grupo de los páramos disminuyó su población. Los valores de propágulos de hongos se mantuvieron inalterados en todos los sitios de páramo.

En los bosques, ocurrió algo muy diferente: las comunidades microbianas disminuyeron su población. Lo hicieron con la conversión a maíz y en menor medida con la conversión a potrero. En la Tabla 5.3 vemos que, respecto a la conversión a maíz, en los dos sitios disminuyeron las poblaciones de bacterias heterótrofas, los amonificantes, copiotrofos y los propágulos de hongos. Los celulolíticos, por otra parte, o se mantuvieron igual, como ocurrió en Cacute o aumentaron, como pasó en La Mucuy (y en los páramos). En la conversión a pastura la respuesta fue intermedia: disminuyeron únicamente y en menor magnitud, la población total y la de proteolíticos. Con los oligotrofos ocurrió algo muy interesante: fue el único grupo que con la conversión aumentó en Cacute y entre todos los suelos estudiados, ya que en la Mucuy disminuyeron, mientras que en el páramo no mostraron cambios

***Ecosistemas naturales:*** En general, los resultados (Tabla 5.1) de la estructura de las poblaciones microbianas de los ecosistemas naturales, indican que las muestras del páramo de Los Bahitos poseen las menores poblaciones de bacterias heterótrofas y en consecuencia de la mayoría de los grupos funcionales estudiados. Resalta también la elevada población de propágulos respecto a las bacterias en los suelos de Los Bahitos, la baja relación oligotrofos/copiotrofos de Cacute-bosque y la relativa escasez de microorganismos proteolíticos en La Mucuy.

En la Tabla 5.1 se observa que los suelos de bosques (La Mucuy-selva, Cacute- bosque) poseen mayores valores ( $p < 0,05$ ) de bacterias heterótrofas que los suelos de páramo. Los suelos con menor población de bacterias heterótrofas fueron los de Los Bahitos páramo ( $6,33 \pm 0,08$ ) mientras que Cacute-bosque fue el que presentó mayor población ( $8,90 \pm 0,08$ ). En cuanto a los microorganismos de los

grupos fisiológicos que intervienen en el ciclo del carbono (celulolíticos y amilolíticos) el suelo de Cacute-bosque los presenta en mayor cantidad ( $p < 0,05$ ). De los microorganismos que participan en el ciclo del nitrógeno, en Los Bahitos-páramo encontramos menor densidad de amonificantes mientras que en relación a los proteolíticos, llama la atención los valores contrastantes encontrados en los dos suelos de bosques: en Cacute-bosque encontramos su máximo valor ( $8,10 \pm 0,39$ ) mientras que en La Mucuy-selva, se detectaron los mínimos ( $5,61 \pm 0,12$ ).

De la misma manera, los microorganismos oligotrofos, muestran valores muy contrastantes en los suelos de bosques. En La Mucuy-selva alcanzan el valor máximo ( $8,18 \pm 0,09$ ) mientras que en Cacute-bosque presentan tan solo  $5,77 \pm 0,08$ . La relación oligotrofos/copiotrofos no muestra ser diferente entre los suelos de páramo mientras que en Cacute-bosque su valor es de tan sólo 0,69. Los valores de propágulos de hongos no mostraron diferencias entre los suelos de ecosistemas naturales y oscilaron entre  $5,37 \pm 0,30$  y  $5,90 \pm 0,43$ .

En cuanto a la biomasa microbiana ( $C_{mic}$ ) y fúngica de los suelos destaca por su magnitud los valores encontrados en Cacute-bosque (Tabla 5.5.A). La proporción de C microbiano respecto al C total, estuvo entre 0,35 y 0,38% para los suelos de páramo y de La Mucuy mientras que en Cacute-bosque, dicho valor fue de casi 17,5%. Resaltan los altos valores de desviación típica para el carbono microbiano ( $C_{mic}$ ), fúngico ( $C_f$ ) y en consecuencia de  $C_b$  y  $C_f/C_b$  de las muestras de Los Pozos-páramo lo cual dificulta interpretar, cuál es la tendencia de la relación entre la biomasa bacteriana y la fúngica. En los suelos de bosques, sin embargo, pareciera que la relación entre las biomásas tiende a favorecer a la biomasa bacteriana sobre la fúngica.

**Páramos y cultivos de papa:** En la Tabla 5.2 se muestran los resultados de las muestras de suelo de páramo y los cultivos de papa. Con la conversión, en Los Bahitos aumentó ( $p < 0,05$ ) el número de bacterias heterótrofas totales, los microorganismos celulolíticos, proteolíticos, copiotrofos y disminuyó la relación oligotrofos/copiotrofos, mientras que en Los Pozos, con la conversión, los cambios fueron menos acentuados: la población de bacterias heterótrofas totales no cambió significativamente en número aunque sufrió una reestructuración interna ya que aumentaron ( $p < 0,05$ ) los microorganismos que participan en el ciclo de carbono (amilolíticos y celulolíticos). Llama la atención en estos suelos, una ligera disminución (aunque no significativa) del número de microorganismos amonificantes y proteolíticos. Es decir, mientras en Los Bahitos, con la conversión, aumenta ( $p < 0,05$ ) la población total de bacterias y de los celulolíticos y proteolíticos, en Los Pozos la población de bacterias heterótrofas totales no varió de manera importante, pero sin embargo, si aumentaron ( $p < 0,05$ ) los microorganismos del ciclo del carbono (amilolíticos y celulolíticos), mientras que los del nitrógeno disminuyeron ligeramente (no significativamente). Además, mientras en Los

Bahitos la relación oligotrofos/copiotrofos disminuyó con la conversión, en Los Pozos se mantuvo igual. El orden en el tamaño de la población de los grupos funcionales fue amonificantes >proteolíticos>amilolíticos>celulolíticos

En la Tabla 5.5.B se observa que, con la conversión de páramo a cultivo de papa, la biomasa microbiana ( $C_{mic}$ ) y a la relación  $C_{mic}/C_{total}$  tiende a aumentar, aunque no siempre de manera significativa

En la Figura 5.1.A se representa la proporción de cada grupo en relación a la población total de bacterias heterótrofas presentes en los suelos de páramo y los cultivos de papa. Vemos que con la conversión, y en lo que respecta a la proporción de amilolíticos, proteolíticos y propágulos, (Fig. 5.1.A), Los Bahitos, muestra tendencia (aunque no significativa) a la disminución en la proporción de todos estos grupos funcionales. Lo que si es significativo ( $p < 0,05$ ) es que, comparando los dos suelos de páramo natural (BF y PF), aunque Los Bahitos-páramo (BF) tiene una menor población total de bacterias heterótrofas (Tabla 5.2), los resultados indican que (Figuras 5.1.A y 5.1.B) su población relativa de amilolíticos, proteolíticos, propágulos de hongos y celulíticos es superior a la de Los Pozos-páramo (PF). Con los celulolíticos (Fig 5.1.B) la tendencia es a que con la conversión su proporción aumente aunque sólo es significativo ( $p < 0,05$ ) en Los Pozos. Los amonificantes por su parte, con la conversión tienden a disminuir (no significativamente).

**Bosques y cultivos:** Con la conversión, la población de bacterias heterótrofas disminuyó en el cultivo de maíz, en alrededor de una unidad logarítmica, y media unidad logarítmica en la pastura (Tabla 5.3.). Los grupos funcionales, por su parte mostraron tendencias diferentes: en Cacute, con la conversión a pastura, no se detectaron cambios significativos en los microorganismos del ciclo del carbono (amilolíticos y celulolíticos) ni en los amonificantes, mientras que los proteolíticos si disminuyeron una y media unidad logarítmica, mientras que los microorganismos oligotrofos y la relación oligotrofos/copiotrofos, aumentaron de manera importante. Los valores de propágulos de hongos, no mostraron diferencias entre el bosque y la pastura. Con relación a la conversión a cultivo de maíz, en Cacute, la población heterótrofa total, disminuyó más aún que con la conversión a pastura, así como también disminuyeron de manera significativa los amilolíticos y los propágulos de hongos, mientras aumentaron los oligotrofos y la relación oligotrofos/copiotrofos. En general, en Cacute, se observa un mayor impacto sobre las poblaciones microbianas en la conversión a cultivo de maíz que a potrero. Dicho impacto se traduce en la disminución general de las poblaciones de bacterias heterótrofas y de los propágulos de hongos, así como de algunos grupos funcionales y el aumento en los microorganismos oligotrofos.

**Tabla 5.1.** Poblaciones microbianas de los suelos de páramos y bosques (log NMP g<sup>-1</sup> suelo seco) (Media ± DE).

	<b>Los Bahitos Páramo</b>	<b>Los Pozos Páramo</b>	<b>Cacute Bosque</b>	<b>La Mucuy Selva</b>
<b>Bacterias</b>	6,33±0,08(a)	7,96±0,08(b)	8,90±0,078(c)	8,33±0,09(d)
<b>Celulolíticos</b>	2,87±0,24(a)	3,16±0,39(a)	4,41±0,50(b)	3,04±0,23(a)
<b>Amilolíticos</b>	5,55±0,25(a)	5,76±0,30(a)	6,52±0,38(b)	5,78±0,32(a)
<b>Amonificantes</b>	6,24±0,47(a)	7,92±0,20(b)	8,05±0,27(b)	8,26±0,18(b)
<b>Proteolíticos</b>	5,90±0,24(a)	6,68±0,01(b)	8,10±0,39(c)	5,61±0,12(a)
<b>Oligotrofos</b>	6,20±0,21(a)	7,94±0,13(b)	5,77±0,08(a)	8,18±0,28(c)
<b>Copiotrofos</b>	6,32±0,10(a)	7,85±0,23(b)	8,37±0,11(c)	8,18±0,09(b)
<b>Oligo/Copio*</b>	0,98±0,02(a)	1,01±0,02(a)	0,69±0,01(b)	1,00±0,04(a)
<b>Propágulos</b>	5,37±0,30(a)	5,80±0,01(a)	5,60±0,18(a)	5,90±0,43(a)

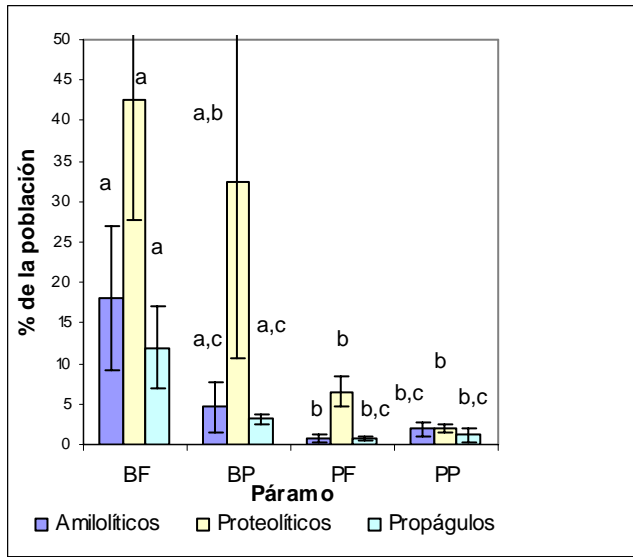
\* Log NMP oligotrofos/log NMP copiotrofos. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los suelos (p<0,05).

**Tabla 5.2.** Poblaciones microbianas de los suelos de páramos y cultivos de papa (log NMP g<sup>-1</sup> suelo seco) (Media ± DE).

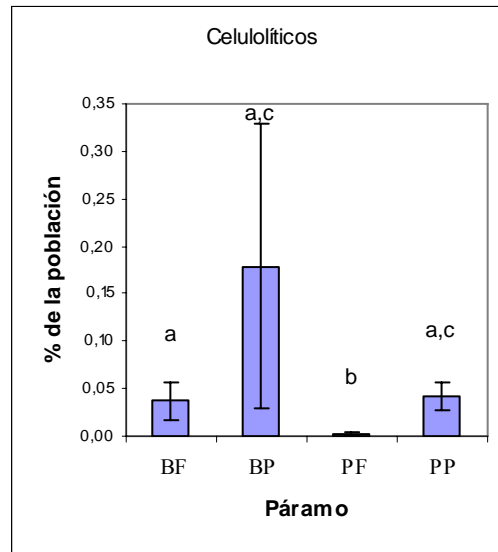
	<b>Los Bahitos Páramo</b>	<b>Los Pozos Páramo</b>	<b>Cacute Bosque</b>	<b>La Mucuy Selva</b>
<b>Bacterias</b>	6,33±0,08(a)	7,20±0,09(b)	7,96±0,08(c)	8,13±0,25(c)
<b>Celulolíticos</b>	2,87±0,24(a)	4,09±0,29(b)	3,16±0,39(a)	4,73±0,15(b)
<b>Amilolíticos</b>	5,55±0,25(a)	5,79±0,31(a)	5,76±0,30(a)	6,25±0,16(b)
<b>Amonificantes</b>	6,24±0,47(a)	6,85±0,23(a,c)	7,92±0,20(b)	7,34±0,12(b,c)
<b>Proteolíticos</b>	5,90±0,24(a)	6,63±0,23(b)	6,68±0,01(b)	6,42±0,14(b)
<b>Oligotrofos</b>	6,20±0,21(a)	6,12±0,37(a)	7,94±0,13(b)	8,01±0,36(b)
<b>Copiotrofos</b>	6,32±0,10(a)	7,18±0,30(b)	7,85±0,23(b,c)	8,11±0,36(c)
<b>Oligo/Copio*</b>	0,98±0,02(a)	0,85±0,07(b)	1,01±0,02(a)	0,99±0,04(a)
<b>Propágulos</b>	5,37±0,30(a)	5,71±0,03(a)	5,80±0,01(a)	6,03±0,53(a)

\* Log NMP oligotrofos/log NMP copiotrofos. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los suelos (p<0,05).

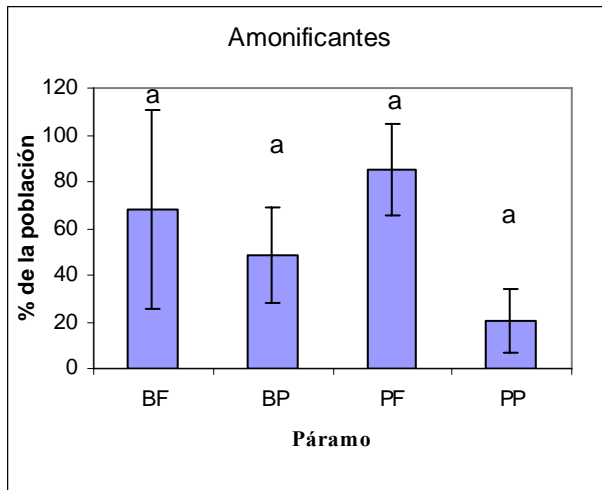
A



B



C



**Figura 5.1.** Porcentaje (%) de grupos funcionales respecto a la población total de bacterias heterótrofas presentes en los suelos de páramo.

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). BF, Los Bahitos, páramo; BP, Los Bahitos, cultivo de papa; PF, Los Pozos, páramo; PP, Los Pozos, cultivo de de papa.

En La Mucuy, con la conversión, también ocurrió la disminución, en una unidad logarítmica, de las poblaciones de bacterias heterótrofas y microorganismos amonificantes, de las bacterias oligotrofas y copiotrofas y de los propágulos de hongos, mientras que los celulolíticos aumentaron de manera importante su población.

Por otra parte, vemos (Fig. 5.2) que en La Mucuy con la conversión a cultivo de maíz, la proporción de celulolíticos, amilolíticos y proteolíticos, aumenta de manera significativa ( $p < 0,05$ ), mientras que en Cacute, el aumento ( $p < 0,05$ ) ocurre, tanto en los suelos de pastura como de maíz, pero únicamente entre los celulolíticos, mientras que los proteolíticos disminuyen.

En cuanto a la biomasa microbiana ( $C_{mic}$ ), ésta claramente disminuye ( $p < 0,05$ ) mientras que la relación  $C_{mic}/C_{total}$ , se mantiene invariable en La Mucuy y disminuye ( $p < 0,05$ ) en Cacute (Tabla 5.5.C). La biomasa fúngica ( $C_f$ ) disminuye también ( $p < 0,5$ ) en la conversión de bosques a cultivos. En Cacute, esta disminución es mayor en el cultivo de maíz que en el potrero, en donde mantiene valores intermedios.

**Tabla 5.3.** Poblaciones microbianas de los suelos de bosques y sus cultivos asociados (log NMP/g<sup>-1</sup> suelo seco) (Media ± DE).

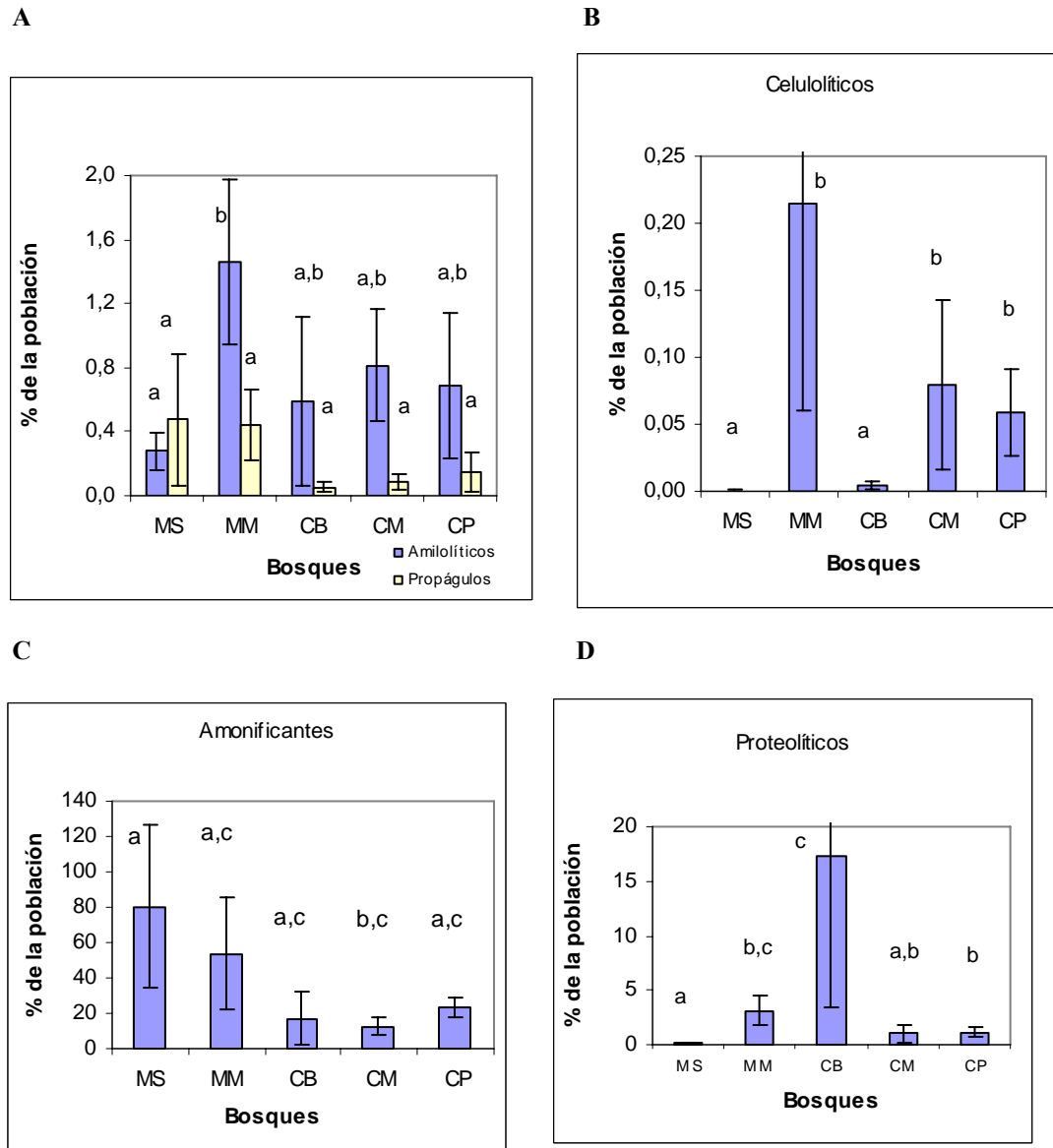
	<b>Cacute Bosque</b>	<b>Cacute Potrero</b>	<b>Cacute Maíz</b>	<b>La Mucuy Selva</b>	<b>La Mucuy Maíz</b>
<b>Bacterias</b>	8,90±0,07(a)	8,41±0,30(b)	7,85±0,17(c)	8,33±0,09(b)	7,35±0,35(d)
<b>Celulolíticos</b>	4,41±0,50(a)	5,06±0,19(a)	4,51±0,23(a)	3,04±0,23(b)	4,57±0,25(a)
<b>Amilolíticos</b>	6,52±0,38(a)	6,14±0,10(a,c)	5,75±0,11(b,c)	5,78±0,32(b,c)	5,48±0,13(b)
<b>Amonificantes</b>	8,05±0,27(a)	7,88±0,27(a)	6,98±0,08(b)	8,26±0,18(a)	7,04±0,23(b)
<b>Proteolíticos</b>	8,10±0,39(a)	6,48±0,18(b)	5,82±0,11(c)	5,61±0,12(c)	5,82±0,14(c)
<b>Oligotrofos</b>	5,77±0,08(a)	7,73±0,12(b)	6,89±0,15(c)	8,18±0,28(d)	6,87±0,28(c)
<b>Copiotrofos</b>	8,37±0,11(a)	8,04±0,09(a,c)	7,72±0,10(b,c)	8,18±0,09(a)	7,12±0,21(d)
<b>Oligo/copio*</b>	0,69±0,01(a)	0,96±0,02(b,d)	0,89±0,03(b)	1,00±0,04(c,d)	0,97±0,02(b,c)
<b>Propágulos</b>	5,60±0,18(a,c)	5,41±0,38(a,b)	4,67±0,24(b)	5,90±0,43(a)	4,96±0,16(b,c)

\*Log NMP oligotrofos/log NMP copiotrofos. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los suelos (p<0,05).

**Tabla 5.4.** Poblaciones microbianas de los suelos de cultivo (log NMP/g<sup>-1</sup> de suelo seco)(Media±DE).

	<b>Los Bahitos Papa</b>	<b>Los Pozos Papa</b>	<b>Cacute Maíz</b>	<b>Cacute Potrero</b>	<b>La Mucuy Maíz</b>
<b>Bacterias</b>	7,20±0,09(a)	8,13±0,25(b,d)	7,85±0,17(b,c)	8,41±0,30(d)	7,35±0,35(a,c)
<b>Celulolíticos</b>	4,09±0,29(a)	4,73±0,15(b)	4,51±0,23(a,b)	5,06±0,19(b)	4,57±0,25(a,b)
<b>Amilolíticos</b>	5,79±0,31(a,b)	6,25±0,16(b)	5,75±0,11(a,c)	6,14±0,10(c,b)	5,48±0,13(a)
<b>Amonificantes</b>	6,85±0,23(a)	7,34±0,12(a)	6,98±0,08(a)	7,88±0,27 (b)	7,04±0,23(a)
<b>Proteolíticos</b>	6,63±0,23(a)	6,42±0,14(a)	5,82±0,11(b)	6,48±0,18(a)	5,82±0,14(b)
<b>Oligotrofos</b>	6,12±0,37(a)	8,01±0,36(b)	6,89±0,15(c)	7,73±0,12(b)	6,87±0,28(c)
<b>Copiotrofos</b>	7,18±0,30(a)	8,11±0,36(b)	7,72±0,10(a,b)	8,04±0,09 (b)	7,12±0,21(a)
<b>Oligo/copio*</b>	0,85±0,07(a)	0,99±0,04(b)	0,89±0,03(a,b)	0,96±0,02(a,b)	0,97±0,02(a,b)
<b>Propágulos</b>	5,71±0,03(a,c)	6,03±0,53(a)	4,67±0,24(b)	5,41±0,38(a,b)	4,96±0,16(c,b)

\* Log NMP oligotrofos/log NMP copiotrofos. Letras diferentes indican diferencias significativas entre los suelos (p<0,05).



**Figura 5.2.** Proporción (%) de grupos funcionales respecto a la población total de bacterias heterótrofas presentes en los suelos de bosques y sus cultivos.

Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). MS, La Mucuy, selva; La Mucuy maíz; CB, Cacute, bosque; CM, Cacute, maíz; CP, Cacute, potrero.

**Cultivos:** En la Tabla 5.4 se muestran los resultados de las poblaciones microbianas de los suelos de cultivo. En ella podemos ver que el potrero de Cacute presenta mayor ( $p < 0,05$ ) población de bacterias heterótrofas que la de los dos cultivos de maíz y que la del cultivo de Los Bahitos. Vemos también que en los cultivos, los valores de log NMP de bacterias heterótrofas varían entre  $7,20 \pm 0,09$  y  $8,41 \pm 0,30$ , es decir, 1,2 unidades logarítmicas, menos que la variación observada en la misma población de los ecosistemas naturales (Tabla 5.1) que fue de casi 2,6 unidades. Esto porque en un extremo, con la conversión, la población de Los Bahitos aumenta, mientras que en el otro extremo -Cacute-, la población disminuye, por lo que la brecha se hace menor.

La población de propágulos de hongos, varió entre  $4,67 \pm 0,24$  y  $6,03 \pm 0,53$ , es decir, 1,36 unidades logarítmicas, mientras que en los ecosistemas naturales (Tabla 5.3) la variación fue menor, de 0,53 unidades. Los resultados muestran además que entre los dos cultivos de maíz ninguno de los parámetros que se midieron muestra diferencias significativas ( $p < 0,05$ ), a diferencia de lo encontrado en los dos cultivos de papa, en donde Los Pozos presenta mayores valores ( $p < 0,05$ ) de bacterias heterótrofas, celulolíticos, oligotrofos, copiotrofos, y relación oligotrofos/copiotrofos.

En cuanto a los resultados de biomasa (Tabla 5.5.D) estos sugieren que, el potrero tiende a conservar mayores valores de biomasa microbiana que los demás cultivos, por lo que sus valores de  $C_{mic}/C_{total}$  son también mayores. Los cultivos de papa de Los Pozos y el potrero de Cacute mostraron las más altas cantidades ( $p < 0,05$ ) de C fúngico mientras que el menor valor de este parámetro se reportó en el cultivo de maíz de La Mucuy. El potrero de Cacute, mostró además los mayores valores de C bacteriano, ( $305,4 \pm 39,9$  mg C  $kg^{-1}$  suelo), mientras que en los demás cultivos oscilaron entre  $94,5 \pm 15,5$  y  $102,5 \pm 10,0$  mg C  $kg^{-1}$  suelo.

**Humedad de los suelos:** La Tabla 5.6 muestra los valores de humedad que tenían los suelos frescos. Lo más llamativo es el alto contenido de agua de los suelos de La Mucuy-selva (49%), superior a su capacidad de campo (44,9%). Todas las demás muestras están por debajo pero especialmente las de Cacute-bosque que tienen cerca del 38% de contenido de agua que a su capacidad de campo.

**Tabla 5.5.** Biomasa microbiana de los suelos

	$C_{mic}$	$C_{mic}/C_{total}(\%)$	§E	$C_f$	$C_b$	$C_f/C_b$
<b>A. Páramos y bosques</b>						
Bahitos, páramo	140,7±18,8(a)	0,35±0,03(a)	0,87±0,29(a)	98,1±32,3(a)	74,8±35,1(a)	1,29±0,87(a)
Pozos, páramo	181,8±62,2(a)	0,38±0,12(a)	1,40±0,75(a)	157,2±84,5(a)	92,3±46,3(a,c)	1,77±1,79(a)
Cacute, bosque	14143±1381b	17,5±0,01(b)	5,03±0,62(b)	566,4±69,3(b)	13560±1293(b)	0,043±0,003(b)
Mucuy, selva	222,6±25,8(a)	0,38±0,03(a)	0,38±0,24(a)	42,8±27,1(a)	179,4±19,9(c)	0,24±0,16(a)
<b>B. Páramos y papa</b>						
Bahitos, páramo	140,7±18,8(a)	0,35±0,03(a)	0,87±0,29(a,b)	98,1±32,3(a,b)	74,77±35,06(a)	1,29±0,87(a)
Bahitos, papa	152,8±24,4(a)	0,65±0,12(b)	0,52±0,22(a)	58,4±24,3(a)	94,45±15,53(a)	0,64±0,30(a)
Pozos, páramo	181,8±62,2(a)	0,38±0,12(a)	1,40±0,75(a,b)	157,2±84,5(a,b)	92,3±46,3(a)	1,77±1,79(a)
Pozos, papa	297,6±25,8(b)	0,54±0,04(a,b)	1,73±0,15 (b)	195,1±16,7(b)	102,49±10,0(a)	1,91±0,09(a)
<b>C. Bosques y cultivos</b>						
Cacute, bosque	14143±1383a	17,5±0,01(a)	5,03±0,62(a)	566,4±69,3(a)	13560±1293(a)	0,043±0,003(a)
Cacute, potrero	490,7±49,6(b)	0,98±0,11(b)	1,65±0,43(b)	185,3±48,1(b)	305,4±39,9(b)	0,62±0,22(b)
Cacute, maíz	147,8±8,2(c,d)	0,57±0,08(c)	0,42±0,06(c)	47,6±6,3(c)	99,53±0,5(c)	0,49±0,09(b,c)
Mucuy, selva	222,6±25,8(c)	0,38±0,03(c)	0,38±0,24(c)	42,8±27,1(c)	179,4±19,9(c)	0,24±0,16(b,c)
Mucuy, maíz	113,9±48,4(d)	0,49±0,19(c)	0,10±0,02(d)	11,7±2,7(d)	102,2±49,8(c)	0,14±0,07(c)
<b>D. Cultivos</b>						
Bahitos, papa	152,8±24,4(a)	0,65±0,12(a,b)	0,52±0,22(a)	58,4±24,3(a)	94,45±15,53(a)	0,64±0,30(a)
Pozos, papa	197,6±25,8(b)	0,54±0,04(a)	1,73±0,15(b)	195,1±16,7(b)	102,49±10,0(a)	1,91±0,09(b)
Cacute, maíz	147,8±8,2(a)	0,57±0,08(a)	0,42±0,06(a)	47,6±6,3(a)	99,53±0,53(a)	0,49±0,09(a)
Cacute, potrero	490,7±49,6(b)	0,98±0,11(b)	1,65±0,43(b)	185,3±48,1(b)	305,39±39,85(b)	0,62±0,22(a,b)
Mucuy, maíz	113,9±48,4(a)	0,40±0,19(a)	0,10±0,02(c)	11,7±2,7(c)	102,19±49,77(a)	0,14±0,07(c)

\*mg C kg<sup>-1</sup> suelo; §Ergosterol (µg g<sup>-1</sup> suelo seco);  $C_{mic}$ , C microbiano;  $C_t$ , C total;  $C_f$ , C fúngico;  $C_b$ , C bacteriano. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los suelos dentro de cada grupo (A, B, C, D) y de cada parámetro ( $C_{mic}$ ,  $C_f$ , etc.).

**Tabla 5.6.** Contenido de agua (%) de los suelos.

<b>A. Páramos y bosques</b>		<b>B. Páramos y papa</b>	
Bahitos, páramo	18,51±1,88(a)	Bahitos, páramo	18,51±1,88(a,b)
Pozos, páramo	20,80±0,88(a)	Bahitos, papa	14,86±1,50(a)
Cacute, bosque	19,21±1,28(a)	Pozos, páramo	20,80±0,88(b)
Mucuy, selva	49,04±5,34(b)	Pozos, papa	28,55±1,44(c)
<b>C. Bosques y cultivos</b>		<b>D. Cultivos</b>	
Cacute, bosque	19,21±1,28(a)	Bahitos, papa	14,86±1,50(a)
Cacute, potrero	20,10±1,96(a)	Pozos, papa	28,55±1,44(b)
Cacute, maíz	14,09±2,11(a)	Cacute, maíz	14,09±2,11(a)
Mucuy, selva	49,04±5,34(b)	Cacute, potrero	20,10±1,96(c)
Mucuy, maíz	21,50±1,57(a)	Mucuy, maíz	21,50±1,57(c)

Los valores representan el porcentaje de agua en las muestras. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre los suelos dentro de cada grupo (A, B, C, D).

**Correlaciones entre las variables estudiadas:** En la Tabla 5.7 se muestran los resultados del cálculo de los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables de las poblaciones microbiana y las diferentes expresiones de la biomasa microbiana. En general se observa el predominio de correlaciones positivas de los grupos funcionales entre sí y con los valores de biomasa microbiana. Las más fuertes correlaciones (en orden descendente) se encontraron entre los valores de las Bacterias heterótrofas (BH) y los organismos copiotrofos, amonificantes, el  $C_{mic}$  y el C bacteriano. Llama la atención no haber encontrado correlación entre la población de propágulos y el C fúngico.

En la Tabla 5.8 se presentan los resultados de los coeficientes de correlación de Spearman entre las propiedades bióticas y abióticas de los suelos. La mayoría de las correlaciones entre los valores de la estructura de las comunidades microbianas y las características fisicoquímicas del suelo mostraron valores positivos. La excepción lo constituye el P, que mostró valores negativos con respecto a los amonificantes (AM) y los oligotrofos (OL), el  $K^+$  respecto a la relación oligotrofos/copiotrofos, y el aluminio con relación a los microorganismos que participan en el ciclo del C (celulolíticos y amilolíticos). Además mostraron también correlaciones negativas, el contenido de arena y los oligotrofos, así como el pH y la conductividad con la relación oligotrofos/copiotrofos.

**Tabla 5.7.** Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables de la población y la biomasa microbiana considerando todos los suelos en conjunto.

	BH	CE	AL	AM	PR	OL	CO	O/C	PG	C <sub>mic</sub>	C <sub>mic</sub> /C <sub>total</sub>	C <sub>f</sub>	C <sub>b</sub>	C <sub>f</sub> /C <sub>b</sub>	
BH	1,00														
CE		1,00													
AL	0,66***	0,46*	1,00												
AM	0,81***		0,43*	1,00											
PR			0,43*		1,00										
OL				0,45*		1,00									
CO	0,92***		0,66***	0,79***			1,00								
O/C		-0,40*				0,70***		1,00							
PG				0,38*	0,42*				1,00						
C <sub>mic</sub>	0,79***		0,72***	0,65***	0,41*		0,77***			1,00					
C <sub>mic</sub> /C <sub>total</sub>	0,49**	0,57**	0,59***		0,41*		0,45*	-0,58**		0,70***	1,00				
C <sub>f</sub>	0,47*		0,62***		0,64**		0,49**			0,68***	0,48*	1,00			
C <sub>b</sub>	0,77***			0,62***			0,75***			0,79***	0,68***		1,00		
C <sub>f</sub> /C <sub>b</sub>								0,43*					-0,54**	1,00	

BH: bacterias heterotrofas; CE: celulolíticos; AL: amilolíticos; AM: amonificantes; PR: proteolíticos; OL: oligotrofos; CO: copiotrofos; O/C: relación oligotrofos/copiotrofos; PG: propágulos de hongos; C<sub>mic</sub>: carbono microbiano; C<sub>mic</sub>/C<sub>tot</sub>: relación C microbiano/ C total; C<sub>f</sub>: carbono fúngico; C<sub>b</sub>: carbono bacteriano; C<sub>f</sub>/C<sub>b</sub>: relación carbono fúngico/carbono bacteriano.

p≤0,05; \*\* p≤0,01; \*\*\*p≤0,001

**Tabla 5.8.** Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables que caracterizan a las poblaciones microbianas y las propiedades abióticas de los suelos, tomando en conjunto todos los suelos estudiados

	BH	CE	AL	AM	PR	OL	CO	O/C	PG	C <sub>mic</sub>	C <sub>mic</sub> /C <sub>total</sub>	C <sub>f</sub>	C <sub>b</sub>	C <sub>f</sub> /C <sub>b</sub>
<b>a</b>						-0,55**								-0,62***
<b>L</b>	0,48*			0,50**		0,68***	0,50**			0,44*				0,40*
<b>A</b>													-0,64***	0,67***
<b>pH</b>		0,68***	0,56**					-0,49**		0,41*	0,52**	0,44*		
<b>CT</b>	0,51**	0,56**	0,74***				0,55**	-0,42*		0,58**	0,62***	0,41*	0,46*	
<b>CC</b>	0,81***		0,60**	0,78***			0,82***			0,80***		0,60**	0,62***	
<b>CIC</b>	0,84***		0,66***	0,74***		0,38*	0,86***			0,75***		0,60***	0,55**	
<b>C<sub>t</sub></b>	0,77***		0,55**	0,78***			0,76***			0,74***		0,57**	0,58**	
<b>N<sub>t</sub></b>	0,84***		0,56**	0,81***			0,80***			0,78***		0,54**	0,63***	
<b>N<sub>amo</sub></b>	0,60**		0,45*	0,63***			0,61***			0,55**	0,38*		0,58**	
<b>N<sub>nitr</sub></b>													-0,40*	0,60***
<b>N<sub>inorg</sub></b>							0,48*		0,75***	0,52**		0,41*		
<b>C/N</b>				0,47*										0,38*
<b>P</b>				-0,60***		-0,40*								
<b>Ca<sup>++</sup></b>	0,54**	0,69***	0,49**				0,51**			0,50**	0,47*			
<b>Mg<sup>+</sup></b>	0,84***	0,60***	0,68***	0,54**			0,78***			0,74***	0,63***	0,55**	0,65***	
<b>Na<sup>+</sup></b>	0,54**	0,48*	0,41*			0,41*	0,48*			0,41*				
<b>K<sup>+</sup></b>	0,55**	0,55**	0,76***		0,51**		0,59**	-0,46*		0,62***	0,66***	0,65***		
<b>Al<sup>+++</sup></b>		-0,80***	-0,54**					0,53**		-0,41*	-0,70***			
<b>CH</b>	0,38*			0,57**	0,68***	0,40*		0,56**						

a: arena; L: limo; A: arcilla; pH: pH; CT: conductividad eléctrica; CC: capacidad de campo; CIC: capacidad de intercambio catiónico; C<sub>t</sub>: C total; N<sub>t</sub>: N total; N<sub>amo</sub>: N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; N<sub>nitr</sub>: N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>); N<sub>inorg</sub>: N inorgánico; C/N: relación carbono/nitrógeno; CH: humedad; BH: bacterias heterotrofas; CE: celulolíticos; AL: amilolíticos; AM: amonificantes; PR: proteolíticos; OL: oligotrofos; CO: copiotrofos; O/C: relación oligotrofos/copiotrofos; PG: propágulos de hongos; C<sub>mic</sub>: carbono microbiano; C<sub>mic</sub>/C<sub>tot</sub>: relación C microbiano/C total; C<sub>f</sub>: carbono fúngico; C<sub>b</sub>: carbono bacteriano; C<sub>f</sub>/C<sub>b</sub>: carbono fúngico/carbono bacteriano.

\* p≤0,05; \*\* p≤0,01; \*\*\*p≤0,001

Por otra parte, también la Tabla 5.8 muestra que las diferentes expresiones de la biomasa microbiana, mostraron, en general correlaciones positivas con las propiedades abióticas de los suelos, destacando las altas correlaciones entre la biomasa microbiana ( $C_{mic}$ ) y la capacidad de campo (CC), los contenidos de N y de C, la CIC y el  $Mg^{++}$ . Entre las correlaciones negativas, tenemos la del  $C_{mic}$  con el  $Al^{+++}$  y la del C bacteriano ( $C_b$ ) y los contenidos de N nítrico y arcilla.

**Análisis de Componentes Principales:** Los resultados muestran que los dos primeros componentes explican 45,1% y 30,3% de la variación, y el tercero, un 14,5% adicional. En la Figura 5.3 se observa que en el plano de ordenamiento se separan siete grupos de suelos: suelos de bosque de Cacute (CB) y de La Mucuy (MS), de páramo de Los Bahitos (BF) y los Pozos (PF), de cultivo de papa de Los Bahitos (BP), y de Los Pozos (PP), y el séptimo grupo, el único heterogéneo, constituido por los suelos de cultivos de maíz (CM, MM) y el potrero (CP).

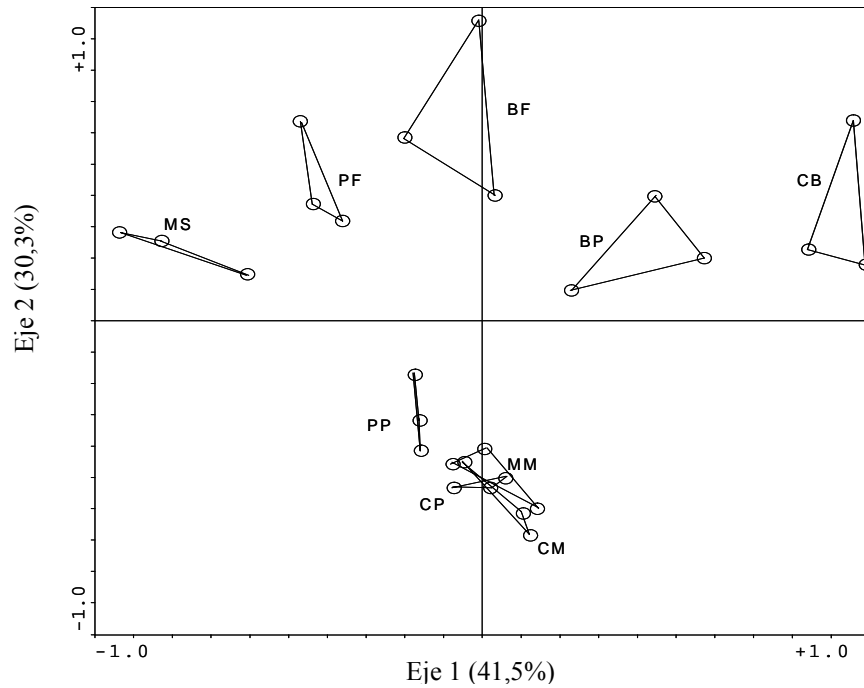
En la Figura 5.3 observamos los suelos de bosques (CB y MS) dispuestos de manera claramente opuesta a lo largo del primer eje, en el que CB se ubica en el extremo derecho, mientras que MS lo hace en el extremo izquierdo. Dado que el primer eje es el que tiene mayor importancia en el ordenamiento (45,1% de la variación) se puede inferir que las muestras de suelos de bosque son las que presentan mayores diferencias entre sí, con respecto a la estructura de las comunidades microbianas estudiadas se refiere.

También, en la parte positiva del primer eje, encontramos ubicados a los suelos de BP y luego, en el centro, un gran grupo de suelos constituidos por BF, MM, CP, CM y, en menor grado, PP, lo que estaría relacionado con similitudes en la estructura microbiana de estos suelos. Siguiendo el recorrido de este primer eje y ya en su porción más negativa encontramos a los suelos de PF y por último, a MS.

Si seguimos el ordenamiento en el segundo eje, vemos que éste separa a BP y a los suelos de los ecosistemas naturales (CB, MS, BF y PF) de los cultivos asociados a los bosques (CM, CP, MM) y de PP. Los suelos de PP, aunque forman un grupo aislado, están muy relacionados con los suelos cultivados con maíz y potrero.

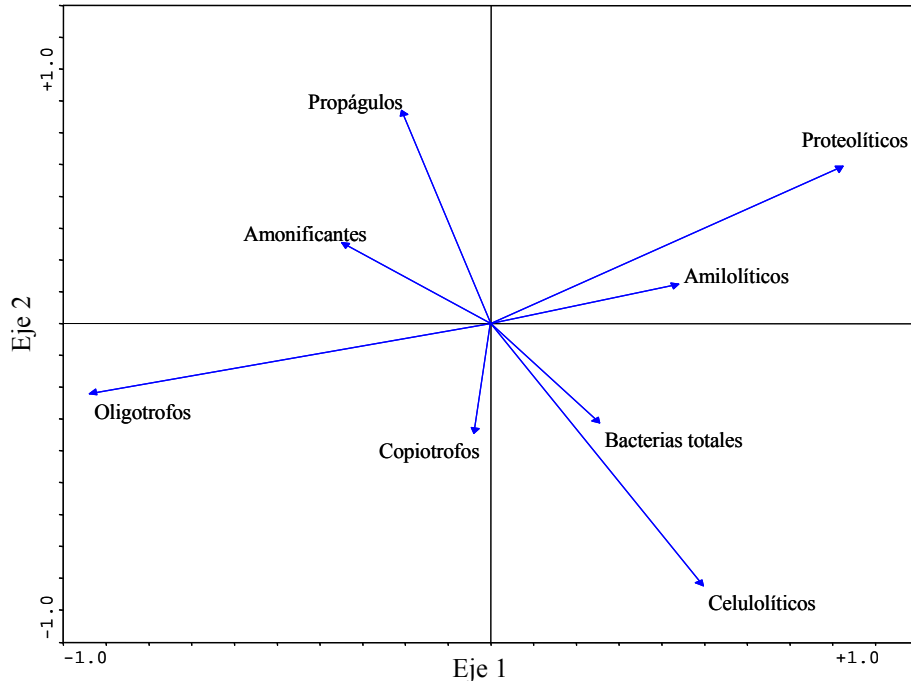
El análisis de la Figura 5.4 indica que el primer eje se asocia en su parte más positiva (donde están los suelos de bosque de Cacute (CB) y cultivo de papa de Los Bahitos (BP)) con altos valores de microorganismos proteolíticos. Este eje también se asocia con altos valores de microorganismos celulolíticos, como los encontrados en el potrero y los cultivos. La parte más negativa del primer eje está asociada con altos valores de microorganismos oligotrofos, tal y como ocurre en los suelos de MS, PF y PP.





**Figura 5.3.** Análisis de Componentes Principales centrado y estandarizado de las poblaciones de bacterias totales, amonificantes, proteolíticas, amilolíticas, celulolíticas propágulos de hongos, oligotrofos y copiotrofos presentes en los diferentes sitios muestreados.

BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: Mucuy, selva; MM: Mucuy, maíz.

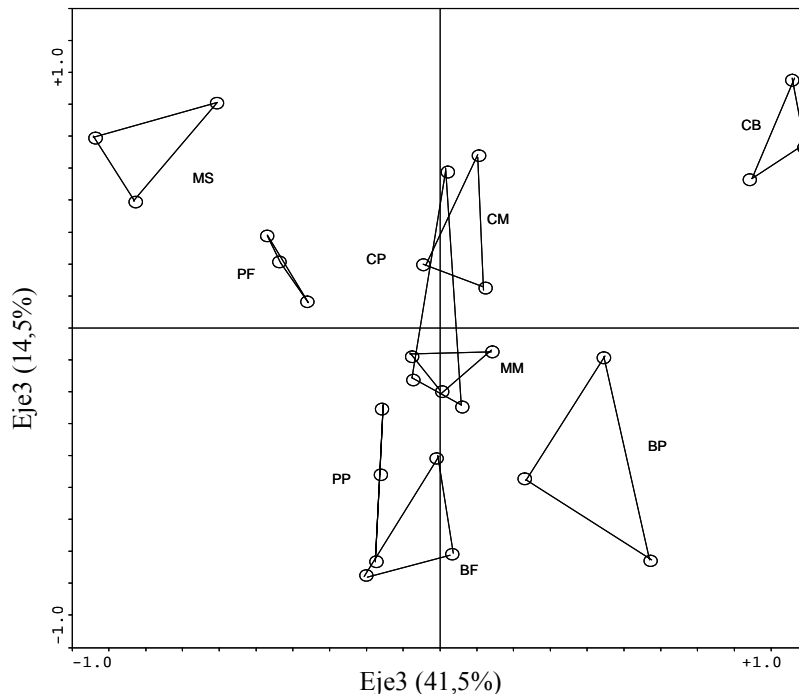


**Figura 5.4.** Análisis de Componentes Principales centrado y estandarizado de las poblaciones de bacterias totales, amonificantes, proteolíticas, amilolíticas, celulolíticas propágulos de hongos, oligotrofos y copiotrofos presentes en los diferentes sitios muestreados.

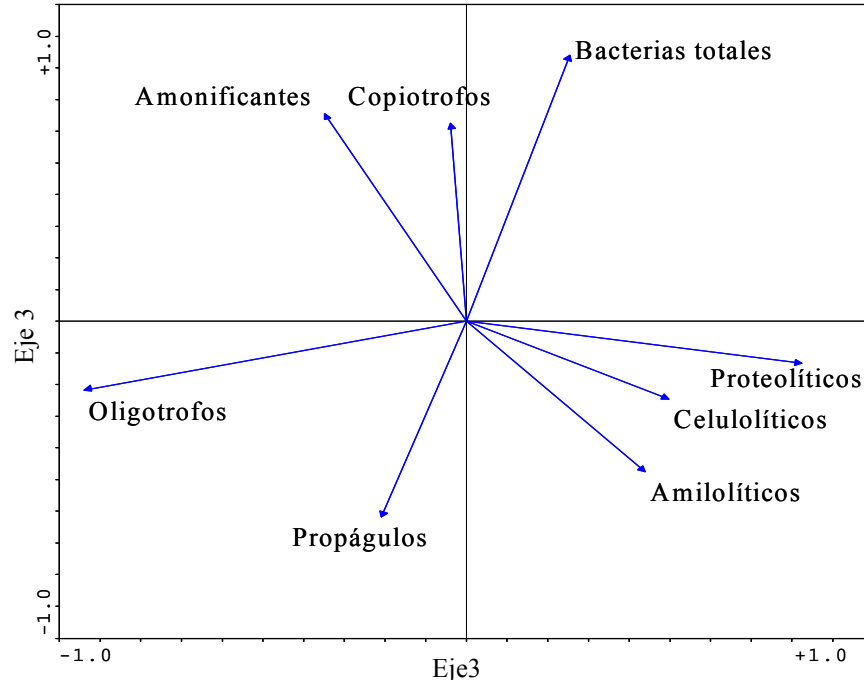
El segundo eje de la Figura 5.4, asociado a los suelos de ecosistemas naturales y BP, encontramos valores superiores de propágulos de hongos.

La Figura 5.5 muestra el resultado del ordenamiento de los ejes uno y tres. A lo largo del eje uno, los suelos siguen manteniendo su distribución tal y como se describe en la figura anterior, mientras que el tercer eje muestra en su parte más positiva a los suelos de bosque (CB, MS) y en la más negativa a los de BF, BP y PP, mientras que PF y los suelos cultivados de Cacute y La Mucuy tienden a ocupar posiciones centrales. Los suelos de bosque a su vez están asociados a valores superiores de bacterias heterótrofas, amonificantes y copiotrofas, mientras que los suelos ubicados en la parte negativa del eje tres están asociados con mayores valores de propágulos.

Los valores de bacterias heterotrofas (BH) totales variaron entre 6,33 y 8,90 ( $\log \text{NMP/g}^{-1}$ ) los cuales se ubican dentro del rango reportado en otros estudios e incluso los suelos de bosques (selva nublada y bosque siempreverde) muestran valores superiores a los señalados en la mayoría de otros estudios (Jones y Edington, 1968; Aon *et al.*, 2001; Pankhurst *et al.*, 2002; Yang *et al.*, 2003; Widmer *et al.*, 2006; Muñoz *et al.*, 2007) Esto confirma que el medio de cultivo utilizado para estimar la población de las bacterias heterotrofas fue convenientemente seleccionado. También los valores de propágulos de hongos muestran valores que están dentro del rango reportado en otras publicaciones (Jones y Edington, 1968; Aon *et al.*, 2001; Yang *et al.*, 2003; Pankhurst *et al.*, 2002). Por otra parte los valores de BH relativamente bajos del páramo de Los Bahitos se pueden explicar por las condiciones climáticas de la zona y las propiedades abióticas de estos suelos que desfavorecen el desarrollo de los microorganismos.



**Figura 5.5.** Análisis de Componentes Principales centrado y estandarizado de las poblaciones de bacterias totales, amonificantes, proteolíticas, amilolíticas, celulolíticas propágulos de hongos, oligotrofos y copiotrofos presentes en los diferentes sitios muestreados.  
 BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacate, bosque; CP: Cacate, potrero; CM: Cacate, maíz; MS: Mucuy, selva; MM: Mucuy, maíz.



**Figura 5.6.** Análisis de Componentes Principales centrado y estandarizado de las poblaciones de bacterias totales, amonificantes, proteolíticas, amilolíticas, celulolíticas, propágulos de hongos, oligotrofos y copiotrofos presentes en los diferentes sitios muestreados.

#### 5.4. Discusión

**Ecosistemas naturales-páramos:** La población de bacterias heterótrofas de los páramos, presentó valores similares a los señalados por Gonzales (2004) en suelos del páramo de Gavidia, quien reporta en dos parcelas clímax, una población de bacterias heterótrofas de  $1,51$  y  $1,56 \times 10^7 \text{ g}^{-1}$  suelo, lo cual equivaldrían a  $7,18$  y  $7,19$  unidades logarítmicas, respectivamente. Gonzales también estima la población de amilolíticos, celulolíticos, proteolíticos y amonificantes, y mientras los tres primeros grupos funcionales mostraron valores de población similares a los encontrados en el presente trabajo, los resultados de amonificantes reportados por esta autora difieren principalmente con los de Los Bahitos, en aproximadamente dos y media unidades logarítmicas menos. Tal y como ha sido reportado para otros suelos (Aceá y Carballas, 1990a, b, 1996; Gonzales, 2004; Diz, 2003) una buena parte de la población total de microorganismos presenta actividad amonificante y proteolítica, mientras que una proporción menor exhibe actividad amilolítica y celulolítica. Los suelos de Los Bahitos, presentaron las más bajas poblaciones de bacterias heterótrofas y de biomasa microbiana de todos los ecosistemas naturales, lo cual puede estar relacionado con las condiciones climáticas de la zona (menores temperaturas medias y precipitaciones) y las propiedades abióticas de los suelos (menor contenido de C, CC y CIC). Así, algunos trabajos relacionan la altitud y el consiguiente endurecimiento de las condiciones ambientales, con una disminución en el tamaño de las poblaciones microbianas (Margesin *et al.*, 2009, Giri *et al.*, 2007). En nuestro caso, vemos que la población de bacterias heterótrofas está positivamente correlacionada con el contenido de C, la CC y la CIC (Tabla 5.8), variables éstas que en los Bahitos muestran menores valores que en el resto de los ecosistemas naturales estudiados (Capítulo 2), lo cual estaría explicando los resultados obtenidos.

La estructura de las comunidades microbianas de ambos suelos de páramo mostraron diferencias importantes. En Los Bahitos, la población heterótrofa total es, como ya dijimos, cerca de  $1,4$  unidades logarítmicas inferiores que en Los Pozos, sin embargo la proporción de amilolíticos, proteolíticos, celulolíticos y propágulos de hongos es superior que la de Los Pozos. Esto significaría que la población microbiana de Los Bahitos, aunque menor en número, sería más especializada, al tener una mayor proporción de individuos potencialmente capaces de degradar estos sustratos, lo cual podría estar relacionado con la composición de la materia orgánica presente en esos suelos.

En los suelos de ecosistemas naturales no se observaron diferencias importantes en el número de propágulos de hongos, y el C fúngico no parece variar mucho entre los suelos de páramo. La valoración de la población de propágulos de hongos, tiene que verse con mucha cautela, pues esta medida puede reflejar más bien la población de esporas presentes y no la cantidad de células de hongos originalmente presentes en los suelos (Margesin *et al.*, 2008) y de ahí la importancia de determinar la

biomasa fúngica. Los valores de ergosterol y, en consecuencia, de biomasa fúngica detectada en los suelos de páramo son unas siete veces menor que las reportadas otros suelos de montaña (alpinos), pero dentro del rango de otros suelos, tanto no intervenidos como de uso agrícola (Bailey *et al.*, 2002; van der Wal *et al.*, 2006).

Los valores de biomasa microbiana de los suelos de páramo estuvieron en el mismo orden, aunque ligeramente por debajo de los reportados por Sarmiento y Bottner (2002) y por Gonzales (2004). Esta última, estudia cuatro localidades del páramo de Gavidia y reporta valores promedio de  $382 \pm 44$  mg C kg<sup>-1</sup> suelo. Sin embargo hay que tener en cuenta que los suelos estudiados por Gonzales tienen mayor contenido de carbono, y el C microbiano de sus muestras representó entre el 0,31 % y el 0,43 % del C del suelo, valores estos similares a los encontrados en el presente trabajo.

***Ecosistemas naturales-bosques:*** Los valores de población de bacterias heterótrofas en los suelos de bosques están dentro del intervalo de lo reportado para otros suelos: en bosques de pino y roble (Díaz-Raviña *et al.*, 1988), bosques templados (Díaz-Raviña *et al.*, 1993), bosques de *Pinus pinaster* y *Quercus robur* (Diz, 2003; Díaz-Raviña *et al.*, 1993), *Pinus pinaster* (Vázquez *et al.*, 1993). Los altos valores de microorganismos amonificantes es congruente con lo afirmado por Acea y Carballas (1990a,b) de que la gran mayoría de los microorganismos presentes en diferentes bosques son capaces de liberar amonio a partir de compuestos orgánicos de nitrógeno

La determinación de la estructura de las comunidades microbianas y el potencial que cada grupo funcional tiene dentro de su comunidad, puede ser un indicador más útil que la sola medición de los valores absolutos de las poblaciones microbianas, porque nos da información de la capacidad que dichas poblaciones tienen para intervenir en los ciclos del C y del N y la manera cómo las comunidades reaccionan a los cambios ambientales y/o antrópico. En este sentido nuestros resultados indican que, a diferencia de lo que ocurre en los páramos, en donde observamos importantes diferencias en la estructura de las comunidades microbianas, en los bosques, no se detectaron tantas diferencias, con excepción de la proporción de microorganismos proteolíticos y celulolíticos en Cacute, que son comparativamente superiores a la de La Mucuy. Tal vez el tipo de materia orgánica presente en estos suelos favorezca el predominio de estos grupos funcionales. Además, la actividad proteolítica está correlacionada con el contenido de K<sup>+</sup>, catión que en Cacute se encuentra en mayor cantidad que en La Mucuy, mientras que la actividad celulolítica está negativamente relacionada con la presencia de Al<sup>3+</sup>, ausente en Cacute y presente en La Mucuy (Tabla 2.4, Capítulo 2).

El valor de biomasa microbiana, determinada por respiración inducida por sustrato, en el bosque siempreverde (Cacute) alcanzó la cantidad de  $14142 \pm 1381$  mg C kg<sup>-1</sup> suelo, lo cual es similar a la reportada por Tremont y Cuevas (2004) en bosques maduros y secundarios del Instituto Venezolano

de Investigaciones Científicas, Altos de Pipe, estado Miranda, en una zona de vida clasificada como bosque premontano húmedo. El carbono de la biomasa microbiana fue calculado por el método de fumigación y extracción y el valor de C de biomasa microbiana reportado por los autores,  $13358 \pm 3915$  mg C kg<sup>-1</sup> suelo, corresponde a las muestras de suelo orgánico recogidas debajo de *Richeria grandis*. Estas muestras de suelo tenían una cantidad de carbono orgánico total, similar al del suelo de Cacute estudiado en el presente trabajo:  $85,8 \pm 10,7$  g C kg<sup>-1</sup>.

El valor de la biomasa microbiana de la selva nublada (La Mucuy) está por debajo de lo reportado por otros autores para un bosque premontano húmedo de Venezuela (Tremont y Cuevas, 2004) quienes reportan valores entre 712 y 13358 mg C kg<sup>-1</sup> suelo, un bosque húmedo submontano en el estado Bolívar, Venezuela (Priess y Fölster 2001), superiores a los encontrados en bosques de *Pinus pinaster* y *Quercus robar* (Diz, 2003) y en otros bosques del centro de Europa (Hackl *et al.*, 2005) y similar al de sabanas venezolanas (Hernández y Hernández, 2002).

En los bosques encontramos resultados bastantes contrastantes respecto a la biomasa fúngica de los ecosistemas naturales: en Cacute, la biomasa fúngica presenta valores máximos y mínimos en La Mucuy. Las condiciones de saturación de agua presentes en estos suelos, que presentaron un contenido de humedad de 49%, superior a su capacidad de campo, no promueven el desarrollo de hongos ya que cuando la humedad es excesiva, disminuye la difusión de O<sub>2</sub> necesaria para el metabolismo aeróbico y los hongos son los primeros en sufrir las consecuencias negativas (Alexander, 1977).

Con excepción de los suelos de Cacute, en todos los demás de ecosistemas naturales encontramos valores similares de la relación  $C_{mic}/C_{total}$ . Este parámetro es considerado un indicador más sensible de los cambios en la calidad de la materia orgánica que el carbono orgánico sólo (Sparling 1992). Una mayor proporción de  $C_{mic}$  respecto a  $C_{total}$  estaría indicando la presencia de más carbono orgánico lábil en el suelo, mientras que lo contrario sería señal de que menos carbono está siendo incorporado en la biomasa microbiana, lo cual se considera que es resultado del declive en el pool de C lábil del suelo.

**Conversiones:** En todas las conversiones, los microorganismos celulolíticos siempre aumentaron en número, aunque no lo hicieron significativamente ( $p < 0,05$ ) en los suelos de Cacute, y esto pudo deberse a que el efecto del manejo sobre los celulolíticos se manifiesta a más largo plazo, a diferencia de lo que ocurre con los microorganismos del ciclo del nitrógeno que responden rápidamente pero no mantienen dicha respuesta en el tiempo (Acea y Carballas, 1988a, b). Comparando la población de celulolíticos con los reportados por Aciego *et al.*, (1995) encontramos que estos autores, estudiando la dinámica poblacional de de microorganismos en un cultivo de maíz, detectaron poblaciones de celulolíticos unas 10 veces superiores a los del presente trabajo, lo cual se explica porque en su estudio

incorporan al suelo cantidades importantes de residuos vegetales ricos en celulosa, lo cual pudo estimular a estos microorganismos.

Como consecuencia de la conversión de páramo en cultivo de papa, no se encontraron variaciones significativas en la población de propágulos de hongos y aunque en estos cultivos se utilizaron gallinaza y fertilizantes minerales, que sabemos pueden provocar el aumento en la población de hongos este no ocurre siempre (Pratt y Tewolde, 2009). Además, los cambios en el tamaño y composición de las comunidades microbianas dependen en gran medida de la calidad y cantidad de la materia orgánica incorporada al suelo con la conversión (Potthast *et al.*, 2010) y de la duración de las prácticas de manejo, lo cual puede estar influyendo en nuestro estudio (Buckley y Schmidt, 2003).

Los valores de propágulos de hongos están en el rango de lo publicado en estudios realizados en bosques de *Pinus pinaster* (Vásquez *et al.*, 1993).

En general, la adición de fertilizantes orgánicos puede provocar un rápido incremento en la población de microorganismos del suelo, pero la duración de este efecto puede variar notablemente y la población puede volver, después de un tiempo, a sus valores iniciales (Acea y Carballas, 1988a), lo que puede explicar que en Los Bahitos, encontremos un aumento en la población total de bacterias heterótrofas, ausente en Los Pozos, en donde lo que si aumentó de manera importante fue la biomasa fúngica. En los Pozos, el aumento pudo haber ocurrido antes de nosotros realizar el muestreo y las poblaciones microbianas no lograron mantener esos niveles, debido a diferentes causas, como la consumición de nutrientes de fácil utilización, la acumulación de sustancias tóxicas, antibiosis, o la acción de predadores y parásitos (Alexander, 1977; Acea y Carballas, 1988a).

Con la conversión, la biomasa microbiana no mostró cambios significativos en Los Bahitos mientras que en Los Pozos aumentó 61% lo cual debería estar asociado con el aumento (aunque no significativo) de la biomasa fúngica ya que la población de bacterias heterótrofas no mostró cambios importantes. También podría estar ocurriendo que con la conversión y el manejo asociado, se altere la dinámica de las poblaciones microbianas a tal grado que aunque la cantidad de las mismas no cambie significativamente, su metabolismo sufra una importante alteración que se exprese en una respuesta diferente en la respiración. También hay que señalar que aunque en Los Bahitos no hubo cambios en la biomasa microbiana, si los hubo en la relación  $C_{mic}/C_{total}$ . Este parámetro es considerado un indicador más sensible de la calidad de la materia orgánica del suelo que el contenido de C (Sparling, 1992, citado por Xu *et al.*, 2008), en donde una alta relación indica que habría mayor cantidad de C orgánico lábil en el suelo, y una relación baja implica que menos C es incorporado a la biomasa microbiana, lo cual podría estar relacionado con la disminución del C lábil almacenado en el suelo, menos incorporación de C, menor eficiencia de la biomasa microbiana para la incorporación de C o la estabilización del C orgánico en las fracciones minerales (Sparling, 1992, citado por Piao, 2001).

En BP, aunque no aumentó la biomasa microbiana, si lo hizo ( $p < 0,05$ ) la relación  $C_{mic}/C_{total}$  ya que con la conversión hubo una disminución del C total del suelo cercana al 50%.

El valor de la biomasa microbiana en los suelos cultivados con maíz fue inferior al reportado por Asuming *et al.*, (2008) en suelos tropicales con diferentes tratamientos, quienes encuentran entre 400 y 758 mg C kg<sup>-1</sup> suelo y similar a los reportados por Mahía *et al.*, (2008) quienes estudiando suelos continuamente cultivados con maíz desde 1964, que contienen cantidades de C similar a las de Cacute y La Mucuy encuentran una biomasa microbiana de 142 mg C kg<sup>-1</sup> suelo y una relación  $C_{mic}/C_t$  que varía entre 0,31% y 0,70%.

Con la conversión de la selva nublada de La Mucuy a cultivo de maíz, es posible que la disminución en la biomasa microbiana total estuviera más asociada a la disminución en la biomasa fúngica, ya que  $C_b$  (C bacteriano), aunque muestra tendencia a la disminución, la misma no fue significativa. Esto contrasta con los resultados del conteo de bacterias heterótrofas totales que indica que estas poblaciones si disminuyeron con la conversión en alrededor de una unidad logarítmica. Esto tal vez se explica por el hecho de que los hongos hacen una mayor contribución a la respiración que las bacterias lo que tiende a aumentar el resultado (Anderson y Domsch, 1973).

En general se considera que la biomasa fúngica tiende a ser más elevada en los ecosistemas naturales que en los agroecosistemas (Annemieke *et al.*, 2009). Esto implica que en los ecosistemas naturales o poco intervenidos, las comunidades microbianas son dominadas por los procesos de descomposición asociados a las poblaciones de hongos, que predominan sobre los procesos asociados a las bacterias. Los hongos se caracterizan por poseer vías más eficientes y conservativas de ciclado de nutrientes, a diferencia de las encontradas en las bacterias, más rápidas y menos eficientes en relación a la cantidad de C incorporado a la biomasa microbiana (Busse *et al.*, 2008; Six *et al.*, 2006). En este contexto, en el presente estudio vemos que en la conversión de páramo a cultivo de papa, no hay una tendencia clara en el predominio de uno u otro grupo de microorganismos, pero en la conversión de bosques a cultivos existe una clara y significativa disminución de la biomasa fúngica ( $C_f$ ) que para el caso de Cacute es de un poco más del 90% para el cultivo de maíz y en La Mucuy, está alrededor del 25%.

Por lo mencionado anteriormente es importante determinar la relación C fúngico/C bacterianos que ha sido mostrado que se correlaciona con diversos factores entre los que se encuentra la relación C/N del suelo (Ananyeva *et al.*, 2006). En nuestro estudio, esto ocurre aunque la correlación no es muy alta, sólo 0,38. Llama la atención que la relación  $C_f/C_b$  se relacione, negativa o positivamente, con los tres tamaños de partícula de la textura del suelo: de manera negativa con el contenido de arena y positiva con el limo y la arcilla.

Las bacterias del suelo han sido tradicionalmente divididas en autóctonas y zimógenas. Las primeras tienden a mantener un tamaño de población relativamente constante a pesar de las fluctuaciones. En la actualidad sabemos que las bacterias autóctonas son oligotróficas y que las zimógenas usualmente son copiotrofas (van Elsas *et al.*, 2007). Las oligotrofas pueden crecer en condiciones donde escasean los nutrientes, a velocidades relativamente bajas y se asemejan a los denominados organismos con estrategia **K**. Las copiotrofas por su parte, crecen en condiciones donde los recursos son abundantes, a velocidades mucho más altas que las oligotrofas, y son considerados organismos con estrategia **r** (van Elsas *et al.*, 2007). Sin embargo la separación de estos dos grupos de microorganismos no debe verse como una clasificación rígida e inamovible: existen evidencias de que las bacterias del suelo pueden alternar entre los dos estados, es decir, la oligotrofia es una condición reversible o facultativa (Stenström *et al.*, 2001). La relación oligotrofos/copiotrofos ha sido propuesta como un indicador de la tolerancia al estrés nutricional de las comunidades microbianas presentes en el suelo. Una relación alta, es decir, con predominancia de oligotrofos, estaría indicando condiciones ambientales estables con bajas disponibilidades de sustratos mientras que el caso contrario, i.e, predominancia de copiotrofos (relación baja) indicaría, condiciones alejadas de la estabilidad, con suelos recibiendo aportes importantes de sustrato ricos en materia orgánica (Nielsen y Winding, 2002). Esto último es lo que reflejan los resultados de la conversión en Los Bahitos, en donde las muestras de suelo del cultivo de papa disminuyeron su relación O/C de 0,98 a 0,85. Sin embargo este resultado no pareciera corresponderse con aportes en nutrientes al suelo, con la conversión hay disminución (Capítulo 2) en la mayoría de nutrientes del suelo a excepción del nitrógeno inorgánico que aumenta de manera importante tanto en su forma amoniacal como nítrica y que podría estar determinando los cambios observados. En La Mucuy la conversión no trajo consigo cambios detectables en la relación O/C. En Cacute si fueron resaltantes los resultados pues en el bosque llama la atención la poca cantidad de microorganismos oligotrofos. En efecto, el bosque de Cacute presenta el menor valor de oligotrofos de todos los suelos estudiados, lo cual debería tener su razón en el hecho de que estos suelos son ricos en nutrientes orgánicos e inorgánicos (Capítulo 2) que estarían favoreciendo el desarrollo de bacterias con mayores tasas de crecimiento, más facilidades para degradar compuestos carbonados y altas densidades de colonización. Sin embargo, las perspectivas que ofrece el hecho de una menor población de oligotrofos no es nada beneficioso para el suelo, ya que estos microorganismos son considerados con alto potencial de supervivencia y su presencia es muy importante cuando ocurren cambios drásticos en las condiciones ambientales que reduzcan los nutrientes en los suelos, en las que los oligotrofos tienen más capacidad para colonizar sustratos pobres en nutrientes y llevar a cabo los procesos que conduzcan a la recuperación de las condiciones originales y facilitar de este modo el desarrollo de la sucesión natural (Fierer *et al.*, 2007). Por lo tanto en caso de eventos naturales o de origen antrópico que

redujeran los niveles de nutrientes en este ecosistema a valores oligotróficos, la menor presencia de microorganismos capaces de desarrollarse en tales condiciones retardaría considerablemente el proceso de recuperación de dichos suelos.

## 5.5. Conclusiones

1) Sobre la base de las características físicas químicas de los suelos de bosque y de páramo, y según el análisis de correlación, los factores que más favorecen la abundancia de bacterias heterótrofas en los bosques respecto al páramo, son el contenido de C, N,  $Mg^{2+}$ , la capacidad de campo y el CIC.

2) En contraste con las variaciones encontradas en las poblaciones de bacterias heterótrofas de los ecosistemas naturales, la población de propágulos de hongos no mostraron diferencias entre los distintos ecosistemas naturales lo que implicaría su baja sensibilidad a los cambios en las condiciones fisicoquímicas y ambientales, sin embargo, si se observaron diferencias significativas en la población de propágulos de hongos en las conversiones de los bosques, no en las de páramo. En páramo con la conversión, la tendencia, aunque no significativa, fue al aumento, en los bosques, las poblaciones disminuyeron, en la conversión a maíz únicamente, en casi una unidad logarítmica. Esto puede tener su razón en el gallinazo y/o pargana que se utiliza en la agricultura papera.

3) La escasez de microorganismos oligotrofos en los suelos del bosque de Cacute, sugiere la vulnerabilidad de este ecosistema a los cambios ambientales drásticos.

4) Las comunidades microbianas de Los Bahitos páramo, muestran una importante capacidad de adaptación a las condiciones desfavorables del medio, al aumentar la proporción de bacterias con actividad proteolítica, amilolítica y celulolítica.

## 5.6. Referencias Bibliográficas

- Acea MJ y Carballas T (1988a). The influence of cattle slurry on soil microbial population and nitrogen cycle microorganisms. *Biological Wastes* 23:229-241.
- Acea MJ y Carballas T (1988b). Effects of cattle slurry treatment on the microorganisms of the carbon and sulphur cycles in the soil. *Biological Wastes*.24: 251-258.
- Acea MJ y Carballas T (1990a). Relationships among microbial groups in various humid zone soils, and the factors controlling their distribution. *Agrochimica*. 24 (1-2): 1-14.
- Acea MJ y Carballas T (1990b). Principal components analysis of the soil microbial population of humid zone of Galicia (Spain). *Soil Biology & Biochemistry* 22 (6): 749-759.
- Acea MJ y Carballas T (1996). Changes in physiological groups of microorganisms in soil following wildfire. *FEMS Microbiology Ecology*. 20:33-39.
- Acea MJ y Carballas T (1996). Microbial response to organic amendments in a forest soil. *Bioresource Technology* 57:193-199.
- Acea MJ y Carballas T (1999). Microbial fluctuations alter soil heating and organic amendment. *Bioresource Technology* 67: 65-71.
- Aciego J, Borges D y Rojas J (1995). Efecto de los sistemas de labranza conservacionista sobre la dinámica de poblaciones microbianas de un suelo degradado del estado Yaracuy. *Venezuelos*. 3(2): 73-82.
- Alexander M (1977). *Introduction to soil microbiology*. Second edition. Wiley & Sons. New York.
- Alexander, M (1965). Most-Probable-Number method for microbial populations. En Black, C.A, Evans, D.D., White, J.L., Ensminger, L.E., Clark, F.E.(eds.). *Methods of Soil Analysis. Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy. Wisconsin. pp.1467-1472.
- Amora-Lazcano E, Vásquez MM, Azcón R (1998) Response of nitrogen transforming microorganisms to arbuscular mycorrhizal fungi. *Biology and Fertility of Soils*. 27: 65-70.
- Ananyeva ND, Susyan EA, Chernova OV, Chernov I Yu, Makarova. (2006). The ratio of fungi and bacteria in the biomass of different types of soil determined by selective inhibition. *Microbiology*. Vol. 75 (6): 702-707.
- Anderson JPE y Domsch KH(1973). Quantification of bacterial and fungal contributions to soil respiration. *Archives in Mikrobiologi* 93:113-127.
- Anderson JPE y Domsch KH(1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 10:215-221.
- Anderson OR (1988) *Comparative protozoology*. Springer-Verlag, New York. 482 p.

- Annemieke van der Wal, J Bloem, Mulder C, W de Boer (2009). Relative abundance and activity of melanized hyphae in different soil ecosystems. *Soil Biology & Biochemistry* 41(2):417-419.
- Aon MA, Cabello MN, Sarena DE, Colaneri AC, Franco MG, Burgos JL, Cortassa (2001). I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology* 18:239-254.
- Asuming-Brempong S, Gantner S, Adiku SGK, Archer G, Edusi V y Tiedje JM (2008). Changes in the biodiversity of microbial populations in tropical soils under different fallow treatments. *Soil Biology & Biochemistry*.49:2811-2818.
- Bailey VL, Smith JL, Bolton H. (2002) Fungal to bacterial ratios in soils investigated for enhanced C sequestration. *Soil Biology & Biochemistry*.34:997-1007.
- Balestra GM y Misaghi IJ (1997). Increasing the efficiency of the plate counting method for estimating bacterial diversity. *Journal of Microbiological Methods*. 30:111-117.
- Borneman J & Triplett EW (1997). Molecular microbial diversity in soils from eastern Amazonia: Evidence for unusual microorganisms and microbial population shifts associated with deforestation. *Applied and Environmental Microbiology* 63(7): 2647-2653.
- Brookes PC, Landman A, Pruden G, Jenkinson DS (1985). Chloroform fumigation and the release of soil nitrogen: a rapid direct extraction method to measure microbial biomass nitrogen in soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 17:837-842.
- Buckley DH y Schmidt TM (2003). Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems. *Environmental Microbiology*. 5(6), 441-452.
- Busse MD, Sanchez F, Ratcliff AW, Butnor JR, Carter EA, Powers RF (2009). Soil carbon sequestration and changes in fungal and bacterial biomass following incorporation of forest residues. *Soil Biology & Biochemistry*. 41:220-227.
- Buyer JS, Roberts DP, Millner P y Russek-Cohen E (2001). Analysis of fungal communities by sole carbon source utilization profiles. *Journal of Microbiological Methods*. 45:53-60
- Carson JK, Campbell L, Rooney D, Clipson N y Gleeson DB (2009). Minerals in soil select distinct bacterial communities in their microhabitats. *FEMS Microbial Ecology*.67:381-388.
- Clarholm M, Bonkowski M y Griffiths B (2007). Protozoa and other protista in soil. En JD van Elsas, J Jansson y JT Trevors (eds.). *Modern Soil Microbiology* Second Edition.CRC Press. Taylor & Francis Group. pp.147-175
- Clark FE (1965). Agar-plate method for total microbial count. En Black, C.A, Evans, D.D., White, J.L., Ensminger, L.E., Clark, F.E. (eds). *Methods of Soil Analysis. Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy. Wisconsin. pp.1460-1466.

- Chenu C, Hassink J, Bloem J. (2001). Short term changes in the spatial distribution of microorganisms in soil aggregates as affected by glucose addition. *Biology Fertility of Soils*. 34: 349-356.
- Chitarra LG y van der Bulk R (2003). The application of flow cytometry and fluorescent probe technology for detection and assessment of viability of plant pathogenic bacteria. *European Journal of Plant Pathology*. 109:409-417.
- De Vries FT, Baath E, Kuyper TK, Bloem J (2009). High turnover of fungal hyphae in incubation experiments. *FEMS Microbial Ecology*. 67:389-396.
- Díaz-Raviña M, Carballas T y MJ Acea (1988) Microbial biomass and metabolic activity in four acid soils. *Soil Biology & Biochemistry* 20 (6): 817-823
- Díaz-Raviña, Prieto A, Acea MJ y Carballas T. (1992). Fumigation-extraction to estimate microbial biomass in heated soils. *Soil Biology & Biochemistry*. 24(3):259- 264.
- Díaz-Raviña, Acea MJ y Carballas T. (1993). Microbial biomass and its contribution to nutrient concentrations in forest soils. *Soil Biology & Biochemistry* 25:25-31
- Díaz-Raviña, Acea MJ y Carballas T. (1993). Microbial biomass and C and N mineralization in forest soils. *Bioresource Technology* 43:161-167.
- Díaz-Raviña, Acea MJ y T Carballas. (1995). Seasonal changes in microbial biomass and nutrient flush in forest soils. *Biology Fertility of Soils* 19:220-226.
- Diz, N. 2003. Respuesta microbiana a la quema y al abonado del suelo. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 478 p.
- Dwivedi RS y Dwivedi R(1971). Ecology of soil fungi a sal forest with emphasis on fungistasis. *Plant and soil* 34: 33-42.
- Dominy CS y Haynes RJ (2002). Influence of agricultural land management on organic matter content, microbial activity and aggregate stability in the profiles of two oxisols. *Biology Fertility of Soils*. 36: 298-305.
- Dommergues Y y Manganot F (1970) *Ecologie microbienne du sol*. Masson et Cie, Editores. Paris.
- Fierer N, Bradford MA, Jackson RB (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88(6): 1534-1364.
- Foissner W (1999). Soil protozoa as bioindicators: pros and cons, methods, diversity, representative examples. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 74: 95-112
- Giri DD, Shukla PN, Kashyap SS, Singh P, Kashyap AK, Pandey KD. (2007). Variation in methanotrophic bacterial population along an altitude gradient at two slopes in tropical dry deciduous forest. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 2424-2426.
- Gong P, Guan X y E Witner (2001). A rapid method to extract ergosterol from soil by physical disruption. *Applied Soil Ecology*. 17:285-289.

- Gonzales, S. (2004) Microbiota edáfica de los Andes tropicales. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 258 p.
- Hackl E, Zechmeister-Boltenstern, Bodrossy L, Sssitsch (2005). Composition of the microbial communities in the mineral soil under different types of natural forest. *Applied and Environmental Microbiology* 70 (9):5057-5065.
- Han W, Kemmitt SJ y Brookes P. (2007). Soil microbial biomass and activity in Chinese tea gardens of varying stand age and productivity. *Soil Biology & Biochemistry*. 39:1468-1478
- Horwath WR y EA Paul (1994). Microbial Biomass. En RW Waver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds.) *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin, EEUU, pp. 754-771.
- Jenkinson DS y Powlson (1976). The effects of biocidal treatment on metabolism in soil-V: A method for measuring soil biomass. *Soil Biology & Biochemistry*.8(3):209-213.
- Jones JG y Edington M A (1968). An ecological survey of hydrocarbon-oxidizing micro-organisms. *Journal of General Microbiology* 52:381-390.
- Kaushik A, Nisha R, Jagjeeta K, Kaushik CP. (2005). Impact of long and short term irrigation of a sodic soil with distillery effluent in combination with bioamendedments. *Bioresource Technology* 96: 1860-1866.
- Kennedy AC (1999) Bacterial diversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 74: 65-76.
- Kent AS y Triplett EW (2002). Microbial communities and their interactions in soil and rhizosphere ecosystems. *Annual Reviews Microbiology*. 56: 211-36.
- Kong CH, Wang P, Zhao H, Xu XH y Zhu YD (2008). Impact of allelochemical exuded from allelopathic rice on soil microbial community. *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 1862-1869.
- Kuai L, Nair AA y Polz MF (2001). Rapid and simple method for the most-probable-number estimation of arsenic reducing bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 67 (7): 3168-3173
- Lagomarsino A, Grego S, Marhan S, Moscatelli MC, Kandeler E.(2009). Soil management modifies micro.scale abundance and function of soil microorganisms in a Mediterranean ecosystem. *European Journal of Soil Science*. 60: 2-12
- Li Y, Dick WA y Tuovinen OH (2004). Fluorescence microscopy for visualization of soils microorganisms-a review. *Biology Fertility of Soils*.39: 301-311.
- Lundin A, Hasenson M, Persson J, Pousette A. (1986). Estimation of biomass in growing cell-lines by adenosine-triphosphate assay. *Methods in Enzymology*. 133: 27-42.

- Mahía J, Cabaneiro A, Carballas T, Díaz-Raviña (2008). Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affected by atrazine addition. *Biology Fertility of Soil*. 45: 99-105.
- Martin JP (1950). Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Science*. 69 (3): 215-232.
- Margesin R, Jud M, Tschierko D y Schiner F. (2009). Microbial communities and activities in alpine and subalpine soils. *FEMS Microbial Ecology*. 67: 208-218.
- Montgomery HJ, Monreal CM, Young JC, Seifert KA (2000). Determination of soil fungal biomass from soil ergosterol analyses. *Soil Biology & Biochemistry*. 32: 1207-1217.
- Muñoz A, López-Piñero A, Ramírez M (2007). Soil quality attributes of conservation management regimes in a semi-arid region of south western Spain. *Soil & Tillage Research*. 95:255-265.
- Nielsen MN y Winding A (2002). Microorganisms as indicators of soil health. National Environmental Research Institute, Denmark. Technical Report N° 388. 82p.
- Nodar R, Acea MJ y Carballas T (1992). Microbiological response to Ca(OH)<sub>2</sub> treatments in a forest soil. *FEMS Microbiology Ecology* 86: 213-219.
- Nordgren A (1988). Apparatus for the continuous long term monitoring of soil respiration rate in large number of samples. *Soil Biology & Biochemistry*. 20:955-957.
- Nuhoglu Y, Oguz E, Uslu H, Ozbek A, Ipekoglu B, Ocak I, Hasenekoglu I (2006). The accelerating effects of the microorganisms on biodeterioration of stone monuments under air pollution and continental cold climatic conditions in Erzurum, Turkey. *Science of the Total Environment* 364: 272-283.
- Nusslein, K y Tiedje, J. (1999). Soil bacterial community shift correlated with change from forest to pasture vegetation in a tropical soil. *Applied and Environmental Microbiology*. 65(8): 3622-3626.
- Ogram A (2000). Soil molecular microbial ecology at age 20: methodological challenges for the future. *Soil Biology & Biochemistry*. 32:1499-1504.
- Pankhurst CE, McDonald HJ, Hawke BG y Kirkby CA (2002). Effect of tillage and stubble management on chemical and microbiological properties and the development of suppression towards cereal root disease in soils from two sites. in NSW, Australia. *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 833-840.
- Phillips LA, Greer CW y Germida JJ (2006). Culture based and culture independent assessment of the impact of mixed and single plant treatments on rhizosphere microbial communities in hydrocarbon contaminated flare pit soil. *Soil Biology & Biochemistry*. 38: 2823-2833
- Phillips LA, Germida JJ, Farrel RE y Greer CW (2008). Hydrocarbon degradation potential and activity of endophytic bacteria associated with prairie plants. *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 3054-3064.

- Piao HC, Liu GS, Wu YY, Xu WB (2001). Relationships of soil microbial biomass carbon and organic carbon with environmental parameters in mountainous soils of southwest China. *Biology Fertility Soils*. 33: 347-350.
- Potthast K, Hamer U, Makeschin (2010). Impact of litter quality on mineralization processes in managed and abandoned pastures soils in Southern Ecuador. *Soil Biology & Biochemistry*. 42: 56-64.
- Pratt RG y Tewolde H (2009). Soil fungal population levels in cotton fields fertilized with poultry litter and their relationships to soil nutrient concentrations and plant growth parameters. *Applied Soil Ecology*. 41: 41-49
- Priess JA y Fölster H (2001). Microbial properties and soil respiration in submontane forest of Venezuelan Guyana: characteristics and Response to fertilizer treatments. *Soil Biology & Biochemistry*. 33: 503-509
- Prosser (2007). Microorganisms cycling soil nutrients and their diversity. En: *Modern Soil Microbiology*, Second Edition. pg. 237-261. CRC Press.
- Ramírez A, Blanco M y García E (2003). Biogeografía de *Nocardia*: Estudio de la población edáfica de *Nocardia* en diversas zonas climáticas del estado Lara. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. 23(2): 142-147.
- Rønn R, McCraig AE, Griffiths B y Prosser JI (2002). Impact of protozoan grazing on bacterial community structure in soil microcosms. *Applied and Environmental Microbiology*. 68 (12): 6094-6105.
- Hernández-Hernández RM y López-hernández DL (2002). Microbial biomasa, mineral nitrogen and carbon content in savanna soil aggregates under conventional and no-tillage. *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 1563-1570
- Rousk J, Erland Baath (2007). Fungal biomass production and turnover in soil estimated using the acetate-in-ergosterol technique. *Soil Biology & Biochemistry* 39: 2173-2177.
- Rowe R, Todd R y Waide J (1977). Microtechnique for most-probable-number analysis. *Applied and Environmental Microbiology*. 33(3): 675-680.
- Sarmiento y Bottner (2002). Carbon and nitrogen dynamics in two soils with different fallow times in the high tropical Andes: indications for fertility restoration. *Applied Soil Ecology*. 19: 78-89.
- Sessitsch A, Weilharter A, Gerzabek MH, Kirchmann H y Kandeler E (2001). Microbial population structure in soil size fractions of a long term fertilizer field experiment. *Applied and Environmental Microbiology*. 67 (9): 4215-4224.
- Six J, Frey SD, Thiet RK, Batten KM (2006). Bacterial and fungal contributions to carbon sequestration in agroecosystems. *Soil Science Society American Journal*. 70: 555-569.

- Sparling GP (1992). Ratio of microbial biomass carbon to soil organic carbon as a sensitive indicator of changes in soil organic matter. *Australian Journal of Soil Research* 30(2): 195-207.
- Stenstrom J, Svensson K y Johansson (2001). Reversible transition between active and dormant microbial states in soil. *FEMS Microbiology Ecology*.36: 93-104.
- Standing D y Killman K (2007). The soil environment. En JD van Elsas, J Jansson y JT Trevors (eds.). *Modern Soil Microbiology* Second Edition.CRC Press. Taylor & Francis Group. pp. 1-22.
- Strong DT, Wever H, Merckx y Rescous S (2004) Spatial location of carbon decomposition in the soil pore system. *European Journal of Soil Science*.Vol 55 N° 4: 739-750.
- Thorn RG y Lynch MDJ (2007).Fungi and eucariotic algae. En EA Paul (ed.) *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, Third Edition. Pp. 145-162.
- Torsvik V y Øvreas L (2002). Microbial diversity and function in soils: from genes to ecosystems. *Current Opinion in Microbiology*.5: 240-245.
- Torsvik V, Øvreas, Thingstad TF (2002). Prokaryotic diversity–magnitude, dynamics, and controlling factors. *Science*. 296: 1064-1066.
- Trasar-Cepeda C, Leirós MC y Gil-Sotres F (2008).Hidrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 2146-2155.
- Tremont, O y Cuevas E (2004).Carbono orgánico, nutrientes y cambios estacionales de la biomasa microbiana en las principales especies de dos tipos de bosques tropicales. *Multiciencias*. 4 (2): 96-103.
- Upchurch R, Chiu CY, Everett K, Dyszynski, Coleman DC y Whitman WB (2008). Differences in the composition and diversity of bacterial communities from agricultural and forest soils *Soil Biology & Biochemistry*. 40: 1294 -1305.
- Van Diepeningen AD, de Vos OJ, Korthals, van Bruggen AHC (2006). Effects of organic versus convencional management on chemicals and biological parameters in agricultural soils. *Applied Soil Ecology*. 31: 120-135.
- Van Elsas JD, Torsvik V, Hartmann, Øvreas L y Jansson K (2007). The Bacteria and Archaea in Soil. En JD van Elsas, J Jansson y JT Trevors (eds.). *Modern Soil Microbiology* Second Edition.CRC Press. Taylor & Francis Group.pp. 83-105.C
- Van der Wal A, van Veen JA, Smant W, Boschker HTS, Bloem J, Kardol P, ven der Putten WH y de Boer W (2006). Fungal biomass development in a chronosequence of land abandonment. *Soil Biology & Biochemistry*. 38:51-60.
- Vance ED, Brookes PC y Jenkinson DS (1987).An extraccion method for measuring soil microbial biomass C. *Soil Biology & Biochemistry*. 19: 703-707.

- Vázquez FJ, Acea MJ, Carballas T (1993). Soil microbial populations alter wildfire. *FEMS Microbiology Ecology*.13: 93-104.
- Villenave C, Ekschmitt K, Nazaret S, Bongesrs T (2004). Interactions between nematodes and microbial communities in a tropical soil following manipulation of the soil food webs. *Soil Biology & Biochemistry* 36:2033-2043.
- Voroney RP. The soil habitat. En: EA Paul (ed.) *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*, Third Edition. pp. 25-49.
- Wagner M, Horn M y Daims H (2003). Fluorescence in situ hybridization for the identification and characterization of prokaryotes. *Current Opinion in Microbiology*. 6: 302-309.
- Whitman WB, Coleman DC y Wiebe WJ (1998). Prokaryotes: The unseen majority. *Proceeding of National Academy of Sciences*. 95: 6578-6583.
- Widmer F, Rasche F, Hartmann M y Fliessbach A (2006). Community structures and substrate utilization of bacteria in soil from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment. *Applied Soil Ecology* 33:294-307.
- Woomer PL (1994). Most Probable Number Counts. En RW Waver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicsek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds.) *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin, EEUU, pp 59-79.
- Woomer PL, Singleton PW y BB Bohlol (1988). Reliability of the most probable number technique for enumerating rhizobia in tropical soils. *Applied and Environmental Microbiology*. 54 (6): 1494 - 1497.
- Xu Q, P Jiang y Z Xu (2008). Soil microbial functional diversity under intensively managed bamboo plantations in southern China. *Journal of Soils Sediments*.8: 177-183.
- Yang SS, Fan HY, Yang CK, Lin IC. (2003). Microbial population of spruce soil in Tachia mountain of Taiwan. *Chemosphere* 52: 1489-1498.
- Zhao XR, Lin Q, Brookes PC (2005). Does soil ergosterol concentration provides a reliable estimate of soil fungal biomass? *Soil Biology & Biochemistry*. 37: 311-317.

## CAPÍTULO 6

### RESPIRACIÓN MICROBIANA DE LOS SUELOS

#### Resumen

El conocimiento de los parámetros asociados a la respiración microbiana de los suelos de ecosistemas naturales y de sus cultivos asociados provee de información relevante sobre cambios en los procesos de mineralización de la materia orgánica debido a la conversión, lo que permite comprender mejor las consecuencias del cambio en el uso del suelo. Cincuenta gramos de suelo seco provenientes de páramo, bosques y sus cultivos asociados fueron rehidratados hasta el 95% de su capacidad de campo, preincubados por 24 horas e incubados en un respirómetro a 22 °C por 28 días, registrándose el CO<sub>2</sub> desprendido cada hora. Los resultados indican que la respiración del suelo del bosque siempreverde (Cacute- bosque) se ajustó durante las primeras cinco horas a un modelo logístico y luego siguió un modelo doble exponencial, mientras que todos los demás suelos siguieron un modelo doble exponencial desde el inicio. Con la conversión de páramo a cultivo de papa en uno de los suelos estudiados la velocidad máxima de actividad ( $\mu_{\max}$ ) aumentó de 4,3 a 6,9 mg C<sub>(CO<sub>2</sub>)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>. Este fue el único parámetro relacionado con la respiración que varió en los suelos de páramo con la conversión a cultivo de papa, mientras que en la conversión de bosque siempre verde (Cacute-bosque) a potrero disminuyeron el carbono potencialmente mineralizable ( $S_o$ ), la velocidad de estabilización o respiración basal (E) y la tasa de mineralización ( $M_{\text{act}}/C_t$ ), y aumentaron el coeficiente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ), y el tiempo para alcanzar  $\mu_{\max}$  ( $t_{\max}$ ). Más drástica resultó la conversión de Cacute-bosque a cultivo de maíz en la que también ocurrieron cambios, pero de mayor magnitud, en los mismos cinco parámetros anteriores, y adicionalmente disminuyó  $\mu_{\max}$ . En la otra conversión, de selva nublada (La Mucuy-selva) a cultivo de maíz, fueron siete los parámetros que mostraron cambios: C<sub>CO<sub>2</sub></sub> acumulado ( $M_{\text{act}}$ ),  $S_o$ , E, la constante de oxidación de la materia orgánica recalcitrante ( $\mu_1$ ), la vida media de la materia orgánica recalcitrante  $t_{1/2}$ ,  $S_1$ ,  $q\text{CO}_2$  y  $t_{\max}$ . Los resultados resaltan la importancia que tiene el manejo sobre los procesos de mineralización de la materia orgánica ya que el cultivo de papa, está asociado a la aplicación de enmiendas orgánicas (gallinaza, pargana) que reponen las pérdidas de materia orgánica, a diferencia del cultivo de maíz, en donde se ve que la no aplicación de estas enmiendas, resulta en cambios importantes de las propiedades del suelo. La pastura representa una alternativa deseable al cultivo de maíz, por su menor impacto sobre la calidad del suelo.

## 6.1. Introducción

La oxidación del carbono orgánico del suelo es parte esencial del ciclo global del carbono y constituye el principal proceso a través del cual el C fijado en el suelo retorna a la atmósfera en forma de CO<sub>2</sub> (Zibilske, 1994). Este proceso de mineralización de la materia orgánica también es denominado *respiración* y la determinación del CO<sub>2</sub> desprendido es una medida muy importante de la actividad que realizan los microorganismos del suelo (Alexander, 1977).

Cuando la respiración ocurre en condiciones en las que no se ha agregado al suelo ningún nutriente, orgánico o inorgánico, hablamos de respiración basal (Ohlinger, 1996). La respiración microbiana es un indicador muy útil de la labilidad de la materia orgánica del suelo (MOS), y del estado fisiológico de las comunidades microbianas edáficas, así como del efecto que sobre ellas y los procesos que realizan, tienen diferentes factores, tales como, las características fisicoquímicas, manejo, sustratos, pesticidas, etc. (Díaz-Raviña *et al.*, 1988, 1993; Mahía *et al.*, 2008; Meli *et al.*, 2003; Zimmermann y Frey, 2002; Wang *et al.*, 2003; Bossio y Scow, 1995).

Durante la respiración edáfica, el CO<sub>2</sub> desprendido puede ser cuantificado por diferentes técnicas: por consumo de oxígeno (Stozky, 1965), cromatografía de gases (Brookes y Paul, 1987), titulación (Zibilske, 1994), espectrometría de infrarrojos (Heinemeyer *et al.*, 1989), o conductimetría (Nordgren, 1988; Meli *et al.*, 2003). El CO<sub>2</sub> respirado y acumulado durante un tiempo determinado puede ser cuantificado y sus valores ajustados a ecuaciones matemáticas, exponenciales de primer o segundo orden, o logísticas, lo cual nos da información sobre la cantidad y calidad de la materia orgánica presente en los suelos, así como de su tasa de mineralización, vida media y el tiempo promedio de residencia (Plante y Parton, 2007).

En general, la respiración microbiana depende de la cantidad y calidad del sustrato, de la actividad máxima de las enzimas respiratorias, de la demanda de productos de la respiración, y de la humedad y la temperatura (Ryan y Law, 2005).

La relación entre la respiración del suelo y la biomasa microbiana, denominada tasa específica de respiración o coeficiente metabólico ( $q_{CO_2}$ ), es definida como la tasa de respiración microbiana (CO<sub>2</sub> producido) por unidad de biomasa microbiana y es utilizada como un indicador muy importante del estatus fisiológico de las comunidades microbianas, del estrés del ecosistema y de la calidad de la materia orgánica que los microorganismos utilizan como sustrato (Mahía *et al.*, 2008; Dilly y Munch, 1998). Se considera que el coeficiente metabólico aumenta con el stress o en condiciones desfavorables para la microbiota, con altas concentraciones de protones (bajo pH), altas concentraciones de metales pesados, cuando entre los microorganismos del suelo prevalecen los zimógenos (estrategia r) en contraste con la población autóctona (estrategia K) (Dilly y Munch, 1998).

En general, la respiración microbiana es considerada un parámetro muy valioso para monitorear la descomposición de la materia orgánica, pero la gran variabilidad que presenta puede hacer difícil su interpretación, en particular, cuando esta medida se toma de manera aislada, sin considerar otros parámetros (Sparling, 1997). Además, la interpretación de los resultados de respiración, en términos de la salud del suelo por ejemplo, pueden ser problemáticos o ambiguos, según cómo se miren. En este sentido, la descomposición rápida de la materia orgánica no es necesariamente un hecho positivo o conveniente, pues una materia orgánica estable sería deseable para las propiedades físicas y químicas de los suelos; pero por otra parte, la descomposición de los residuos orgánicos y la consiguiente liberación de nutrientes que satisfaga las demandas de los cultivos, sería una característica muy favorable para los mismos (Sparling, 1997).

En virtud de la importancia que tiene la respiración microbiana de los suelos, hemos querido estudiar los siguientes aspectos de los suelos de ecosistemas naturales y sus cultivos asociados:

- a) Cinética de la respiración durante 28 días de incubación en condiciones constantes de laboratorio
- b) Respiración acumulada
- c) Cálculo de las ecuaciones a las que se ajusta la respiración acumulada
- d) Cálculo de los parámetros respiratorios más importantes: Actividad microbiana ( $\text{mg C}_{(\text{CO}_2)} \text{kg}^{-1} \text{ suelo}$ ), tasa de mineralización, sustrato potencialmente mineralizable ( $S_0$ ), constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ , constante de oxidación del sustrato recalcitrante, vida media de la materia orgánica, etc.

## 6.2. Materiales y Métodos

**Respiración Basal:** Para cuantificar la actividad respiratoria de los microorganismos presentes en los suelos, se determinó la cantidad de CO<sub>2</sub> desprendido en condiciones controladas de incubación, utilizando para ello un respirómetro RESPINCOND III (Nordgren, 1988). Este equipo hace el registro cada hora de la producción de CO<sub>2</sub>, midiendo diferencias en la conductividad de una solución de KOH 0,2 N; estas diferencias fueron convertidas en valores de CO<sub>2</sub> h<sup>-1</sup> y mg CO<sub>2</sub> acumulado.

El respirómetro consta de una cámara con agua en circulación, regulada a 22°C, en la que se incuban hasta 96 recipientes de 250 ml. En cada recipiente se colocó el equivalente a 50 g de suelo seco. Los suelos secos se reactivaron agregándoles 1 ml de suelo fresco y agua suficiente para ajustar la humedad del suelo al 95% de su capacidad de campo. El inóculo de suelo fresco se preparó como se indica en el Capítulo 5. Los recipientes se preincubaron 24 horas, se colocaron en el respirómetro y se incubaron a 22 °C, en oscuridad durante 28 días. Para la determinación de la respiración basal se utilizaron tres réplicas analíticas por cada réplica de campo.

**Coefficiente metabólico:** Se determinó calculando el cociente entre la velocidad de respiración basal del suelo expresada en µg C<sub>CO2</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup> y el C microbiano (mg C<sub>mic</sub> kg<sup>-1</sup> suelo).

**Actividad microbiana:** Para describir la dinámica de la respiración microbiana durante la incubación de los suelos en el respirómetro, se hicieron regresiones no lineales a modelos de primer orden, siguiendo los siguientes modelos cinéticos:

$$\text{Simple exponencial de primer orden: } M_{\text{act}} = S_0 (1 - e^{-\mu_0 t})$$

$$\text{Doble exponencial de primer orden: } M_{\text{act}} = S_0 (1 - e^{-\mu_0 t}) + S_1 (1 - e^{-\mu_1 t})$$

$$\text{Logístico: } M_{\text{act}} = A / (1 + e^{(4\mu_{\text{max}}/A)(\lambda - t) + 2})$$

En el modelo doble exponencial se consideró  $C_{\text{total}} = S_0 + S_1$

Donde:  $M_{\text{act}} = \text{mg } C_{(\text{CO}_2)} \text{ acumulado } \text{kg}^{-1} \text{ suelo}$

$S_0$ : sustrato lábil potencialmente oxidable o mineralizable

$S_1$ : sustrato recalcitrante

$\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ , también abreviada  $k$  (velocidad de mineralización instantánea de la fracción lábil de la materia orgánica)

$\mu_1$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_1$ , también abreviada  $h$  (velocidad de mineralización instantánea de la fracción recalcitrante de la materia orgánica)

$\mu_{\text{max}}$ : velocidad máxima de respiración estimada (mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>). En el modelo exponencial, su valor se determina de los datos generados en la incubación de los suelos (valor máximo de mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>; pico de las figuras de velocidad de respiración). En el modelo logístico, su valor se obtiene de la regresión no lineal con el programa SPSS.

A: cantidad estimada de CO<sub>2</sub> desprendida (mg C<sub>(CO<sub>2</sub>)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>) durante la fase logística.

λ: tiempo de latencia estimado (horas) de la fase logística.

**Análisis de Componentes Principales:** Las relaciones entre los parámetros respiratorios de los sitios estudiados fueron analizadas mediante el programa CANOCO versión 4.0 (1998). Para ello, se utilizaron los datos de los parámetros respiratorios, centrados y estandarizados.

**Análisis estadístico:** Se hicieron tres réplicas analíticas (respirometría) por cada réplica de campo. Los datos de las tres réplicas analíticas fueron promediados y sus parámetros respiratorios calculados. Finalmente, los parámetros respiratorios así calculados se promediaron y sometieron al análisis estadístico.

Los datos generados por el respirómetro (mg CO<sub>2</sub>) fueron convertidos en mg C (CO<sub>2</sub>) kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup> y una vez calculados los valores acumulados se hicieron los ajustes de actividad microbiana mediante una regresión no lineal (programa SPSS para Windows, versión 10.0.6). Todos estos valores se evaluaron con los modelos exponencial simple y exponencial doble, y se escogió el modelo cuya bondad de ajuste fue mayor. Con el suelo de Cacute-bosque se escogió el modelo logístico ya que los otros dos modelos dieron valores de R<sup>2</sup> menores a 0,99.

Los parámetros generados con los modelos escogidos, fueron sometidos al análisis estadístico con el programa STATISTICA 4.5 (Statsoft, INC, 1993). Primero fueron evaluados con el test de Shapiro-Wilk para verificar si cumplían los supuestos de normalidad. Las variables que no cumplieron tales supuestos fueron transformados con log y se les hizo un ANOVA y la prueba HSD (distancias imparciales significativas) de Tukey para determinar las diferencias entre las medias. Las variables que no se normalizaron se evaluaron con el ANOVA de Kruskal-Wallis y la prueba de comparación de rangos medios (Paquete STATISTIX 7).

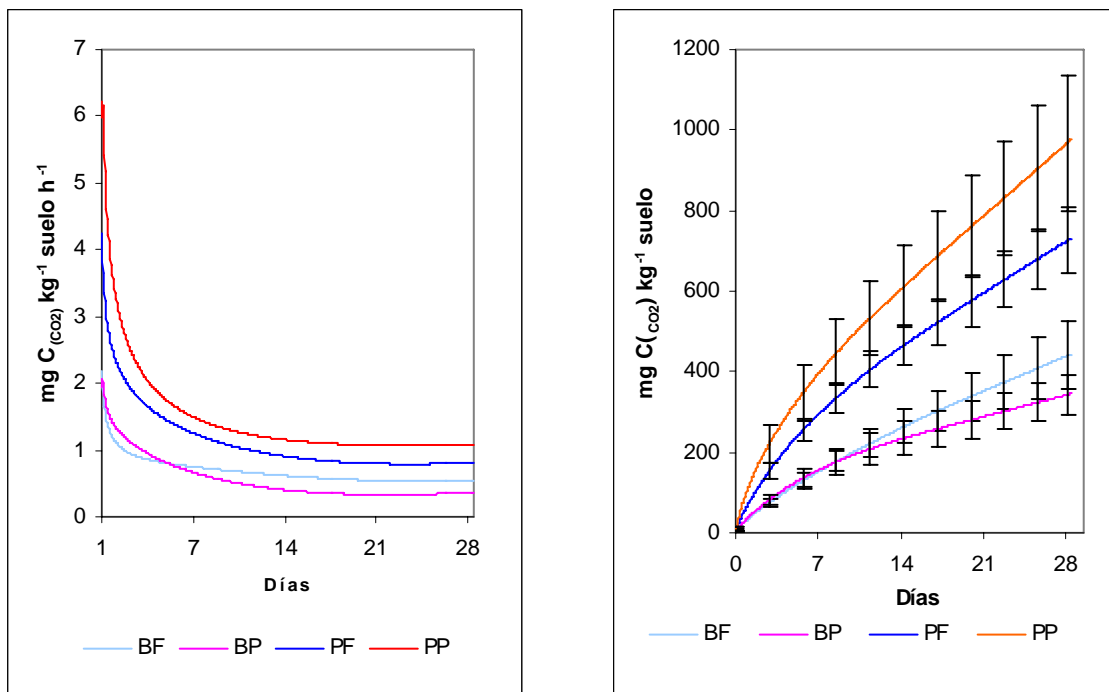
Para el análisis de correlación entre las variables de la respiración microbiana y las variables bióticas (estructura de las comunidades microbianas) y las abióticas, se utilizaron los datos sin transformar y se aplicó el coeficiente de correlación de Spearman (prueba no paramétrica).

### 6.3. Resultados

La respiración microbiana de los suelos de páramo y sus cultivos asociados siguió una cinética de primer orden (Fig. 6.1) que se ajustó a un modelo doble exponencial ( $M_{act}=S_0(1-e^{-\mu_0 t}) + S_1(1-e^{-\mu_1 t})$ ). Los resultados de los parámetros cinéticos (Tabla 6.1) indican, que el único parámetro respiratorio que mostró cambios significativos ( $p<0,05$ ) con la conversión de páramo a cultivo de papa fue la velocidad máxima de respiración ( $\mu_{max}$ ), que en Los Pozos aumentó, de  $4,3\pm 1,0$  a  $6,9\pm 1,3$   $\text{mg C}_{(CO_2)} \text{kg}^{-1} \text{suelo h}^{-1}$ . Los resultados también muestran que los dos páramos naturales presentaron diferencias significativas en los valores de la actividad microbiana ( $M_{act}$ ) y en el de carbono potencialmente mineralizable ( $S_0$ ), que resultaron ser superiores en el páramo de Los Pozos. Por otra parte, entre los dos cultivos de papa, el de Los Pozos mostró mayor ( $p<0,05$ ) actividad respiratoria microbiana ( $M_{act}$ ), tasa de mineralización de la materia orgánica recalcitrante ( $\mu_1$ ), velocidad máxima de respiración  $\mu_{max}$  y velocidad de respiración basal ( $E$ ).

A.

B.



**Figura 6.1.** Velocidad de respiración (A) y modelo cinético (B) de la respiración microbiana de los suelos de páramo, naturales y cultivados.

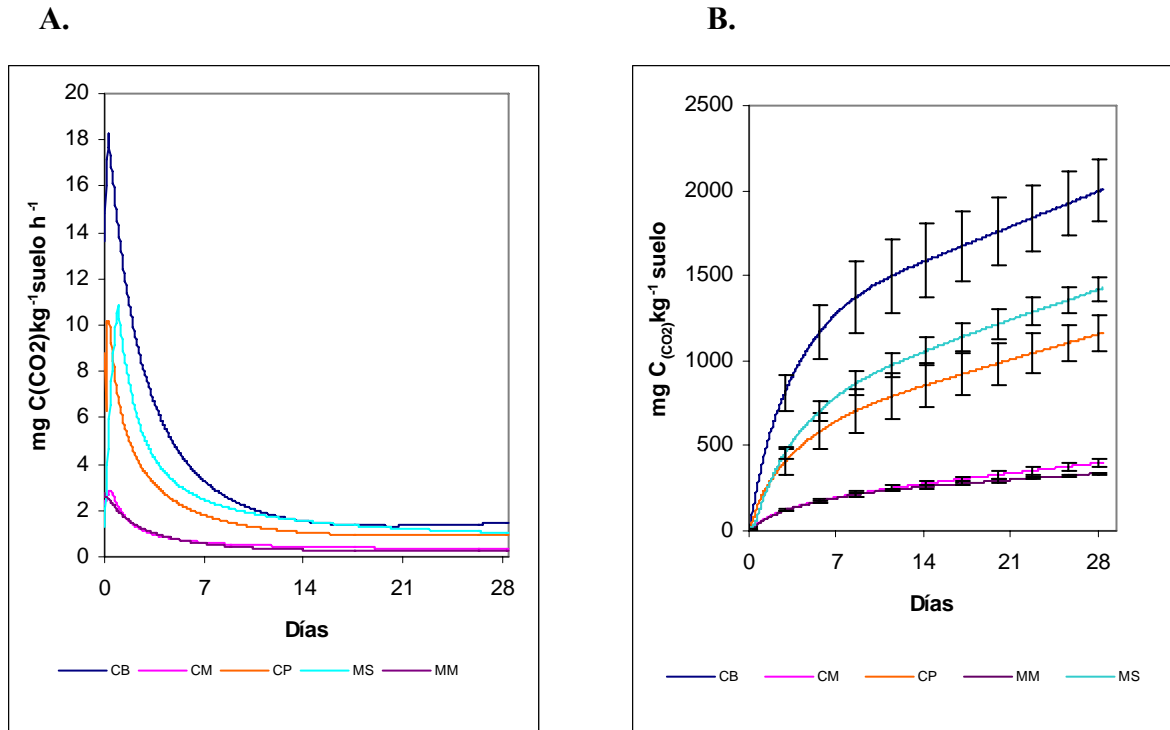
BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos papa. Las barras representan los valores de desviación típica.

**Tabla 6.1.** Parámetros cinéticos del modelo doble exponencial de primer orden al que se ajustó la respiración microbiana de los suelos de páramo (media±DE).

	Los Bahitos, Páramo	Los Bahitos, Papa	Los Pozos, Páramo	Los Pozos, Papa
<b>M<sub>act</sub> (mg C/kg)</b>	443,4±85,8(a)	345±49,9(a)	730,5±82,8(b)	975,6±169,8(b)
<b>M<sub>act</sub>/C<sub>total</sub> (%)</b>	1,1±0,03(a)	1,5±0,2(a,b)	1,5±0,1(a,b)	1,8±0,3(b)
<b>S<sub>o</sub> (mg C/kg)</b>	95,8±33,4(a)	139,1±51,3(a,b)	213,4±43(b)	243,5±37(b)
<b>μ<sub>o</sub> (día<sup>-1</sup>)</b>	0,20±0,07(a)	0,23±0,04(a)	0,23±0,03(a)	0,34±0,07(a)
<b>S<sub>1</sub>(g C/kg)</b>	40,1±8,0(a,b)	23,3±0,61(a)	47,9±1,7(a,b)	55,2±0,63(b)
<b>μ<sub>1</sub> (x10<sup>4</sup> día<sup>-1</sup>)</b>	3,2±0,45(a)	3,3±0,4(a)	4,0±0,60(a,b)	4,9±0,9(b)
<b>S<sub>1</sub>/C<sub>t</sub> (%)</b>	99,75±0,001(a)	99,41± 0,002(b)	99,56± 0,001(a,b)	99,56± 0,001(a,b)
<b>R<sup>2</sup></b>	0,9999	0,9999	0,9999	0,9998
<b>t<sub>1/2</sub> de S<sub>o</sub>(día)</b>	3,7±1,1(a)	3,2±0,7(a)	3,0±0,4(a)	2,1±0,5(a)
<b>t<sub>1/2</sub> de S<sub>1</sub>(año)</b>	6,0±0,8(a)	5,9±0,7(a,b)	4,8±0,8(a,b)	3,9±0,7(b)
<b>μ<sub>max</sub></b>	2,2±0,9(a)	2,0±0,2(a)	4,3±1,0(a)	6,9±1,3(b)
<b>t<sub>max</sub> (hora)</b>	1±0(a)	2±1(a)	1±0(a)	1±0(a)
<b>E</b>	0,54±0,15(a)	0,34±0,03(a)	0,79±0,11(a,b)	1,08±0,29(b)
<b>t<sub>E</sub> (día)</b>	19±1(a)	18±2(a)	22±4(a)	15±3(a)
<b>qCO<sub>2</sub></b>	3,82±0,72(a,b)	2,28±0,35(a)	4,57±1,08(b)	3,58±0,68(a,b)

M<sub>act</sub>: actividad microbiana (C<sub>(CO2)</sub> acumulado después de 28 días de incubación); M<sub>act</sub>/C<sub>total</sub>: tasa de mineralización; S<sub>o</sub>: fracción lábil de la MOS; μ<sub>o</sub>: constante de velocidad de oxidación de S<sub>o</sub>; S<sub>1</sub>: materia orgánica recalcitrante; μ<sub>1</sub>: constante de velocidad de oxidación de S<sub>1</sub>; S<sub>1</sub>/C<sub>t</sub>: relación S<sub>1</sub>/ carbono total; t<sub>1/2</sub>: vida media de la materia orgánica; μ<sub>max</sub>: velocidad máxima de actividad (mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>); t<sub>max</sub>: tiempo para alcanzar μ<sub>max</sub>; E: velocidad de estabilización (mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>); t<sub>E</sub>: tiempo para alcanzar E; qCO<sub>2</sub>: coeficiente metabólico (mgC<sub>(CO2)</sub> h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> C<sub>mic</sub>). Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05; HSD).

La respiración microbiana de los suelos de Cacute-bosque, se ajustó (R<sup>2</sup>: 0,998), durante las primeras cinco horas a un modelo logístico (M<sub>act</sub>= A/(1+e<sup>(4μ<sub>max</sub>/A)(λ-t)+2</sup>) y luego siguió un modelo doble exponencial (Fig. 6.2). Durante la fase logística de los suelos de Cacute-bosque, los resultados de los parámetros respiratorios fueron: 100,4±21,0 mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo de A (cantidad estimada de C<sub>(CO2)</sub> desprendido durante la fase logística), 17,8±3,9 mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup> de velocidad máxima de respiración (μ<sub>max</sub>) y un tiempo de latencia (λ) de 0,63±0,04 horas. Los demás suelos de bosques y cultivos asociados siguieron una cinética doble exponencial.



**Figura 6.2.** Velocidad de respiración (A) y modelo cinético (B) de la respiración microbiana de los suelos de bosques y sus cultivos asociados. CB: Cacute, bosque; CM: Cacute, maíz; CP: Cacute, potrero; MS: Mucuy, selva; MM: Mucuy, maíz. Las barras representan los valores de desviación típica.

En la Tabla 6.2 y la figura 6.2 se muestran los resultados de la respiración en los suelos de bosques y sus cultivos. Con la conversión de bosque siempreverde (Cacute- bosque) a potrero, ocurrieron cambios significativos en cinco parámetros respiratorios:  $M_{act}$ ,  $S_0$  y  $E$ , que disminuyeron; y  $t_{max}$  y  $qCO_2$ , que aumentaron. En la conversión de bosque a cultivo de maíz (Cacute-maíz), hubo cambios en los mismos cinco parámetros anteriores, aunque en mayor magnitud, pero además, disminuyó  $\mu_{max}$ .

En la conversión de selva nublada a cultivo de maíz, siete fueron los parámetros que mostraron cambios significativos:  $M_{act}$ ,  $S_0$  y  $E$ , que al igual que en las dos conversiones de bosque (a potrero y a maíz), disminuyeron su valor;  $\mu_1$  y  $t_{1/2}S_1$  que en la conversión en Cacute no habían mostrado cambios significativos pero que ahora muestran disminución y aumento de su valor, respectivamente; y  $t_{max}$  y  $qCO_2$ , que al contrario de lo ocurrido en el bosque de Cacute, disminuyeron su valor con la conversión de selva nublada a cultivo de maíz.

**Tabla 6.2.** Parámetros cinéticos de los modelos a los que se ajustó la respiración microbiana de los suelos de bosque (media±DE).

	Cacute, bosque	Cacute, potrero	Cacute, maíz	La Mucuy, selva	La Mucuy, maíz
$M_{act}$ (mg C/kg)	2008±183(a)	1164±105(b)	403±25(c)	1426±69(d)	341±7(c)
$M_{act}/C_{total}$ (%)	2,48±0,06(a)	2,33±0,17(ab)	1,58±0,14(ab)	2,46±0,14(ab)	1,17±0,1(b)
$S_0$ (mgC/kg)	1180±282(a)	549±173(b,e)	152±10(c,b)	744±108(d,e)	185±19(b,c)
$\mu_0$ (día <sup>-1</sup> )	0,40±0,07(a)	0,36±0,04(a,c)	0,36±0,04(a,c)	0,26±0,03(b,c)	0,29±0,03(a,c)
$S_1$ (g C/kg)	79,8±5,3(a)	49,6±4,9(b)	25,4±1,6(c)	57,2±1,8(b)	27,5±0,5(c)
$\mu_1$ (x10 <sup>4</sup> día <sup>-1</sup> )	3,9±0,9(a,c)	4,7±1,3(a)	3,7±0,5(a,c)	4,4±0,2(a)	2,0±0,3(b,c)
$S_1/Ct$ (%)	98,6±0,003(a)	98,9±0,002(a,c)	99,4±0(b,c)	98,7±0,002(a)	99,3±0,001(b,c)
$R^2$	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
$t_{1/2}$ de $S_0$ (día)	1,8±0,3(a)	1,9±0,2(a,c)	2,0±0,2(a,c)	2,7±0,3(b)	2,4±0,2(b,c)
$t_{1/2}$ de $S_1$ (año)	5,0±1,2(a)	4,2±1,0(a)	5,2±0,7(a)	4,3±0,2(a)	9,6±1,4(b)
$\mu_{max}$	18,4±2,9(a)	10,2±2,0(ab)	2,8±0,5(b)	10,6±1,2(ab)	2,8±0,32(b)
$t_{max}$ (hora)	7±2(a)	14±1(b)	15±3(b,c)	19±3(c)	1±0(d)
$E$	1,4±0,16(a)	0,92±0,20(b,e)	0,38±0,04(b,d)	1,09±0,11(e)	0,25±0,02(c,d)
$t_E$ (día)	15±1(a)	18±5(a)	17±3(a)	17±5(a)	17±2(a)
$qCO_2$	9,9±0,92(x10 <sup>-5</sup> )(a)	1,90±0,41(b)	2,56±0,27(b)	4,95±0,69(c)	2,37±0,67(b)

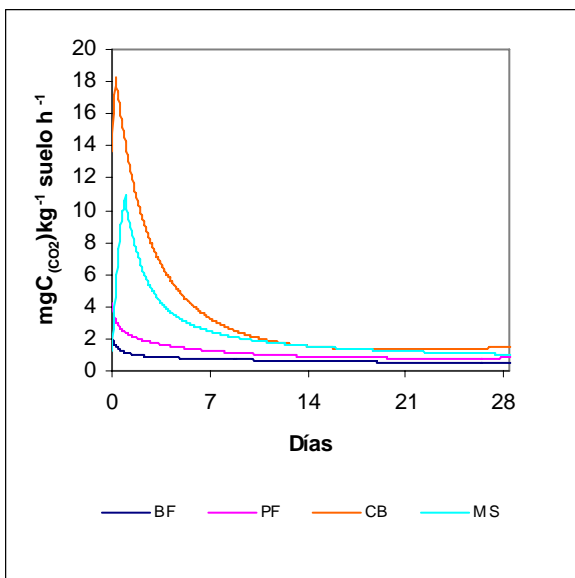
$M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{(CO_2)}$  acumulado después de 28 días de incubación);  $M_{act}/C_{total}$ : tasa de mineralización;  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $\mu_1$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_1$ ;  $S_1/Ct$ : relación  $S_1$ / carbono total;  $t_{1/2}$ : vida media de la materia orgánica;  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad (mg  $C_{(CO_2)}$  kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>);  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ;  $E$ : velocidad de estabilización (mg  $C_{(CO_2)}$  kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>);  $t_E$ : tiempo para alcanzar  $E$ ;  $qCO_2$ : coeficiente metabólico (mg $C_{(CO_2)}$  h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup>  $C_{mic}$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p<0,05$ ; HSD).

Comparando los parámetros respiratorios de los suelos de los ecosistemas naturales (Fig. 6.3 y Tabla 6.3) encontramos que los suelos de Cacute fueron los que presentaron mayor valor ( $p<0,05$ ) de actividad microbiana ( $M_{act}$ ), sustrato potencialmente mineralizable ( $S_0$ ) y velocidad máxima de actividad ( $\mu_{max}$ ) y menores valores ( $p<0,05$ ) de vida media de la materia orgánica potencialmente mineralizable ( $t_{1/2}$  de  $S_0$ ) y de coeficiente metabólico ( $qCO_2$ ). Cacute además, se diferencia de los suelos de páramo por presentar mayores valores en su tasa de mineralización ( $M_{act}/C_{total}$ ), en su constante de velocidad de oxidación de  $S_0$  ( $\mu_0$ ) y mayor velocidad de estabilización ( $E$ ). También otros parámetros mostraron cambios en sus valores, y aunque no se diferenciaron significativamente ( $p<0,05$ ), sin embargo, valdría la pena señalar, como es el caso de  $t_{max}$  (tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ) que en los páramos estuvo comprendido en la primera hora de incubación mientras que en los bosques fue de 7 y 19 horas.

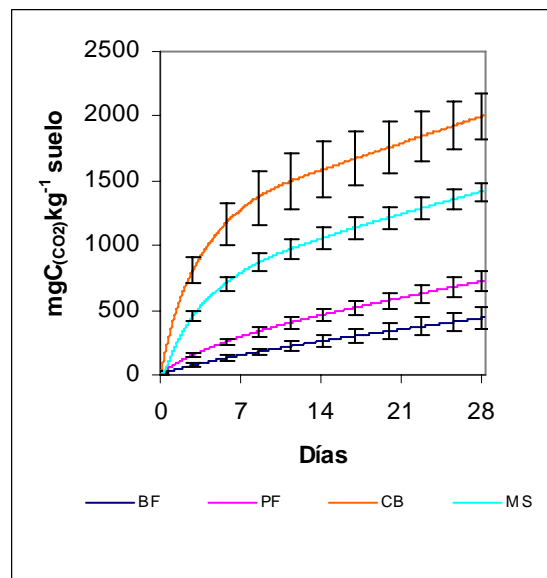
Entre los suelos de cultivo (Fig. 6.4; Tabla 6.4), destaca Cacute-potrero, que se distingue entre todos los demás suelos por una mayor ( $p<0,05$ ) tasa de mineralización ( $M_{act}/C_{total}$ ), y una mayor cantidad de materia orgánica potencialmente mineralizable ( $S_0$ ). El suelo de Cacute-potrero, junto con

el de Los Pozos-papa, presentan los mayores ( $p < 0,05$ ) valores de  $\mu_{\max}$  y de E. También el potrero resalta, aunque no de manera significativa, por sus elevados valores de actividad microbiana ( $M_{\text{act}}$ ) y tiempo ( $t_{\max}$ ) para alcanzar  $\mu_{\max}$ . Entre los demás cultivos, se puede ver que Los Pozos-papa se distingue de los Bahitos, por presentar mayores valores de  $\mu_{\max}$  y de E, mientras que entre los cultivos de maíz, La Mucuy supera a Cacute en la magnitud de la vida media de la materia orgánica recalcitrante  $t_{1/2}S_1$ , y también, aunque no significativamente, en  $t_{\max}$  (tiempo para alcanzar  $\mu_{\max}$ ), que en Cacute es de 15 horas mientras en La Mucuy es de apenas una hora.

A.



B.



**Figura 6.3.** Velocidad de respiración (A) y modelo cinético (B) de la respiración microbiana de los suelos de páramo y bosques

BF: Los Bahitos, páramo; Los Pozos, páramo; CB: Cacute, bosque; MS: La Mucuy, selva Las barras representan los valores de desviación típica

**Tabla 6.3.** Parámetros cinéticos del modelo exponencial doble de primer orden al que se ajustó la respiración microbiana de los suelos de páramo y bosques (media±DE).

	Los Bahitos, Páramo	Los Pozos, Páramo	Cacute, bosque	La Mucuy, selva
<b>M<sub>act</sub> (mg C/kg)</b>	443,4±85,8(a)	730,5±82,8(a)	2008±183(b)	1426±69(c)
<b>M<sub>act</sub>/C<sub>total</sub> (%)</b>	1,1±0,03(a)	1,52±0,12(a)	2,48±0,06(b)	2,46±0,14(ab)
<b>S<sub>0</sub> (mg C/kg)</b>	95,8±33,4(a)	213,4±43(a)	1180±282(b)	744±108(c)
<b>μ<sub>0</sub>(día<sup>-1</sup>)</b>	0,20±0,07(a)	0,23±0,03(a)	0,40±0,07(b)	0,26±0,03(ab)
<b>S<sub>1</sub>(g C/kg)</b>	41,1±8,0(a)	60,7±1,7(a,c)	71,2±5,3(b)	56,2±1,8(c)
<b>μ<sub>1</sub>(x10<sup>4</sup> día<sup>-1</sup>)</b>	3,2±0,45(a)	4,0±0,6(a)	3,9±0,9(a)	4,4±0,2(a)
<b>S<sub>1</sub>/C<sub>t</sub> (%)</b>	99,7±0,001(a)	99,1±0,001(a)	98,8±0,003(b)	98,6±0,002(b)
<b>R<sup>2</sup></b>	0,999	0,999	0,999	0,999
<b>t<sub>1/2</sub> de S<sub>0</sub> (día)</b>	3,7±1,1(a)	3,0±0,4(a)	1,8±0,3(b)	2,7±0,3(a)
<b>t<sub>1/2</sub> de S<sub>1</sub> (año)</b>	6,0±0,8(a)	4,8±0,8(a)	5,0±1,2(a)	4,3±0,2(a)
<b>μ<sub>max</sub></b>	2,2±0,9(a)	4,3±1,0(a)	18,4±2,9(b)	10,6±1,2(c)
<b>t<sub>max</sub> (hora)</b>	1±0(a)	1±0(a)	7±2(a)	19±3(a)
<b>E</b>	0,54±0,15(a)	0,79±0,11(a,c)	1,4± 0,16(b)	1,09± 0,11(b,c)
<b>t<sub>E</sub> (día)</b>	19±1(a)	22±4(a)	15±1(a)	17±5(a)
<b>qCO<sub>2</sub></b>	3,82±0,72(a)	4,57±1,08(a)	9,9±0,92(x10 <sup>-5</sup> )(b)	4,95±0,69(a)

M<sub>act</sub>: actividad microbiana (C<sub>(CO2)</sub> acumulado después de 28 días de incubación); M<sub>act</sub>/C<sub>total</sub>: tasa de mineralización; S<sub>0</sub>: fracción lábil de la MOS; μ<sub>0</sub>: constante de velocidad de oxidación de S<sub>0</sub>; S<sub>1</sub>: materia orgánica recalcitrante; μ<sub>1</sub>: constante de velocidad de oxidación de S<sub>1</sub>; S<sub>1</sub>/C<sub>t</sub>: relación S<sub>1</sub>/ carbono total; t<sub>1/2</sub>: vida media de la materia orgánica; μ<sub>max</sub>: velocidad máxima de actividad (mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>); t<sub>max</sub>: tiempo para alcanzar μ<sub>max</sub>; E: velocidad de estabilización (mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup> suelo h<sup>-1</sup>); t<sub>E</sub>: tiempo para alcanzar E; qCO<sub>2</sub>: coeficiente metabólico (mgC<sub>(CO2)</sub>h<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> C<sub>mic</sub>). Letras diferentes indican diferencias significativas (p<0,05; HSD).

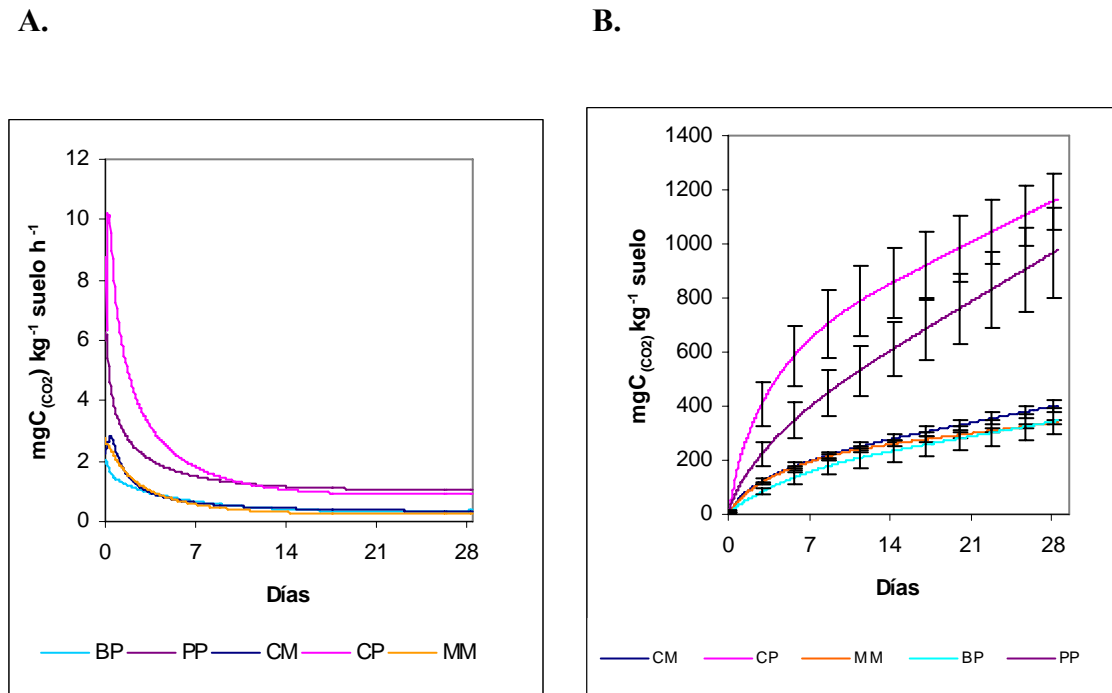
Por otra parte, la mayoría de los parámetros de actividad microbiana estuvieron correlacionados de manera positiva entre sí (Tabla 6.5), con la excepción de t<sub>E</sub> (tiempo para alcanzar la velocidad de estabilización), que no se correlacionó con ninguno, y qCO<sub>2</sub> y los parámetros de vida media de la materia orgánica, que mostraron correlaciones negativas con los demás parámetros respiratorios. Los parámetros que mostraron las correlaciones positivas más fuertes (>0,90\*\*\*) fueron, M<sub>act</sub> con μ<sub>max</sub> y con E, μ<sub>max</sub> con S<sub>0</sub>; mientras que las mayores correlaciones negativas se encontraron entre t<sub>1/2</sub>S<sub>0</sub> y μ<sub>0</sub> y t<sub>1/2</sub>S<sub>1</sub> y μ<sub>1</sub>.

**Tabla 6.5.** Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman, entre las variables de la respiración microbiana de los suelos (n= (n=27)).

	$M_{act}$	$M_{act}/C_t$	$\mu_{max}$	$t_{max}$	E	$t_E$	$S_0$	$\mu_0$	$\mu_1$	$q_{CO_2}$	$S_1$	$S_1/C_t$
$M_{act}$	1,00											
$M_{act}/C_t$	0,85***	1,00										
$\mu_{max}$	0,93***	0,83***	1,00									
$t_{max}$	0,41*	0,65***	0,42*	1,00								
E	0,93***	0,80***	0,83 ***		1,00							
$t_E$						1,00						
$S_0$	0,88***	0,83***	0,92***	0,41*	0,76***		1,00					
$\mu_0$	0,39*	0,51**	0,52**	0,39*	0,39*	-0,59**		1,00				
$\mu_1$	0,64***	0,67***	0,57**		0,76***		0,44*	0,46*	1,00			
$q_{CO_2}$								-0,48*		1,00		
$S_1$	0,93***	0,68***	0,89***		0,89***		0,83***		0,54**		1,00	
$S_1/C_t$	-0,58**	-0,74***	-0,68***	-0,65***			-0,80***	-0,40*		0,42*	-0,44*	1,00

$M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{(CO_2)}$  acumulado a los 28 días);  $M_{act}/C_{total}$ : tasa de mineralización;  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad;  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ; E: velocidad de estabilización ( $mgC(CO_2) kg^{-1} suelo h^{-1}$ );  $t_E$ : tiempo en alcanzar E;  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $\mu_1$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_1$ (sustrato recalcitrante);  $q_{CO_2}$ : coeficiente metabólico;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $S_1/C_t$ : relación  $S_1$ /carbono total.

\*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$



**Figura 6.4.** Velocidad de respiración (A) y modelo cinético (B) de la respiración microbiana de los suelos de cultivo.

BP: Los Bahitos, papa; PP: Los Pozos, papa; CM: Cacute, maíz; CP: Cacute, potrero; MM: La Mucuy maíz. Las barras representan los valores de desviación típica.

Los parámetros respiratorios más fuertemente dependientes ( $\geq 0,90^{***}$ ) de las propiedades abióticas de los suelos (Tabla 6.6) fueron  $M_{\text{act}}$  con CC,  $C_t$  y  $N_t$ ;  $\mu_{\text{max}}$  con  $N_t$ ; y  $S_1$  con CC,  $C_t$ ,  $N_t$  y CIC. También, aunque en menor grado ( $0,80-0,89^{***}$ ), se correlacionaron de manera importante,  $M_{\text{act}}$  con CIC,  $\mu_{\text{max}}$  con  $C_t$ ,  $\text{Mg}^{2+}$  y CIC, E con CC,  $C_t$ ,  $N_t$  y CIC, y  $S_0$  con CC,  $C_t$ ,  $N_t$ . Se observa además que la velocidad de descomposición de  $S_1$  ( $\mu_1$ ) está muy correlacionada con el limo y  $S_1/C_t$  con la arcilla, lo cual implica que la estabilidad de la MOS viene dada sobre todo por la textura. De acuerdo a la Tabla 6.6 la propiedad abiótica que influyó sobre más parámetros respiratorios fue el contenido de  $\text{Mg}^{2+}$ , que se correlacionó sobre todos los parámetros calculados (14), seguido de CE y CIC (10), y por último CC,  $N_{\text{amo}}$  y  $K^+$  (8). En el otro extremo, encontramos que los parámetros que influyeron sobre menos propiedades abióticas fueron el pH (3); y la relación C/N y el contenido de P, que lo hicieron sobre dos de ellos.

El parámetro respiratorio más fuertemente dependiente ( $\geq 0,90^{***}$ ) de las propiedades bióticas de los suelos (Tabla 6.7) fue  $\mu_{\text{max}}$ , con BH; seguido ( $80-89^{***}$ ) de  $S_0$  con BH;  $\mu_{\text{max}}$  con CO, AM, y  $C_{\text{mic}}$ ;  $M_{\text{act}}$  con BH, CO y  $C_{\text{mic}}$ ;  $M_{\text{act}}/C_t$  con BH, CO y CB; E con  $C_{\text{mic}}$  y CO; y por último (aunque negativamente),  $q_{\text{CO}_2}$  con  $C_{\text{mic}}/C_t$ .

En otro sentido, la propiedad biótica que influyó sobre una mayor cantidad de parámetros respiratorios fue  $C_b$  (11), seguida de BH y CO (10); y Al y  $C_{mic}$ . La propiedad biótica que menos correlación mostró fue PG (1).

En general pareciera que los parámetros respiratorios fueron menos dependientes ( $\geq 0,90^{***}$ ) de las propiedades bióticas de los suelos (Tabla 6.6) que de las abióticas, si consideramos que el mayor valor de correlación fue de 0,93.

**Tabla 6.4.** Parámetros cinéticos del modelo exponencial doble de primer orden al que se ajustó la respiración microbiana de los suelos de cultivos (media $\pm$  DE).

	Los Bahitos, Papa	Los Pozos, Papa	Cacute, Potrero	Cacute, Maíz	La Mucuy, Maíz
$M_{act}$ (mg C/kg)	345 $\pm$ 50(a)	976 $\pm$ 170(a)	1164 $\pm$ 105(a)	403 $\pm$ 25(a)	341 $\pm$ 7(a)
$M_{act}/C_{total}$	1,47 $\pm$ 0,17(ac)	1,76 $\pm$ 0,29(a)	2,33 $\pm$ 0,17(b)	1,58 $\pm$ 0,14(ac)	1,17 $\pm$ 0,10(c)
$S_0$ (mg/kg)	139 $\pm$ 51(a)	244 $\pm$ 37(a)	549 $\pm$ 173(b)	152 $\pm$ 10(a)	185 $\pm$ 19(a)
$\mu_0$ ( $dia^{-1}$ )	0,23 $\pm$ 0,04(a)	0,34 $\pm$ 0,07(ac)	0,36 $\pm$ 0,04(bc)	0,36 $\pm$ 0,04(bc)	0,29 $\pm$ 0,03(ab)
$S_1$ (g/kg)	23,3 $\pm$ 0,61(a)	55,2 $\pm$ 0,63(b)	49,6 $\pm$ 4,9(a,b)	25,4 $\pm$ 1,6(a,b)	27,5 $\pm$ 0,49(a,b)
$\mu_1$ ( $\times 10^4$ $dia^{-1}$ )	3,3 $\pm$ 0,4(a,c)	4,9 $\pm$ 0,9(a)	4,7 $\pm$ 1,3(a)	3,7 $\pm$ 0,5(a,c)	2,0 $\pm$ 0,3(b,c)
$S_1/Ct$ (%)	99,4 $\pm$ 0,002(ab)	99,6 $\pm$ 0,001(a)	98,9 $\pm$ 0,002(b)	99,4 $\pm$ 0(ab)	99,3 $\pm$ 0,001(ab)
$R^2$	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999
$t_{1/2}$ de $S_0$ (día)	3,2 $\pm$ 0,7(a)	2,1 $\pm$ 0,5(a,b)	1,9 $\pm$ 0,2(b)	2,0 $\pm$ 0,2(b)	2,4 $\pm$ 0,2(a,b)
$t_{1/2}$ de $S_1$ (año)	5,9 $\pm$ 0,7(a)	3,9 $\pm$ 0,7(a)	4,2 $\pm$ 1,0(a)	5,2 $\pm$ 0,7(a)	9,6 $\pm$ 1,4(b)
$\mu_{max}$	2,0 $\pm$ 0,2(a)	4,3 $\pm$ 1,0(b)	10,2 $\pm$ 2,0(b)	2,8 $\pm$ 0,5(a)	2,8 $\pm$ 0,3(a)
$t_{max}$ (hora)	2 $\pm$ 0(a)	1 $\pm$ 0(a)	14 $\pm$ 1(a)	15 $\pm$ 3(a)	1 $\pm$ 0(a)
E	0,34 $\pm$ 0,03(a)	1,08 $\pm$ 0,29(b)	0,92 $\pm$ 0,20(b)	0,38 $\pm$ 0,04(a)	0,25 $\pm$ 0,02(a)
$t_E$ (día)	18 $\pm$ 2(a)	15 $\pm$ 3(a)	18 $\pm$ 5(a)	17 $\pm$ 3(a)	17 $\pm$ 2(a)
$qCO_2$	2,28 $\pm$ 0,25(a,b)	3,58 $\pm$ 0,68(a)	1,90 $\pm$ 0,41(b)	2,56 $\pm$ 0,27(a,b)	2,37 $\pm$ 0,67(a,b)

$M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{CO_2}$ ) acumulado después de 28 días de incubación);  $M_{act}/C_{total}$ : tasa de mineralización;  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $\mu_1$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_1$ ;  $S_1/Ct$ : relación  $S_1$ / carbono total;  $t_{1/2}$ : vida media de la materia orgánica;  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad (mg  $C_{CO_2}$   $kg^{-1}$  suelo  $h^{-1}$ );  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ; E: velocidad de estabilización (mg  $C_{CO_2}$   $kg^{-1}$  suelo  $h^{-1}$ );  $t_E$ : tiempo para alcanzar E;  $qCO_2$ : coeficiente metabólico (mg $C_{CO_2}$   $h^{-1}$   $g^{-1}$   $C_{mic}$ ). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ; HSD).

**Tabla 6.6.** Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman entre las variables de la respiración microbiana del suelo y las propiedades abióticas (n=27).

	$M_{act}$	$M_{act}/C_t$	$\mu_{max}$	$t_{max}$	E	$t_E$	$S_0$	$\mu_0$	$\mu_1$	$S_1$	$S_1/C_t$	$qCO_2$
<b>pH</b>								0,62***				-0,43*
<b>CC</b>	0,90***	0,67***			0,86***		0,84***	0,43*	0,55**	0,95***		
<b>CE</b>	0,38*	0,54**	0,46		0,41*	-0,39*	0,43*	0,53**			-0,39*	-0,43*
<b>C<sub>t</sub></b>	0,93***	0,66***	0,89***		0,88***		0,83***		0,53**	0,99***	-0,45*	
<b>N<sub>t</sub></b>	0,93***	0,72***	0,93***		0,87***		0,87***		0,55**	0,96***	-0,54**	
<b>N<sub>inorg</sub></b>	0,48*	0,48*	0,45*		0,58**		0,44*		0,45*	0,48*		
<b>N<sub>amo</sub></b>	0,56***	0,69***	0,60***	0,46*	0,55**		0,65***		0,39*	0,48*	-0,62***	
<b>N<sub>nitr</sub></b>			-0,40*	-0,51**			-0,46*	-0,41*			0,69***	
<b>C/N</b>				-0,56**		0,44*					0,49**	
<b>P</b>			-0,39*				-0,47*				0,40*	
<b>Al<sup>3+</sup></b>						0,38*		-0,72***				0,62***
<b>Ca<sup>2+</sup></b>		0,40*	0,46*			-0,40*	0,38*	0,71***				
<b>Mg<sup>2+</sup></b>	0,70***	0,77***	0,80***	0,51**	0,64***	-0,47*	0,77***	0,77***	0,47*	0,60***	-0,68***	-0,43*
<b>K<sup>+</sup></b>	0,39*	0,52**			0,50**	-0,40*		0,57**	0,49**			
<b>Na<sup>+</sup></b>		0,51**	0,43*	0,52**				0,48*	0,43*			
<b>CIC</b>	0,86***	0,68***	0,87***		0,84***		0,78***	0,44*	0,61***	0,90***	-0,39*	
<b>a</b>									-0,40*		-0,40*	
<b>L</b>	0,40*		0,43*		0,47*			0,38*	0,70***			
<b>A</b>	-0,40*	-0,52**		-0,54**			-0,45*				0,73***	
<b>L+A</b>									0,40*		0,40*	
<b>CH</b>	0,46*		0,51**		0,42*		0,51**					0,46*

$M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{(CO_2)}$  acumulado a los 28 días);  $M_{act}/C_{total}$ : tasa de mineralización;  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad;  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ; E: velocidad de estabilización ( $mg C_{(CO_2)} kg^{-1}$  suelo  $h^{-1}$ );  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $S_1/C_t$ : relación  $S_1$ /carbono total;  $\mu_1$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_1$  (sustrato recalcitrante);  $qCO_2$ : coeficiente metabólico; CC: capacidad de campo; CT: conductividad eléctrica;  $C_t$ : C total;  $N_t$ : N total;  $N_{inorg}$ : N inorgánico;  $N_{amo}$ :  $N-NH_4^+$ ;  $N_{nitr}$ :  $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ ; C/N: relación carbono/nitrógeno; CIC: capacidad de intercambio catiónico; a: arena; L: limo; A: arcilla; L+A: limo+arcilla; CH: contenido de agua.

\*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$

**Tabla 6.7.** Matriz de los coeficientes de correlación de Spearman, entre las variables de la respiración microbiana del suelo y las propiedades bióticas (n=27).

	$M_{act}$	$M_{act}/C_t$	$\mu_{max}$	$t_{max}$	E	$t_E$	$S_0$	$\mu_0$	$S_1$	$S_1/C_t$	$\mu_1$	$qCO_2$
BH	0,84***	0,85***	0,92***	0,53**	0,76***		0,89***	0,54**	0,77***	-0,71***	0,57**	
CE								0,62***		-0,38*		-0,58**
AL	0,61***	0,66***	0,60**		0,63***		0,57**	0,46*	0,54**		0,47*	
AM	0,79***	0,72***	0,81***	0,40*	0,74***		0,82***		0,77***	-0,54**	0,55**	
PR												
OL											0,51**	0,63***
CO	0,82***	0,84***	0,86***	0,50**	0,81***		0,81***	0,55**	0,76***	-0,58**	0,67***	
O/C								-0,39*				0,65***
PG					0,41*							
$C_{mic}$	0,82***	0,78***	0,81***		0,84***		0,72***	0,57**	0,74***	-0,45*	0,64***	
$C_{mic}/C_t$		0,56**						0,64***		-0,44*		-0,80***
$C_f$	0,59**	0,43*	0,52**		0,72***		0,45*	0,38*	0,58**		0,46*	
$C_b$	0,71***	0,80***	0,71***	0,55**	0,65***		0,73***	0,49**	0,59**	-0,70***	0,41*	-0,43*
$C_f/C_b$				-0,40*			-0,41*			0,74***		0,47*

$M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{(CO_2)}$  acumulado a los 28 días);  $M_{act}/C_{total}$ : tasa de mineralización;  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad;  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ; E: velocidad de estabilización ( $mg C_{(CO_2)} kg^{-1}$  suelo  $h^{-1}$ );  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $S_1/C_t$ : relación  $S_1$ /carbono total;  $\mu_1$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_1$  (sustrato recalcitrante);  $qCO_2$ : coeficiente metabólico.

BH: bacterias heterótrofas; CE: celulolíticos; AL: amilolíticos; AM: amonificantes; PR: proteolíticos; OL: oligotrofos; CO: copiotrofos; O/C: relación oligotrofos/copiotrofos; PG: propágulos de hongos;  $C_{mic}$ : carbono microbiano;  $C_{mic}/C_t$ : relación C microbiano/C total;  $C_f$ : carbono fúngico;  $C_b$ : carbono bacteriano;  $C_f/C_b$ : carbono fúngico/carbono bacteriano.

\*  $p \leq 0,05$ ; \*\*  $p \leq 0,01$ ; \*\*\*  $p \leq 0,001$

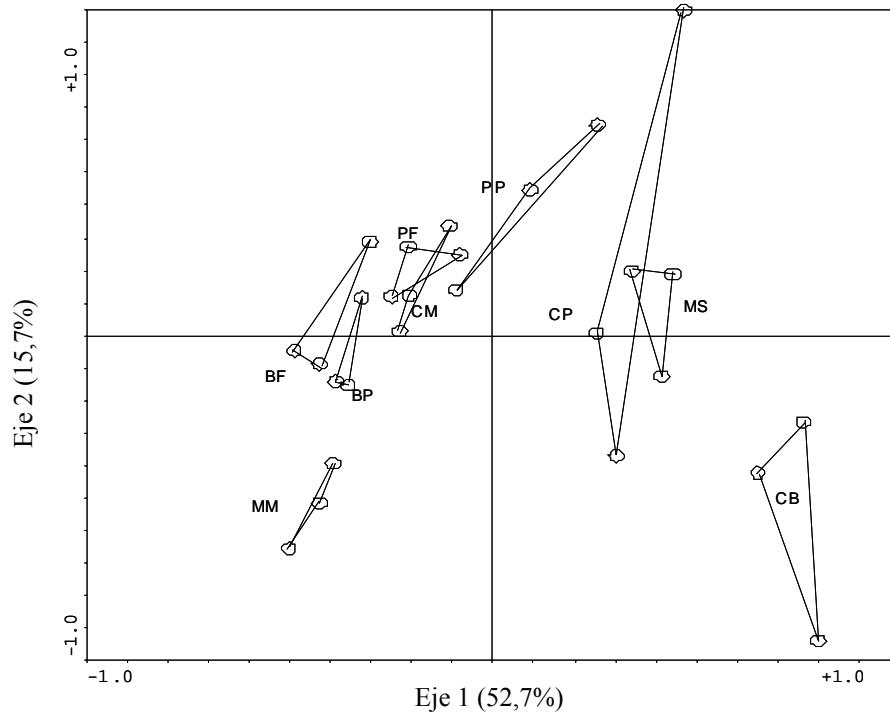
### **Análisis de Componentes Principales**

Los valores de los parámetros respiratorios fueron centrados y estandarizados y los resultados muestran que los dos primeros componentes explican el 52,7% y el 15,7% de la variación, y el tercero un 10,6% adicional. En el plano de ordenamiento (figura 6.5) se separan cuatro grupos de suelos: suelos del bosque siempreverde seco de Cacute (CB), suelos de la selva nublada de La Mucuy (MS) y del potrero de Cacute (CP), suelos de La Mucuy cultivados con maíz (MM) y el cuarto grupo formado por todos los demás suelos (BF, BF, PF, PP y CM).

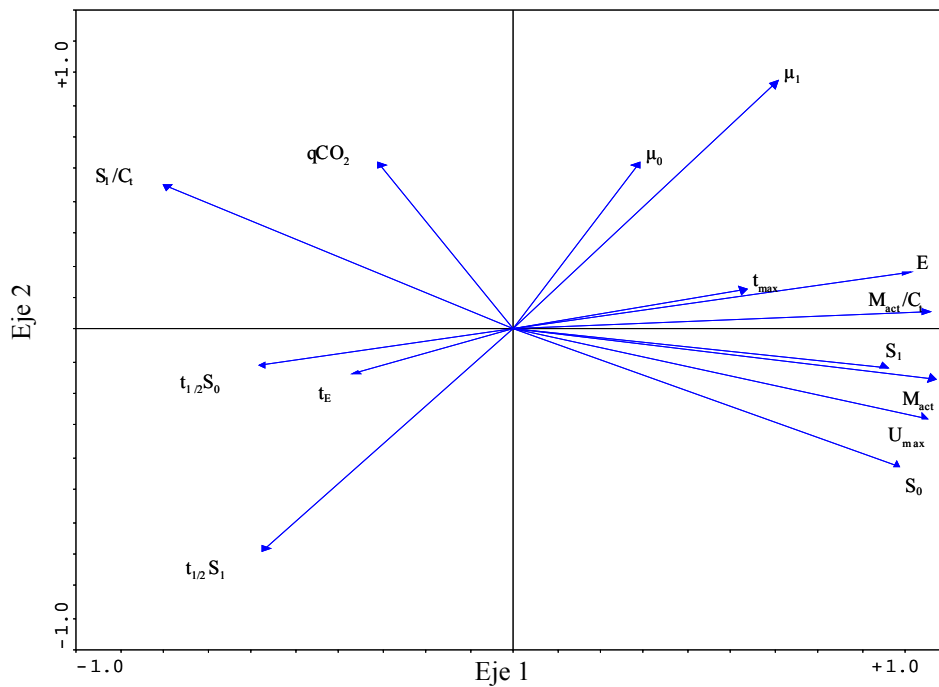
En la figura 6.5 vemos además, que sobre el primer eje de ordenamiento, se ubican en su parte más positiva, los suelos del bosque siempreverde (CB), seguidos del grupo que forman los suelos de la selva nublada de La Mucuy (MS) y el potrero de Cacute (CP) y los de papa de Los Pozos (PP) que ocupan la parte central del plano y que como se ve, sirven de conexión entre la porción negativa y la positiva del primer eje, y entre el grupo MS,CP y el otro grupo que forman, ya en la porción negativa del primer eje, los suelos de PF y CM. Por último, y sobre este mismo eje, se encuentran los suelos de Los Bahitos (BF, BP) y los del cultivo de maíz de La Mucuy (MM).

Al analizar la figura 6.6 se puede ver que la parte positiva del primer eje, en donde están los suelos del bosque siempreverde (CB), se asocia principalmente con los parámetros  $S_0$  y  $\mu_{max}$ , que mostraron sus valores más elevados en estos suelos. También se ve que la parte positiva de este eje, donde están los suelos del potrero de Cacute (CP) y buena parte de PP (Los Pozos-papa), se asocia con los parámetros  $\mu_0$ ,  $\mu_1$ , mientras que  $t_{max}$ ,  $E$  y  $M_{act}/C_t$ , están más asociados a MS (La Mucuy-selva). Por otra parte en la porción negativa del primer eje se ve a  $t_{1/2}S_1$  muy asociado a MM (La Mucuy-maíz) mientras que  $S_1/C_t$  lo está a BF, BP, PF, CM.

El segundo eje, por su parte, separa dos grupos de suelos: el constituido por el bosque de Cacute (CB) y el cultivo de maíz de La Mucuy (MM), que se ubican claramente en la porción negativa de este eje, y el ubicado hacia su porción positiva o menos negativa y que está constituido por el resto de los suelos.



**Figura 6.5.** Ordenamiento de todos los suelos estudiados con base en los parámetros respiratorios. BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: La Mucuy, maíz.



**Figura 6.6.** Ordenamiento de los parámetros respiratorios de todos los suelos.  $M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{CO_2}$  acumulado a los 28 días);  $M_{act}/C_t$ : tasa de mineralización;  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $\mu_1$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_1$ ;  $S_1/C_t$ : relación  $S_1$ / carbono total;  $t_{1/2}$ : vida media de la materia orgánica,  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad; E: velocidad de estabilización;  $qCO_2$ : coeficiente metabólico

## 6.4. Discusión

### Páramos y cultivos asociados

Los valores de los parámetros de mineralización derivados de los ajustes a la ecuación doble exponencial de los suelos de páramo presentaron algunas diferencias con los reportados en otros estudios hechos en páramo. Es el caso del páramo de Gavidia, estudiado por Sarmiento y Bottner (2002) y por Gonzales (2004). Los primeros autores estudian un suelo cultivado con papa durante los últimos 3 años después de 12 de barbecho y otro suelo que tenía 15 años de descanso. Sarmiento y Bottner (2002), señalan que sus datos se ajustaron a ecuaciones doble exponencial de primer orden, y reportan valores de  $S_0$  en el suelo en descanso de  $790 \text{ mg C}_{(\text{CO}_2)} \text{ kg}^{-1}$  suelo, con una constante de mineralización ( $\mu_0$ ) de  $0,125 \text{ dia}^{-1}$  y de  $0,8 \times 10^{-4} \text{ dia}^{-1}$  para  $S_1$  ( $\mu_1$ ), lo cual contrasta con los valores encontrados en los páramos sin intervenir de Los Bahitos y Los Pozos que fueron, en el caso de  $S_0$ , de 96 y  $213 \text{ mg C}_{(\text{CO}_2)} \text{ kg}^{-1}$ ,  $0,20$  y  $0,23 \text{ dia}^{-1}$  para  $\mu_0$ , y de  $3,2$  y  $4,0 \times 10^{-4}$  para  $\mu_1$ . Además, se presentaron diferencias importantes en los valores de vida media de la materia orgánica recalcitrante ( $\mu_1$ ), que varía entre 18 y 24 años en Gavidia, mientras que en el presente trabajo tan sólo alcanzaron valores comprendidos entre 3,9 y 6,0 años. De igual manera, los parámetros respiratorios de los suelos cultivados con papa estudiados en el trabajo de Sarmiento y Bottner (2002) también mostraron diferencias importantes respecto a los cultivos de papa de Los Bahitos y los Pozos.

Comparando los resultados del actual trabajo con los reportados por Gonzales (2004) en el páramo de Gavidia, en el que la autora estudia suelos de parcelas climax que no habían sido cultivados antes, vemos que los mismos no difieren mucho en lo que respecta al coeficiente metabólico ( $q\text{CO}_2$ ),  $M_{\text{act}}$  y respiración basal ( $E$ ), mientras que las mayores diferencias lo constituye que, la respiración microbiana acumulada de sus suelos se ajustó a un modelo exponencial simple. Otras diferencias se observaron en los valores de  $t_{\text{max}}$ , que en el trabajo de Gonzales (2004) varía entre 6 y 18 horas, y en  $t_E$ , que esta autora reporta entre 2 y 13 días. Gonzales (2004), también estudia suelos cultivados con papa y encuentra que sus datos se ajustaron a ecuaciones simples de primer orden, cuyos valores calculados de  $S_0$  variaron entre 1663 y  $2774 \text{ mg C kg}^{-1}$  suelo.

Todas estas diferencias, entre los parámetros respiratorios de los suelos de Gavidia y los del actual trabajo, pueden ser explicadas, por una parte en el hecho de que Gavidia, presenta mayores valores de precipitación (1329mm, Sarmiento y Bottner, 2002) que resultarían en una mayor productividad primaria neta y mayor incorporación de carbono (lábil y recalcitrante) al suelo. De hecho, en los suelos de Gavidia, el contenido de carbono es, en los estudiados por Gonzales (parcelas climax), entre  $85$  y  $132 \text{ g kg}^{-1}$ , y de  $105 \text{ g kg}^{-1}$  en los estudiados por Sarmiento y Bottner (suelos en descanso). En contraste, los suelos de páramo no intervenido de Los Bahitos y Los Pozos tienen, tan solo,  $40$  y  $48 \text{ g kg}^{-1}$  de carbono, respectivamente. Por otra parte, las grandes diferencias en la vida media de la materia

orgánica recalcitrante de los suelos de Gavidia (Sarmiento y Bottner, 2002) estaría indicando la presencia de complejos protectores de la materia orgánica, constituidos por  $\text{Al}^{3+}$  y óxidos de aluminio (Abadín *et al.* 2002) haciéndola inaccesible a las enzimas que participan en la descomposición (Couteaux *et al.*, 2002) y de ahí que este proceso se haga tan lento, tal y como se refleja en los altos valores de  $t_{1/2S_1}$ .

### **Bosques y cultivos asociados**

En la conversión de bosques a cultivos, vemos que los parámetros respiratorios del potrero presentaron valores intermedios respecto al bosque natural y al cultivo de maíz, en especial con respecto a  $M_{act}$ ,  $S_o$ ,  $\mu_{max}$  y  $E$ , lo cual habla a favor de los beneficios que este tipo de cultivo y su manejo tienen, en comparación con el de maíz, en donde ocurrió una drástica reducción de muchos de los parámetros respiratorios. Lo mismo se puede decir de la conversión de selva a cultivo de maíz que trajo consigo la disminución de los parámetros estudiados.

El potrero de Cacute (CP) posee mayor biomasa microbiana que La Mucuy-selva (MS) pero el 63% de la misma es C fúngico, mientras que MS tiene tan solo 24% de C fúngico. Los hongos presentan mayor eficiencia metabólica por lo que desprenden menos  $\text{CO}_2$  y de ahí que en CP aunque tiene mayor biomasa microbiana (BM), respira menos

La respiración microbiana de los suelos de bosque siempreverde y selva nublada presentó valores inferiores a los encontrados en suelos de bosques naturales y de plantaciones en el Amazonas Central (Oleg *et al.*, 2003); y muy superiores a los reportados en otros bosques, como es el caso de lo reportado por Diz (2003) con suelos de bosques de *Pinus pinaster* y de *Quercus rubor*, en Galicia, España, con valores de  $\mu_{max}$  entre 0,14 y 0,47  $\text{mg C}_{(\text{CO}_2)} \text{kg}^{-1} \text{suelo h}^{-1}$  y de  $M_{act}$ , después de 28 días de incubación, de tan solo 75  $\text{mg C}_{(\text{CO}_2)} / \text{kg suelo}$  en promedio. Otros trabajos hechos con suelos de bosques, también muestran valores inferiores de respiración respecto a los encontrados en el trabajo actual (Díaz-Raviña *et al.*, 1988, 1993; Miralles *et al.*, 2007) mientras que Ananyeva *et al.*, (2008) estudian suelos de bosques templados en Rusia, y reportan valores de respiración basal similares a los nuestros.

### **Ecosistemas naturales**

Los bajos valores de vida media de la materia orgánica recalcitrante, encontrados en los suelos de páramos y bosques no intervenidos, indican su vulnerabilidad a la descomposición y la importancia que tiene en estos ecosistemas un manejo adecuado de los cultivos durante la conversión a fin de no acelerar su mineralización.

Llama la atención que, a diferencia de otros estudios (Sarmiento y Bottner, 2002; Gonzales, 2004), en los suelos de páramo el valor de la biomasa microbiana es superior al de la materia orgánica lábil, sin embargo, se encuentra una fuerte correlación (0,72\*\*\*) entre ambos parámetros lo que indica que, como es de esperar, buena parte de la materia orgánica lábil es biomasa microbiana.

Las mayores tasas de respiración de los bosques respecto a los páramos y a los cultivos pueden explicarse por la mayor cantidad de materia orgánica lábil ( $S_0$ ) y a una mayor biomasa microbiana presente en estos suelos, dos factores muy determinantes en la respiración de los suelos (Winding *et al.*, 2005).

Los resultados de los ecosistemas naturales indican que no se detectaron diferencias significativas entre los parámetros respiratorios de los dos páramos, en contraste con lo encontrado en los dos ecosistemas de bosques, que si se diferenciaron en cinco de los parámetros estudiados, además de mostrar grandes diferencias con los suelos de páramo. Esto llama la atención si tenemos en consideración que, los dos páramos, son muy diferentes respecto a las características climáticas y sus propiedades bióticas, pues el de Los Bahitos es más seco y frío, y tiene menor población de bacterias heterótrofas que Los Pozos, así como de los grupos funcionales (Capítulo 5) aunque sus propiedades abióticas, no mostraron grandes diferencias, lo que sugiere que estas propiedades podrían ser más determinantes sobre la respuesta de los parámetros respiratorios que el clima y las propiedades bióticas. Aun así, se puede ver cierta tendencia en el páramo de Los Pozos a una mayor actividad respiratoria ( $M_{act}$ ), tasa de mineralización ( $M_{act}/C_t$ ) y  $S_0$ , que no es significativa estadísticamente, por lo que también habría que considerar que la alta variabilidad de los datos pudo enmascarar las diferencias. Además, a la hora de explicar los factores que actúan modulando la respiración edáfica, habría que tener en consideración también una hipótesis reciente, según la cual, la mineralización de la materia orgánica del suelo no es regulada ni por el tamaño, ni la actividad, ni la composición de la biomasa microbiana sino por diversos factores abióticos (Kemmitt *et al.*, 2008).

### **Cultivos**

Comparando los parámetros respiratorios de los suelos de cultivos vemos que el potrero destaca por presentar la mayor ( $p < 0,05$ ) tasa de mineralización ( $M_{act}/C_t$ ) y de  $S_0$ , y tiende además junto con Los Pozos-papa, aunque no significativamente, a una mayor actividad microbiana ( $M_{act}$ ) y un coeficiente metabólico menor. Los parámetros respiratorios de los cultivos están dentro del rango reportado para otros suelos agrícolas (Bertrand *et al.*, 2007).

### Comparando conversiones

En los suelos de páramo, con la conversión, no ocurrieron cambios significativos en el compartimiento  $S_0$  a diferencia de lo ocurrido en los bosques, en donde la conversión trajo consigo una considerable disminución en la magnitud de este parámetro, el cual, por el hecho de estar correlacionado con casi todos los demás parámetros respiratorios (Tabla 6.5), la mayoría de las veces muy fuertemente ( $p \leq 0,001$ ), trajo consigo cambios en esos otros parámetros respiratorios, tal y como indican la Tabla 6.2. Esto resalta la importancia que tiene el compartimiento lábil de la materia orgánica del suelo y lo vulnerable que puede ser, en vista de la drástica disminución que sufrió con la conversión (y el manejo) de los bosques a cultivos de maíz. En los cultivos de papa,  $S_0$  no presentó cambios significativos por efecto de la conversión, tal vez porque en estos cultivos se incluye la incorporación de gallinaza que aporta materia orgánica lábil (Machado, 2005) lo que podría compensar las pérdidas en este compartimiento como consecuencia de la labranza.

En la conversión de páramo a papa, no se detectaron cambios en el coeficiente metabólico, a diferencia de lo ocurrido con las conversiones de Cacute y La Mucuy, en donde  $qCO_2$  aumentó y disminuyó, respectivamente. En el caso de La Mucuy, se ve también (capítulo 5) que con la conversión ocurrió una disminución importante de la biomasa microbiana (50%) y del conteo viable de su población (una unidad logarítmica). Esto hace pensar que en La Mucuy con la conversión, una parte de la población microbiana desapareció y la que sobrevivió fue más eficiente en el uso del carbono y de ahí que el coeficiente metabólico sea menor. En la conversión del páramo los cambios, cuando los hubo, provocaron el aumento de la población o la biomasa microbiana, lo cual implica que no obró ninguna presión selectiva sobre las mismas que resultara en la selección de una población más eficiente en la administración de la energía.

### Respiración y propiedades bióticas

La correlación positiva entre la tasa de respiración y la biomasa microbiana (Tabla 6.6) está de acuerdo con lo reportado por otros autores (Dube *et al.*, 2009; Diz, 2003; Gonzales, 2004). Además vemos que entre los factores bióticos, la gran importancia que tiene la biomasa bacteriana ( $C_b$ ) sobre la biomasa fúngica ( $C_f$ ) ya que por una parte  $C_b$  se correlacionó con mayor cantidad de parámetros respiratorios y además con mayor fuerza en la mayoría de los casos. Los resultados de la correlación entre los parámetros respiratorios y las propiedades bióticas, sugieren también el diferente papel que podrían tener las bacterias y los hongos, respecto a la descomposición de la materia orgánica. Los altos y mayores valores de correlación entre la biomasa bacteriana ( $C_b$ ) y los parámetros respiratorios de velocidad máxima de respiración ( $\mu_{max}$ ) y la constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ , sugieren del papel protagónico que jugarían las bacterias en la respiración de estos suelos, quedando los hongos en

un lugar menos relevante. Esto estaría reforzado además por la relación negativa observada entre  $C_b$  y la vida media de  $S_0$ .

Llama también la atención que la población de microorganismos celulolíticos sólo muestra correlación con la tasa de mineralización de la materia orgánica lábil (y en consecuencia correlación negativa con la vida media de  $S_0$ ) y con el coeficiente metabólico (negativamente), lo cual estaría indicando un importante papel, no sólo en la degradación de  $S_0$  sino en la materia orgánica en general, así como que su abundancia en el suelo haría más eficiente el uso de la materia orgánica (menor  $qCO_2$ ).

Se ha sugerido que el coeficiente metabólico se correlaciona positivamente con la demanda de energía y en consecuencia, negativamente, con la eficiencia de las comunidades microbianas en el uso del carbono (Oren y Steinberger, 2008). Así, un coeficiente metabólico bajo indicaría bajos requerimientos de mantenimiento por los microorganismos o una alta calidad del sustrato utilizado (Sarmiento y Bottner, 2002). También, generalmente se acepta que un  $qCO_2$  elevado está relacionado con comunidades microbianas que como resultado de disturbios exógenos, funcionan de manera ineficiente y destinan una alta proporción del carbono a las labores de mantenimiento en lugar de dedicarlo a la biosíntesis (Oren y Steinberg, 2008). En el actual trabajo, la correlación negativa entre  $qCO_2$  y  $C_b$  (y positiva con  $C_f/C_b$ ) contrasta con lo reportado por otros autores y con la hipótesis generalmente aceptada de que los hongos poseen una mayor eficiencia metabólica que las bacterias y que en consecuencia liberan menos  $CO_2$  por unidad de masa celular (Han *et al.*, 2007). Si esto fuera así, se esperaría que el coeficiente metabólico se correlacionara negativamente con la relación  $C_f/C_b$  tal y como ha sido reportado por otros autores (Sakamoto y Oba, 1994). Sin embargo, algunos experimentos de laboratorio han desmontado esa hipótesis y no encuentran diferencias significativas entre las eficiencias metabólicas de comunidades microbianas con altas o bajas relaciones hongos/bacterias (Thiet *et al.*, 2006). Estas observaciones son consistentes con nuestros resultados. Otro aspecto que debe tomarse en cuenta, y que podría explicar lo sucedido, es que al calcular la biomasa fúngica tomando como factor de conversión la cantidad de ergosterol presente, tal y como se hizo en este trabajo, podrían hacerse estimaciones dudosas ya que el contenido de ergosterol en los hongos puede variar según la especie, la edad del micelio, la disponibilidad de oxígeno, etc. (Han *et al.*, 2007; Klamer y Baath, 2004; Zhao *et al.*, 2005).

En los resultados vemos una cierta correlación negativa de  $S_0$  con la constante de velocidad ( $\mu_0$ ) y una fuerte correlación positiva con la población de microorganismos oligotrofos. Según Semenov (1991) y Fierer *et al.*, (2007) las características más emblemáticas de los oligotrofos son: 1) una mayor efectividad en la asimilación de nutrientes debido a la gran afinidad de sus sistemas de transporte por los sustratos (bajas  $K_m$ ); 2) Un metabolismo más eficiente, es decir, una energía de mantenimiento (o coeficiente de mantenimiento) considerablemente baja (alta acumulación de biomasa por unidad de

sustrato consumido); 3) un uso muy eficiente de la energía debido a que poseen una o más “reacciones claves” que controlan la tasa a la cual metabolizan. Según todas estas consideraciones, se tendría que esperar bajos  $qCO_2$  a medida que aumenta la proporción de estos microorganismos en el suelo. Sin embargo, en nuestro trabajo encontramos que hay una fuerte correlación positiva entre  $qCO_2$  y la población de oligotrofos, cuando lo que se esperaría, tomando en cuenta las características fisiológicas enumeradas anteriormente es una correlación negativa entre estos dos parámetros. Pero hay que aclarar que la oligotrofia, no es necesariamente una condición obligatoria, sino que al contrario, es facultativa pues una buena parte los microorganismos oligotrofos, pueden transformarse en copiotrofos (transición  $K \rightarrow r$ ), que es lo que se conoce como oligotrofos facultativos y que fueron los que posiblemente se cuantificaron en este estudio (Strenstrom *et al.*, 2001; Tada *et al.*, 1995). Sería interesante determinar la población de oligotrofos obligados y hacer entonces las comparaciones correspondientes.

Otro resultado asociado con el coeficiente metabólico es su alta correlación negativa con  $C_{mic}/C_t$ , lo cual está acorde con los reportado por otros investigadores que señalan esta correlación inversa como indicativo de una estricta interdependencia entre el crecimiento microbiano y su mantenimiento (Moscatelli *et al.*, 2005). Este parámetro ( $C_{mic}/C_t$ ) es un indicador de la proporción de carbono disponible para el crecimiento microbiano (Anderson, 2003) y su correlación negativa con  $qCO_2$  significaría que en los ecosistemas estudiados, a medida que aumenta la cantidad de carbono que es utilizada para labores de biosíntesis (mayor relación  $C_{mic}/C_t$ ) mayor es la eficiencia de los microorganismos en el uso de ese carbono.

También es de mencionar, nuevamente, la correlación negativa entre  $qCO_2$  y la población de microorganismos celulolíticos lo cual sugiere la importancia de este grupo funcional de microorganismos que aunque fue el grupo con menor población de los estudiados, sin embargo, junto con los oligotrofos fueron los únicos que presentaron correlaciones con los parámetros respiratorios. Su correlación negativa con  $qCO_2$  y positiva con  $\mu_0$  sugiere que se trata de microorganismos con alta eficiencia metabólica que además de participar en la degradación de la celulosa estarían involucrados también en la descomposición de la materia orgánica lábil.

Es importante resaltar que mientras la población de copiotrofos se correlacionó (negativamente) con la vida media de la materia orgánica lábil y recalcitrante, los oligotrofos lo hicieron únicamente con la vida media de  $S_1$ , lo cual estaría relacionado con el papel que estos microorganismos juegan en la descomposición de la materia orgánica recalcitrante, mientras que los copiotrofos, estarían además, involucrados en la descomposición de la materia orgánica lábil y de ahí su fuerte correlación positiva con  $S_0$ .

### Respiración y propiedades abióticas

En las correlaciones entre las propiedades abióticas y los parámetros de respiración resalta el hecho de que el  $Mg^{2+}$  se correlaciona con todas las propiedades respiratorias (12) seguido de  $K^+$  (8),  $Na^+$  (7) y  $Ca^{2+}$  (6). Es bien conocida la importancia del  $Mg^{2+}$  en el desarrollo y nutrición de las células microbianas. El  $Mg^{2+}$  se requiere para la actividad de muchas enzimas y proporciona estabilidad a los ribosomas, membranas celulares y ácidos nucleicos (Madigan *et al.*, 1999). El potasio por su parte, es requerido también por muchas enzimas, algunas de las cuales están involucradas específicamente en la síntesis de proteínas, mientras que el  $Ca^{2+}$  es muy importante para las bacterias pues estabiliza su pared celular y es esencial en la composición de las endosporas bacterias (Madigan *et al.*, 1999). Este papel fundamental en la estructura celular y actividad enzimática queda reforzado por las correlaciones negativas entre estos elementos y la vida media de descomposición de la materia orgánica lábil y recalcitrante.

El hecho de que el  $Al^{3+}$  esté relacionado negativamente con  $\mu_0$  habla de la propiedad que tiene este elemento de formar complejos con la materia orgánica que dificultan su descomposición extendiendo de esta manera el tiempo necesario para su mineralización (Cousteaux *et al.*, 2002).

Respecto a las correlaciones entre los parámetros respiratorios y las propiedades texturales de los suelos se puede deducir que la propiedad textural que más influyó fue el contenido de limo que se correlacionó negativamente con  $\mu_1$  y por lo tanto con la vida media  $\mu_1$ , y además se correlacionó, aunque en menor medida, con  $M_{act}$ ,  $\mu_{max}$ ,  $E$ ,  $\mu_0$  y  $t_{1/2} S_0$ . El limo está constituido por partículas minerales de medianas dimensiones y poco ha sido reportado acerca del papel que de manera específica pueda tener con los procesos de mineralización de la materia orgánica. Se acepta generalmente que los suelos con alto contenido de arcilla tiene mayor contenido de carbono que los suelos desarrollados sobre similares tipos de vegetación y clima, debido a que el alto contenido de arcilla puede proteger físicamente a la materia orgánica por adsorción o por que la misma queda atrapada en pequeños poros que la vuelven inaccesible a los microorganismos (Wang *et al.*, 2003). En el actual trabajo vemos como cierta correlación negativa entre el contenido de arcilla y los parámetros  $M_{act}$  (actividad microbiana), tasa de mineralización,  $t_{max}$  y  $S_0$ , lo que está de acuerdo con lo anteriormente señalado. Es importante señalar además que la mineralogía de las arcillas puede afectar de manera importante la mineralización, además de la presencia en los suelos de efectos tóxicos (metales pesados,  $Al^{+3}$ ) u otras propiedades del suelo relacionados directa o indirectamente con el contenido de arcilla de los mismos (Wang *et al.*, 2003).

Los resultados también reflejan la correlación entre los parámetros respiratorios y el contenido de C y N. Vemos una alta correlación entre la actividad microbiana, el contenido de Ct y la tasa de mineralización, tal y como se esperaría como consecuencia del ajuste en la tasa de mineralización a una

cinética de primer orden. Pero también hay que recordar el alto grado de correlación entre los parámetros respiratorios y la biomasa microbiana, lo que habla de la importancia que tiene en los ecosistemas estudiados en el presente trabajo la biomasa microbiana así como la disponibilidad de materia orgánica.

La relación C/N apenas se correlaciona con dos parámetros respiratorios: de manera negativa con el tiempo necesario para alcanzar la velocidad máxima de actividad ( $t_{max}$ ) y positivamente con el tiempo para alcanzar la velocidad de estabilización ( $t_E$ ), lo cual se podría interpretar que en abundancia de materia orgánica de baja calidad, al inicio de la incubación, los microorganismos recurren a sustratos orgánicos lábiles, de fácil descomposición, que le permiten obtener de manera rápida la energía y el carbono para emprender las labores de biosíntesis y aumento de población con lo que la tasa de máxima actividad se alcanza en menos tiempo. Adicionalmente, la descomposición de esta materia orgánica de baja calidad ocurre más lentamente y de ahí que alcanzar la velocidad basal de respiración lleve más tiempo.

Otro aspecto interesante es que mientras la constante de velocidad de la materia orgánica recalcitrante ( $\mu_1$ ) y la vida media de su descomposición ( $t_{1/2}S_1$ ), están correlacionados con el contenido de C y N ( $N_t$ ,  $N_{inor}$ ,  $N_{amo}$ ),  $\mu_0$  y  $t_{1/2}S_0$  no muestra correlación con estos sustratos, lo que significaría, que mientras los procesos que regulan la descomposición de la materia orgánica recalcitrante dependen fundamentalmente de el contenido de la materia orgánica, la descomposición de  $S_0$  estaría más relacionada con otros factores, como el pH y el contenido de  $Al^{+3}$  (Tabla 6.7), la estructura de la comunidad microbiana ya que están muy correlacionada con la población de celulolíticos, así como la relación  $C_{mic}/C$  (Tabla 6.6).

La capacidad de campo (CC) por su parte, muestra correlaciones con algunos parámetros respiratorios, especialmente con  $M_{act}$ ,  $E$ ,  $S_0$  y  $M_{act}/C_t$ . En general, la capacidad de campo está asociada con el contenido de materia orgánica y de arcillas. En el capítulo 2 se vió que la CC mostraba una fuerte correlación con la materia orgánica (C y N) y ninguna con el contenido de arcilla. Por lo que esta fuerte correlación entre los parámetros respiratorios mencionados y la CC podría ser indirecta y debido a la alta correlación de esta variable con la materia orgánica.

## 6.5. Conclusiones

1) Las conversiones en los suelos de páramo no provocaron cambios significativos en la mayoría de los parámetros respiratorios estudiados, lo cual podría significar que en estos ecosistemas, los efectos de la conversión y el manejo sobre dichos parámetros se manifiestan a más largo plazo, o que las comunidades microbianas son más refractarias a los cambios, o que el tiempo de incubación de los suelos (28 días) no fueron suficientes para que se expresaran las diferencias, o una combinación de estos factores. Pero también hay que considerar que el manejo de cultivo de papa, la incorporación al suelo de pargana, que ayuda a mantener la MOS, así como de otros sustratos de fácil descomposición (gallinaza), pudo contribuir a mantener los niveles de la materia orgánica lábil ( $S_0$ ) y de los demás parámetros respiratorio que en buena medida dependen de este compartimiento, aunque estas consideraciones tienen que ser tomadas con cautela, pues otros factores, como la presencia de complejos órgano-minerales, podían estar retardando e interactuando con los procesos de mineralización, o también, y tal vez lo más probable, es que una combinación de todos estos factores sean los que estén determinando los resultados.

2) Por el contrario, en los suelos de bosque, la conversión a cultivos de maíz, provocó importantes cambios en los parámetros respiratorios, lo que hablaría de que estos ecosistemas, sus comunidades microbianas y la materia orgánica del suelo, son más sensibles que los páramos a los efectos de la conversión., aunque partiendo del conocimiento muy limitado que tenemos sobre el manejo de los cultivos asociados a los bosques, cabría la interrogante de si en realidad estos ecosistemas son más sensibles o es el manejo de los cultivos lo que estaría generando los cambios observados. También hay que considerar que en el cultivo de maíz, con pocas incorporaciones de fertilizantes orgánicos e inorgánicos, no se contribuye mucho a mejorar las condiciones del suelo, a diferencia de lo ocurrido en los páramos, y de ahí los importantes cambios ocurridos en los parámetros respiratorios de los cultivos de maíz, entre los que destaca la disminución de la materia orgánica lábil.

3) Entre los tres ecosistemas naturales estudiados: selva nublada, bosque siempreverde y páramo, los bosques fueron los que presentaron mayores diferencias entre sí y también mostraron ser muy diferentes respecto a los parámetros respiratorios de los suelos de páramo. Cuando comparamos entre los parámetros de los dos páramos, aunque se vieron algunas diferencias, las mismas no fueron significativas, pero hay que considerar también que la dispersión de datos (alta variabilidad) de los páramos pudo contribuir a enmascarar las posibles diferencias. También, entre los ecosistemas naturales destacan los bosques, entre otras cosas, por sus altos valores de actividad microbiana ( $M_{act}/C_t$ ),

respiración basal (E) así como por el tamaño del compartimiento de materia orgánica lábil ( $S_0$ ), lo cual resalta el importante papel que juegan estos ecosistemas en el ciclo global del carbono y la importancia que tiene la conservación y buen manejo de los mismos.

4) La pastura destaca entre los cultivos, por su alta actividad microbiana ( $M_{act}/C_t$ ), respiración basal (E), carbono potencialmente mineralizable y bajo coeficiente metabólico ( $qCO_2$ ), lo que indicaría, que la pastura, junto con los ecosistemas de bosques, juegan un importante papel como reservorio carbono, y la especial atención que merecen su conservación y manejo, para prevenir la eventual disminución de la materia orgánica del suelo, de su productividad y el incremento en las concentraciones atmosféricas de  $CO_2$ .

5) Los resultados destacan los beneficios para el suelo y sus cultivos, de un manejo que incluya fertilizantes orgánicos como la gallinaza, como es el caso del cultivo de papa. De manera comparable, en el potrero, con la incorporación de las deyecciones de origen animal y un pastoreo no intensivo, las propiedades generales del suelo y sus parámetros respiratorios no sufrieron cambios tan drásticos como en los cultivos de maíz, que en el caso particular de la materia orgánica lábil, aún cuando también en el potrero disminuyó, sólo lo hizo en aprox. 53%, en contraste con el 87% del cultivo de maíz. A esto también contribuye el hecho de que por tratarse de una pastura, la producción de biomasa subterránea es alta, lo cual contribuye a mantener valores elevados de MOS.

## 6.6. Referencias Bibliográficas

- Abadín J, González-Prieto SJ, Sarmiento L, Villar MC, Carballas (2002). Successional dynamics of soil characteristics in a fallow agricultural system of the high tropical Andes. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 1739-1748.
- Alexander M (1977). *Introduction to soil microbiology*. Second edition. Wiley & Sons. New York.
- Ananyeva NF, SusyanEA, Chernova OV y Wirth S (2008). Microbial respiration activities of soils from different climatic regions of European Russia. *European Journal of Soil Biology* 44: 147-157.
- Anderson TH (2003). Microbial eco-physiological indicators to asses soil quality. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 98: 285-293
- Bertrand I, Delfosse y Bruno M (2007). Carbon and nitrogen mineralization in acidic, limed and calcareous agricultural soils: apparent and actual effects. *Soil Biology & Biochemistry*. 39: 276-288.
- Bossio DA y Scow KM (1995). Impact of carbon and fllooding on the metabolic Diversity of microbiol communities in soils. *Applied and Environmental Microbiology* (61) 11: 4043-4050.
- Brooks P D and Paul E A (1987). A new automated technique for measuring respiration in soil samples. *Plant and Soil* 101: 183-187.
- Coûteaux MM, Sarmiento L, Bottner P, Acevedo D y Thiéry JM (2002). Decomposition of standard plant material along an altitudinal transect (65-3968) in the tropical Andes. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 69-78.
- Díaz-Raviña M, Carballas T y MJ Acea (1988) Microbial biomass and metabolic activity in four acid soils. *Soil Biology & Biochemistry* (20) 6: 817-823.
- Díaz-Raviña M, Acea MJ y Carballas T (1993). Seasonal fluctuations in microbial populations and available nutrients in forest soils. *Biology and Fertility of Soils* 16: 205-210.
- Diz, N. (2003). Respuesta microbiana a la quema y al abonado del suelo. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 472 p.
- Dilly O y Munch JC (1998). Ratios between estimates of microbiol content and microbiol activity in soils. *Biology and Fertility of Soil* 27: 374-379
- Dube F, Zagal E, Stolpe N, Espinosa M (2009). The influence of land-use change on the organic carbon distribution and microbial respiration in a volcanic soil of the Chilean Patagonia. *Forest Ecology Management*. Doi:10.1016/foreco.2009.01.044
- Fierer N, Bradford MA, Jackson RB (2007). Toward an ecological classification of soil bacteria. *Ecology* 88(6): 1534-1364.

- González, S. 2004. Microbiota edáfica de los Andes tropicales. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 266 p.
- Han W, Kemmitt SJ, Brookes PC (2007). Soil microbial biomass and activity in Chinese tea gardens of varying stand age and productivity. *Soil Biology & Biochemistry* 39:1468-1478.
- Heinemeyer O, Insam H, Kaiser EA y Walenzik (1989). Soil microbial biomass and respiration measurements: An automated technique. *Plant and Soil* 101: 189-195.
- Kemmitt SJ, Lanyon CV, Waite IS, Wen Q, Addiscott, Bird NRA, O'Donnell AG y Brookes P (2008). Mineralization of native soil organic matter is not regulated by de size, activity or composition of the soil microbial biomass-a new perspective *Soil Biology & Biochemistry* 40: 61-73.
- Klamer M y Bååth E (2004). Estimation of conversion factors for fungal biomass determination in compost using ergosterol and PLFA 18:2ω6,9. *Soil Biology & Biochemistry* 36:57-65.
- Machado, D (2005). Un enfoque agroecosistémico para el manejo eficiente del suministro de nitrógeno en el cultivo de papa en los Andes venezolanos. Tesis Doctoral. Universidad de Los Andes. 233p.
- Madigan MT, Martinko JM, Parker J (1999). Brock Biología de los Microorganismos. 8ª edición Prentice Hall Iberia. Madrid.
- Mahía J, Cabaneiro A, Carballas T, Díaz-Raviña (2008). Microbial biomass and C mineralization in agricultural soils as affected by atrazine addition. *Biology and Fertility of Soil* 45: 99-105.
- Meli SM, Badalucco L, English LC y DW Hopkins (2003). Respiratory responses of soil microorganisms to simple and complex organic substrates. *Biology and Fertility Soils* 37: 96-101.
- Miralles I, Ortega R, Sánchez MM, Leirós MC, Trasa-Cepeda C y Gil-Stores (2007). Biochemical properties o frange and forest soils in Mediterranean mountain environments. *Biology and Fertility of Soils* 43: 721-729.
- Moscatelli MC, Lagomarsino, Marinari S, De Angelis P y Grego S (2005). Soil microbial indices as bioindicators of environmental changes in a polar plantation. *Ecological Indicators* 5: 171-179.
- Nordgren A (1988). Apparatus for the continuous long term monitoring of soil respiration rate in large number of samples. *Soil Biology & Biochemistry* 20: 955-957
- Öhlinger R. (1997). Soil Respiration. En F Schiner, R. Ohlinger, E. Kandeler y R. Margesin (eds.). *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag. Berlin, pp. 93-110.
- Oleg V, menyailo, Lehmann, da Silva M y Zech (2003) Soil microbial activities in tree-based cropping systems and natural forests of the Central Amazon, Brazil *Biology and Fertility* 38: 1-9.
- Oren A y Steinberger (2008). Catabolic profiles of soil fungal communities along a geographic climatic gradient in Israel. *Soil Biology & Biochemistry*. 40:2578-2587.

- Plante AF y Parton WJ. (2007) The dynamics of soil organic matter and nutrient cycling. En Eldor A Paul (ed.). *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Third Edition, Academic Press. 433-467 pp.
- Ryan MG y Law BE (2005). Interpreting, measuring, and modeling soil respiration. *Biogeochemistry* 73: 3-27.
- Sakamoto K y Oba Y (1994). Effect of fungal to bacterial biomass ratio on the relationship between CO<sub>2</sub> evolution and total soil microbial biomass. *Biology and Fertility of Soils* 17: 39-44.
- Sarmiento y Bottner (2002). Carbon and nitrogen dynamics in two soils with different fallow times in the high tropical Andes: indications for fertility restoration. *Applied Soil Ecology* 19: 78-89.
- Sparling GP (1997). Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. En CE Pankhurst, BM Doube y VVSR Gupta (eds.). *Biological Indicators of Soil Health* eds. CAB International, pp. 97-119.
- Semenov AM (1991). Physiological bases of oligotrophy of microorganisms and the concept of microbial community. *Microbial Ecology* 22: 239-247.
- Stotzky G (1965), Microbial respiration. En CA Black, DD Evans, JL White, L.E Ensminger, FE Clark (eds.). *Methods of soil analysis, Chemical and Microbiological Properties*, part 2, N° 9, serie Agronomy, American Society of Agronomy, 1550-1572 pp.
- Stenström J, Svensson K y Johansson (2001). Reversible transition between active and dormant microbial states in soil. *FEMS Microbiology Ecology* 36: 93-104.
- Tada Y, Ihmori M y Yamaguchi J (1995). Oligotrophic bacteria isolated from clinical materials. *Journal of Clinical Microbiology* Vol 33, n°2, 493-494.
- Thiet RK, Frey SD y Six J (2006). Do growth yield efficiencies differ between soil microbial communities differing in fungal:bacterial ratios? Reality check and methodological issues. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 837-844.
- Wang WJ, Dalal RC, Moody PW, Smith (2003). Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content. *Soil Biology & Biochemistry* 35:273-284.
- Winding A, Hund-Ronke K y Rutgers M (2005). The use of microorganisms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 62:230-248.
- Zhao XR, Lin Q, Brookes PC (2005). Does soil ergosterol concentration provides a reliable estimate of soil fungal biomass? *Soil Biology & Biochemistry* 37: 311-317.
- Zibilske LM (1994). Carbon mineralization. En RW Waver, S Angle, P Bottomley, D Bezdicsek, S Smith, A Tabatabai y A Wollum (eds.) *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and biochemical properties*. Soil Science Society of America, Inc. Wisconsin, EEUU, pp. 835-863.

Zimmermann S y Frey B (2002). Soil respiration and microbial properties in an acid forest soil: effects of wood ash. *Soil Biology & Biochemistry* 34: 1727-1737.

## CAPÍTULO 7

### **ANÁLISIS INTEGRADO DEL EFECTO DE LAS PROPIEDADES FISICOQUÍMICAS DEL SUELO Y LAS VARIABLES AMBIENTALES SOBRE LA ESTRUCTURA Y FUNCIONAMIENTO DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS**

#### **Resumen**

Con la finalidad de hacer un análisis integral de los datos obtenidos en los diferentes capítulos de este trabajo, se realizó un análisis de componentes principales (ACP). Para ello se construyó una matriz primaria con la información de las variables bióticas cuyos datos transformados logarítmicamente fueron centrados y estandarizados, y otra matriz secundaria con los datos de las variables ambientales. Cuando el ACP se hizo con los datos experimentales de todos los ecosistemas y agroecosistemas se observó que las conversiones provocaban dos respuesta diferentes, que sugieren que en la conversión de bosques a cultivos de maíz la respuesta de los microorganismos es mucho más clara, con grandes cambios en el tamaño, estructura y actividad de las comunidades microbianas, mientras que la conversión de páramos a cultivos de papa el ordenamiento resultante sugiere una respuesta más moderada, con menos cambios en las características de las comunidades microbianas. La conversión de bosque siempreverde a potrero mostró un menor impacto y dicho agroecosistema muestra alguna afinidad con la selva nublada. Entre los ecosistemas naturales se observa que las mayores diferencias ecológicas se presentan entre el páramo de Los Bahitos y el bosque siempre verde. Existe además mayor distancia ecológica entre los dos sitios de páramo que entre cada uno de ellos y sus respectivos cultivos, mientras que los ecosistemas boscosos están más cerca uno del otro que cada uno de ellos con su respectivo cultivo de maíz. El análisis indica también que las variables ambientales podrían estar determinando en los ecosistemas boscosos mejores condiciones de temperatura y humedad que en los páramos lo cual redundaría en mejores condiciones para el desarrollo y la actividad de las comunidades microbianas. Entre las conclusiones más importantes están que la respuesta de las comunidades microbianas al cambio en el uso del suelo varía de manera considerable entre un ecosistema y otro, pero que la conversión a cultivo de maíz produjo mayores cambios que la del páramo a cultivo de papa.

## **7.1. Introducción**

En capítulos anteriores hemos examinados los datos generados por el análisis de componentes principales (ACP). Así, en el Capítulo 2, el análisis de los resultados fisicoquímicos sugiere que los cultivos de papa son los que más efecto tienen sobre las propiedades abióticas de los suelos. En el Capítulo 3, el análisis de la diversidad funcional microbiana de los páramos no discrimina muy bien entre los suelos sin cultivar y los cultivados, a diferencia de lo observado con los ecosistemas boscosos en donde se detectaron diferencias entre los suelos cultivados y los no intervenidos. En el Capítulo 5 se estudió la estructura de las comunidades microbianas y se hizo un ACP con los datos de la estructura de la comunidad microbiana que permitió concluir que los ecosistemas de bosques son los que presentan mayores diferencias entre sí, en lo que a la estructura de las comunidades microbianas se refiere. Por último, los resultados del Capítulo 6 señalan que con base en las características de la actividad respiratoria de los suelos se pueden ver tres grupos de suelos: uno formado por el bosque siempreverde, otro por la selva nublada y el potrero de Cacute y un tercer grupo, el más heterogéneo, integrado por el resto de los suelos. Todas estas afirmaciones que acabamos de hacer constituyen las observaciones generales más importantes de los análisis realizados y por lo tanto hemos obviado los diferentes matices que acompañan cada análisis. En el presente capítulo hemos querido tomar los datos recolectados en la tesis para considerarlos conjuntamente y para ello hicimos primeramente la Tabla 7 en la que presentamos las variaciones ocurridas en las propiedades bióticas y abióticas de los suelos como consecuencia de la conversión, y en segundo lugar tomamos todos esos datos e hicimos un análisis integrado (multivariado) de los mismos. En esta ocasión no hemos incluido los resultados del Capítulo 2 en la matriz primaria sino que ha formado parte- junto con los valores de temperatura, precipitación, pendiente y contenido de humedad del suelo- de la matriz ambiental. Esto con el objetivo de dar una explicación lo más completa posible de las características más resaltantes de la respuesta de la estructura, así como de actividad de comunidades microbianas de los ecosistemas estudiados y, por otra parte, de la respuesta de dichas comunidades microbianas al cambio en el uso del suelo.

## 7.2. Materiales y Métodos

La relación entre las variables bióticas (datos primarios del ordenamiento) y las ambientales y fisicoquímicas, fue estudiada con la versión 4.02 del programa CANOCO (Centre for Biometry Wageningen, The Netherlands). Como variables bióticas fueron consideradas los siguientes datos: población total de bacterias heterótrofas, propágulos de hongos, microorganismos celulolíticos, amilolíticos, amonificantes, proteolíticos, oligotrofos, copiotrofos, relación oligotrofos/copiotrofos, carbono microbiano ( $C_{mic}$ ), relación  $C_{mic}$ /carbono total ( $C_{mic}/C_t$ ), carbono fúngico ( $C_f$ ), carbono bacteriano ( $C_b$ ), relación  $C_f/C_b$ , actividad respiratoria ( $M_{act}$ ), relación  $M_{act}/C_t$ , velocidad máxima de actividad respiratoria ( $\mu_{max}$ ), tiempo para alcanzar  $U_{max}$  ( $t_{max}$ ), velocidad de estabilización (E), tiempo para alcanzar E ( $t_E$ ), vida media de la materia orgánica lábil ( $t_{1/2}S_0$ ), vida media de la materia orgánica recalcitrante ( $t_{1/2}S_1$ ), fracción lábil de la MOS ( $S_0$ ), constante de velocidad de oxidación de la materia orgánica ( $\mu_0$ ), constante de oxidación de la materia orgánica recalcitrante ( $\mu_1$ ), coeficiente metabólico ( $qCO_2$ ), proporción de propágulos de hongos respecto a la población total de bacterias heterótrofas, población de microorganismos amilolíticos, celulolíticos, proteolíticos y amonificantes, índice de Shannon (diversidad funcional microbiana).

Como variables ambientales y fisicoquímicas se consideraron: altitud, pendiente, temperatura, precipitación y todas las señaladas en el Capítulo 2. Con estos datos se construyó una matriz secundaria que no influye en el ordenamiento de los suelos, sino que es utilizada para interpretar dicho ordenamiento.

Primero se hizo un análisis de correspondencias por segmentos (DCA), el cual mostró que la longitud de los gradientes fue menor que cuatro unidades de desviación estándar, lo cual implica una respuesta lineal de los datos a los gradientes en lugar de una respuesta unimodal, por lo que se decidió hacer un análisis de componentes principales (ACP), en el que los datos de la matriz primaria siempre fueron transformados con  $\log(x+1)$ , centrados y estandarizados, y las variables ambientales (matriz secundaria) fueron utilizadas para interpretar la ordenación de los demás datos (análisis indirecto de gradiente).

En un primer análisis de componentes principales (Figuras 7.1, 7.2 y 7.3) se utilizaron todos los datos ya mencionados. En vista de que los altos valores de biomasa microbiana en los suelos del bosque siempreverde de Cacute podrían estar provocando una pérdida de resolución en la separación de los demás suelos, se hizo un segundo análisis de componentes principales (Figura 7.4, 7.5 y 7.6) en el que no se incluyeron  $C_{mic}$ ,  $C_b$ ,  $C_{mic}/C_t$ ,  $C_b/C_f$  y  $qCO_2$ .

### 7.3. Resultados y Discusión

En la Tabla 7 presentamos las variaciones ocurridas en las propiedades bióticas y abióticas de los suelos como consecuencia de la conversión. En ella se indica si, como resultado de la conversión, una determinada propiedad aumentó, disminuyó o no mostró variaciones en su valor. Si se indica que hubo variación (aumento o disminución), es porque la misma fue significativa ( $p < 0,05$ ).

#### Respuesta de las comunidades microbianas a la conversión

En la Tabla 7 vemos que con la conversión, los cambios en las propiedades abióticas fueron muy diferentes en los dos sitios de páramo estudiados: en Los Bahitos algunas propiedades no variaron, otras aumentaron o disminuyeron su valor, mientras que en Los Pozos ninguna variable disminuyó, es decir que la única conversión en la que los parámetros estudiados que tuvieron cambios significativos lo hicieron aumentando siempre su valor fue en Los Pozos (páramo→papa). En las demás conversiones, los cambios que ocurrieron fueron para aumentar o disminuir algunas de las variables estudiadas. En cuanto a los cambios en el tamaño de las comunidades microbianas con la conversión, en Los Bahitos aumentó la población de bacterias heterótrofas y en Los Pozos la biomasa microbiana. En general con la conversión en el páramo, cuando hubo variaciones en la estructura, fueron por el aumento en la población de los microorganismos del ciclo del carbono y los proteolíticos. La disminución en la relación oligotrofos/copiotrofos, se debió al aumento en la población de copiotrofos (Capítulo 5). También hubo diferencias en la actividad de las comunidades microbianas de los dos sitios de páramo: en Los Bahitos, no ocurrieron variaciones significativas en la nitrificación relativa (7-21 días), ni en el índice de diversidad de Shannon ( $H'$ ) ni en ninguno de los parámetros respiratorios determinados, mientras que en Los Pozos fue patente el aumento en la diversidad funcional y en la tasa de nitrificación, y de las variables asociadas con la actividad respiratoria, sólo aumentó la actividad máxima de respiración  $\mu_{max}$ .

Si en los suelos de páramo con la conversión ocurrieron algunos cambios en las propiedades abióticas y bióticas, en los bosques, los cambios fueron mucho más contundentes y con pocas excepciones ocurrieron por la disminución y no por el aumento en los valores de las propiedades abióticas y bióticas. En la conversión a cultivos de maíz, siete propiedades abióticas disminuyeron y también hubo disminución de parámetros asociados al tamaño y la estructura de las comunidades microbianas: disminuyó la población de bacterias totales aunque respecto a la proporción de los grupos funcionales, en La Mucuy aumentaron los amilolíticos, celulolíticos y proteolíticos, mientras que la biomasa microbiana disminuyó y en especial la fúngica, que ya era, comparativamente, escasa en la selva nublada. Respecto a la actividad microbiana, aunque en La Mucuy la nitrificación no varió con la conversión, la respiración y la diversidad funcional microbiana disminuyeron de manera notable

**Tabla 7.** Variaciones en la propiedades abióticas y bióticas de los suelos con la conversión

<b>Propiedad</b>	<b>Los Bahitos (páramo→papa)</b>	<b>Los Pozos (páramo→papa)</b>
<b>Abióticas</b>		
Carbono	No varía	No varía
N <sub>total</sub>	<b>Disminuye</b>	<b>Aumenta</b>
N inorgánico	No varía	No varía
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	<b>Aumenta</b>	No varía
N-nítrico	<b>Aumenta</b>	<b>Aumenta</b>
%N-nítrico/N <sub>t</sub>	No varía	<b>Aumenta</b>
C/N	<b>Disminuye</b>	No varía
Bases intercambiables	<b>Aumenta</b> K <sup>+</sup>	<b>Aumentan</b> K <sup>+</sup> y Mg <sup>2+</sup>
%Saturación de bases	<b>Aumenta</b>	<b>Aumenta</b>
CIC	<b>Disminuye</b>	<b>Aumenta</b>
CC	<b>Disminuye</b>	<b>Aumenta</b>
pH	No varía	No varía
Fósforo	No varía	<b>Aumenta</b>
<b>Nitrificación</b> relativa*	No varía	<b>Aumenta</b>
<b>Diversidad funcional</b> §		
Índice de Shannon (H')	No varía	<b>Aumenta</b> (3/4)
Uniformidad (E)	<b>Disminuye</b> (3/4)	<b>Aumenta</b> (3/4)
%Sustratos degradados	<b>Aumenta</b> (2/4), 1/4 disminuye	<b>Aumenta</b> (3/4)
Índice de actividad	<b>Aumenta</b> (+1)	<b>Aumenta</b> (+8)
<b>Tamaño y estructura</b>		
Población de bacterias	<b>Aumenta</b>	No varía
C <sub>mic</sub>	No varía	<b>Aumenta</b>
C <sub>fúngico</sub>	No varía	No varía
C <sub>bacteriano</sub>	No varía	No varía
C <sub>f</sub> /C <sub>b</sub>	No varía	No varía
C <sub>mic</sub> /C <sub>total</sub>	<b>Aumenta</b>	No varía
Grupo del C		
Celulolíticos	<b>Aumentan</b>	<b>Aumentan</b>
Amilolíticos	No varían	<b>Aumentan</b>
Grupo del N		
Amonificantes	No varían	No varían
Proteolíticos	<b>Aumentan</b>	No varían
Oligotrofos	No varían	No varían
Copiotrofos	<b>Aumenta</b>	No varían
Oligotrofos/copiotrofos	<b>Disminuye</b>	No varían
Propágulos de hongos	No varían	No varían
<b>Respiración</b>		
M <sub>act</sub>	No varía	No varía
M <sub>act</sub> /C <sub>total</sub>	No varía	No varía
S <sub>o</sub>	No varía	No varía
μ <sub>o</sub>	No varía	No varía
μ <sub>1</sub>	No varía	No varía
t <sub>1/2</sub> S <sub>o</sub>	No varía	No varía
t <sub>1/2</sub> S <sub>1</sub>	No varía	No varía
μ <sub>max</sub>	No varía	<b>Aumenta</b>
t <sub>max</sub>	No varía	No varía
E	No varía	No varía
t <sub>E</sub>	No varía	No varía
qCO <sub>2</sub>	No varía	No varía

Propiedad	La Mucuy (Selva→maíz)	Cacute (Bosque→maíz)
<b>Abióticas</b>		
Carbono	Disminuye	Disminuye
N <sub>total</sub>	Disminuye	Disminuye
N inorgánico	Disminuye	Disminuye
N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Disminuye	Disminuye
N-nítrico	No varía	No varía
%N-nítrico/Nt	No varía	No varía
C/N	No varía	No varía
Bases intercambiables	Disminuye Mg <sup>2+</sup>	Disminuye Mg <sup>2+</sup> , aumenta Na <sup>+</sup>
%Saturación de bases	No varía	No varía
CIC	Disminuye	Disminuye
CC	Disminuye	Disminuye
pH	No varía	No varía
Fósforo	No varía	No varía
<b>Nitrificación</b> relativa*	No varía	Aumenta
<b>Diversidad funcional</b>		
Índice de Shannon (H')	Disminuye (4/4)	Disminuye (3/4)
Uniformidad (E)	Disminuye (3/4)	Disminuye (3/4)
%Sustratos degradados	Disminuye (4/4)	Disminuye (3/4)
Índice de actividad	Disminuye (-14)	Disminuye (-5)
<b>Tamaño y estructura</b>		
Población de bacterias	Disminuye	Disminuye
C <sub>mic</sub>	Disminuye	Disminuye
C <sub>fúngico</sub>	Disminuye	Disminuye
C <sub>bacteriano</sub>	No varía	Disminuye
C <sub>f</sub> /C <sub>b</sub>	No varía	Aumenta
C <sub>mic</sub> /C <sub>total</sub>	No varía	Disminuye
Grupos del C		
Celulolíticos	Aumentan	Aumentan
Amilolíticos	No varían	Disminuyen
Grupos del N		
Amonificantes	Disminuyen	Disminuyen
Proteolíticos	No varían	No varían
Oligotrofos	Disminuyen	Aumentan
Copiotrofos	Disminuyen	Disminuyen
Oligotrofos/copiotrofos	No varía	Aumenta
Propágulos de hongos	Disminuyen	Disminuyen
<b>Respiración</b>		
M <sub>act</sub>	Disminuye	Disminuye
M <sub>act</sub> /C <sub>total</sub>	No varía	No varía
S <sub>o</sub>	Disminuye	Disminuye
μ <sub>o</sub>	No varía	No varía
μ <sub>1</sub>	Disminuye	No varía
t <sub>1/2</sub> S <sub>0</sub>	No varía	No varía
t <sub>1/2</sub> S <sub>1</sub>	Aumenta	No varía
μ <sub>max</sub>	No varía	Disminuye
t <sub>max</sub>	Disminuye	Aumenta
E	No varía	Disminuye
t <sub>E</sub>	No varía	No varía
qCO <sub>2</sub>	Disminuye	Aumenta

Propiedad	Cacute ( Bosque→potrero)
<b>Abióticas</b>	
Carbono	Disminuye
$N_{total}$	Disminuye
N inorgánico	Disminuye
$N-NH_4^+$	Disminuye
N-nítrico	No varía
%N-nítrico/Nt	No varía
C/N	No varía
Bases intercambiables	Aumenta $Na^+$
%Saturación de bases	Aumenta
CIC	Disminuye
CC	Disminuye
pH	No varía
Fósforo	Aumenta
<b>Nitrificación</b> relativa*	Aumenta
<b>Diversidad funcional</b>	
Índice de Shannon ( $H'$ )	Disminuye(3/4)
Uniformidad (E)	Aumentan 2/4, disminuye 1/4
%Sustratos degradados	Disminuye (2/4), 1/4 aumenta
Índice de actividad	Disminuye (-4 )
<b>Tamaño y estructura</b>	
Población de bacterias	Disminuye
$C_{mic}$	Disminuye
$C_{fúngico}$	Disminuye
$C_{bacteriano}$	Disminuye
$C_f/C_b$	Aumenta
$C_{mic}/C_{total}$	Disminuye
Grupo del C	
Celulolíticos	No varían
Amilolíticos	No varían
Grupo del N	
Amonificantes	No varían
Proteolíticos	Disminuyen
Oligotrofos	Aumentan
Copiotrofos	No varían
Oligotrofos/copiotrofos	Aumenta
Propágulos de hongos	No varían
<b>Respiración</b>	
$M_{act}$	Disminuye
$M_{act}/C_{total}$	No varía
$S_0$	Disminuye
$\mu_0$	No varía
$\mu_1$	No varía
$t_{1/2} S_0$	No varía
$t_{1/2} S_1$	No varía
$\mu_{max}$	No varía
$t_{max}$	Aumenta
E	Disminuye
$t_E$	No varía
$qCO_2$	Aumenta

\* Entre los días 7 y 21 de la incubación; § 3/4: tres de los cuatro ensayos

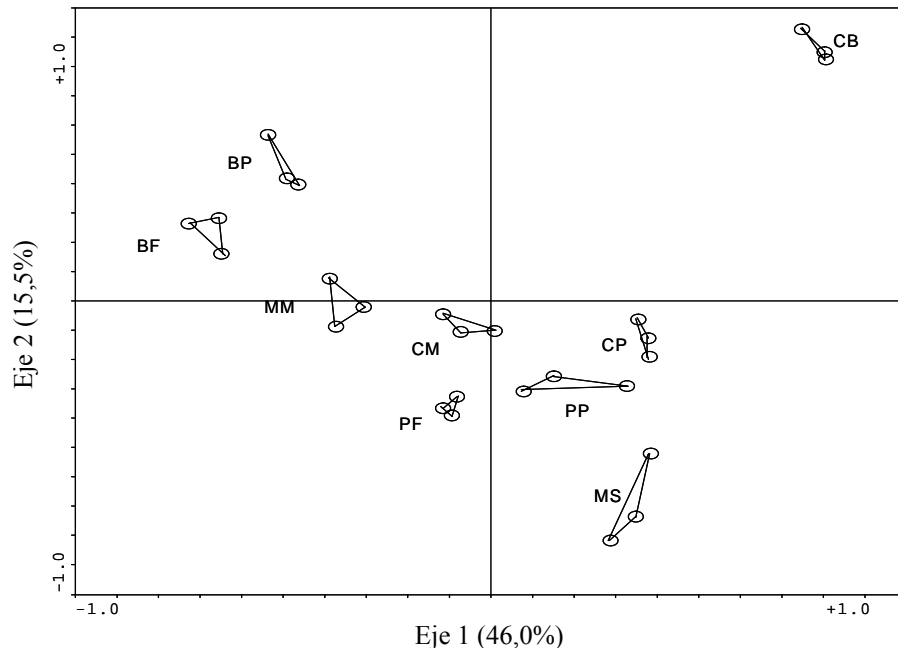
tanto en la conversión de selva nublada como del bosque siempre verde.

Comparando los cuatro ecosistemas naturales, la población de bacterias heterótrofas, el índice de diversidad de degradación de sustratos carbonados y el porcentaje de degradación de sustratos carbonados, fueron superiores en los bosques respecto a los suelos de páramo. Además, los suelos de bosques respiraron más y acumularon cantidades muy superiores de materia orgánica lábil y en ellos, prevaleció la amonificación sobre la nitrificación (Capítulo 3). Resaltó también la gran cantidad de biomasa microbiana detectada en los suelos de Cacute, su baja población de oligotrofos y alta de celulolíticos y proteolíticos.

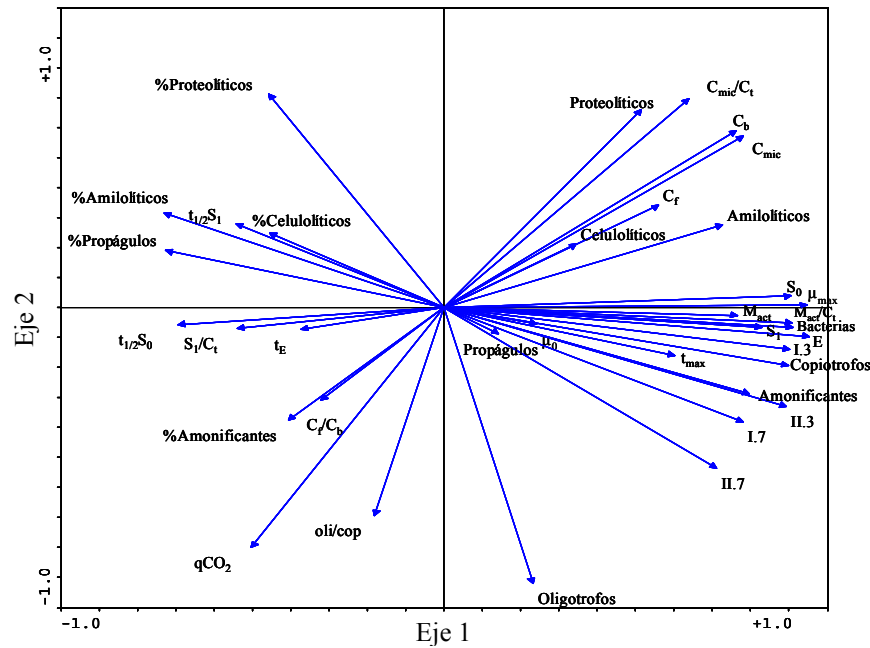
### **Conversiones (con todos los datos incluidos)**

Los resultados indican que el primer y segundo componente explican el 46,0% y el 15,5% de la variación, respectivamente, el tercero un 11,8% y el cuarto un 6,3% adicional. En el plano de ordenamiento (Figura 7.1) se separan todos los suelos. El primer eje del ordenamiento (el que más variación explica) separa a los ecosistemas naturales, dejando en su porción positiva a los suelos de bosque siempreverde (CB) y selva nublada (MS), y en la porción negativa, a los suelos de páramo (BF, PF). Los suelos originalmente de bosques y convertidos en cultivos de maíz (CM y MM) se ubican en la porción negativa del primer eje, disminuyendo así su distancia (y sus diferencias) con los suelos de páramo, sobre todo con el de Los Bahitos (BF). Al contrario de lo que ocurre con los bosques, cuando los páramos (BF, PF) son convertidos en cultivos de papa (BP, PP), estos agroecosistemas se reubican en el plano de ordenación en sentido contrario, es decir, acercándose a la porción positiva del primer eje y en consecuencia a los ecosistemas boscosos, siendo esto más notable en el cultivo de papa de Los Pozos (PP) que prácticamente se superpone con los suelos de la selva nublada (MS). Respecto a los suelos de potrero (CP), se ve que ocupan la porción positiva del primer eje del ordenamiento, superpuestos con la selva nublada (MS), lo que estaría indicando cierta similitud ecológica entre estos dos suelos.

Al analizar la figura 7.2 se puede ver que la parte positiva del primer eje, en donde está el bosque siempreverde (CB), se asocia principalmente con los parámetros  $C_{mic}/C_t$ ,  $C_b$ , y  $C_{mic}$ , que mostraron los valores más elevados en estos suelos. También se ve que la parte positiva de este eje, donde están los suelos del potrero de Cacute (CP) y del cultivo de papa de Los Pozos (PP), se asocia con buena parte de los parámetros respiratorios ( $\mu_{max}$ ,  $\mu_0$ ,  $M_{act}$ ,  $M_{act}/C_t$ ), con la población total de bacterias heterótrofas, amonificantes y copiotrofas, con el tamaño de las diferentes fracciones de la materia orgánica ( $S_0$  y  $S_1$ ), y con los parámetros de la diversidad funcional microbiana (I.3, I.7, II.3 y II.7), mientras que los oligotrofos se asocian con los suelos de la selva nublada (MS). Por otra parte, en la porción negativa del primer eje, se ve que el porcentaje de proteolíticos, amilolíticos propágulos de



**Figura 7.1.** Ordenamiento de todos los suelos utilizando todos los datos bióticos. BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: La Mucuy, maíz.



**Figura 7.2.** Ordenamiento de los parámetros bióticos de todos los suelos y todos los datos  $M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{(CO_2)}$  acumulado a los 28 días);  $M_{act}/C_t$ : tasa de mineralización;  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $S_1/C_t$ : relación  $S_1$ / carbono total;  $t_{1/2}$ : vida media de la materia orgánica;  $\mu_{max}$  velocidad máxima de actividad; E: velocidad de estabilización,  $mg C_{(CO_2)} kg^{-1} suelo h^{-1}$ ;  $qCO_2$ : coeficiente metabólico;  $t_E$ : tiempo para alcanzar E;  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ;  $C_{mic}$ : carbono microbiano;  $C_{mic}/C_t$ : relación C microbiano/C total;  $C_f$ : carbono fúngico;  $C_b$ : carbono bacteriano;  $C_f/C_b$ : carbono fúngico/carbono bacteriano; oli/cop: relación oligotrofos/copiotrofos; I.3: H' una semana de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; I.7: H' una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos; II.3: H' dos semanas de inoculados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; II.7: H' dos semanas de inoculados los suelos, siete días de inoculados los sustratos.

hongos y de celulolíticos, así como la vida media de la materia orgánica recalcitrante, están muy asociados a los suelos de Los Bahitos (BF, BP). Por último, los cultivos de maíz (MM, CM) están muy asociados con una mayor vida media de la materia orgánica lábil, mayor relación  $S_1/C_t$  y el tiempo de estabilización, mientras que los suelos de páramo de los Pozos, lo están con el coeficiente metabólico, la relación oligotrofos/copiotrofos, el porcentaje de amonificantes y el coeficiente metabólico.

El análisis integrado de las dos figuras anteriores se podría sintetizar de la siguiente manera: la porción positiva del primer eje, en donde están los suelos de los ecosistemas boscosos (CB,MS) el potrero de Cacute (CP) y el cultivo más intensivo de papa (PP), está asociada fundamentalmente variables que se expresan en valores “absolutos”, como son, la biomasa microbiana en sus diferentes representaciones ( $C_{mic}$ ,  $C_b$ ,  $C_f$ ), el tamaño de población de los grupos taxonómicos y funcionales microbianos (bacterias, propágulos, amonificantes, etc.), la diversidad funcional microbiana( I.3, II.3, I.7, II.7) y la mayoría de los parámetros respiratorios, mientras que la porción negativa de este mismo eje, donde están los suelos de los páramos (BF, PF), los dos cultivos de maíz y el menos intensivo de papa (BP), está más asociada a valores elevados de las variables que se expresan en cantidades “relativas”, como son la proporción de propágulos y microorganismos proteolíticos, amilolíticos, etc. respecto a la población total, la relación oligotrofos/copiotrofos, la relación  $C_f/C_b$ , el  $qCO_2$  ( $CO_2$  producido/unidad de biomasa microbiana), la relación  $S_1/C_t$  y además, otras variables no relativas como la vida media de la materia orgánica. Esto pareciera indicar que las conversiones de ecosistemas boscosos y de páramos provocan en las comunidades microbianas respuestas que siguen dos tendencias muy diferentes: con la conversión de los bosques a cultivos de maíz, la respuesta es mucho más contundente, con grandes cambios (mayor separación en el plano de ordenación) y en el sentido derecha-izquierda, lo cual es consecuencia de una disminución en los valores de ciertas variables absolutas y del aumento de las relativas, mientras que con la conversión de ecosistemas de páramo la respuesta es más moderada, con menos cambios (menor separación que en la conversión bosques-maíz) y de izquierda a derecha aunque en el caso de Los Bahitos, esto no implica cambio de cuadrante en el plano de ordenación. Es conveniente considerar que en virtud de lo que también ocurre sobre el segundo, tercero y cuarto eje del ordenamiento (15%, 12,4% y 6,3% de variabilidad) los movimientos y posiciones finales que resultan en el plano de ordenación son una expresión de la interacción entre muchos factores y que por lo tanto lo que hemos afirmado no es más que una interpretación simplificada de las principales observaciones. En el caso del potrero de Cacute (CP), resalta su superposición (sobre el primer eje) con la selva nublada y cercanía con el cultivo de papa de Los Pozos (PP) y su distanciamiento respecto a su ecosistema originario ( bosque siempreverde, CB).

El segundo eje (Fig. 7.1), por su parte, opone de manera apreciable a los dos suelos de bosques naturales: el bosque siempreverde (CB), que ocupa la porción más positiva del eje 2 y, la selva nublada

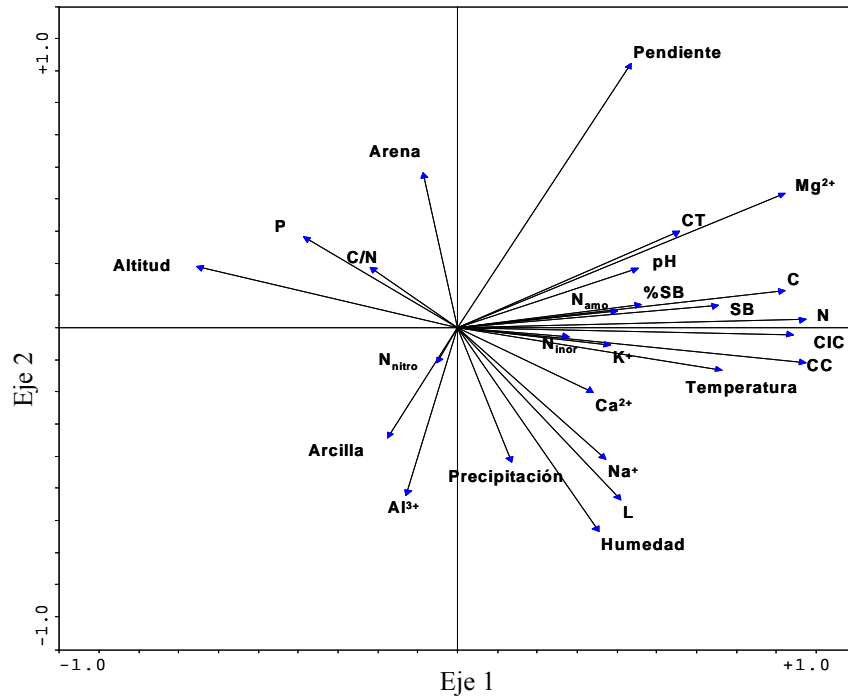
(MS) en la porción más negativas de este mismo eje. Entre estos dos extremos, y después de CB, siguen los suelos del páramo de Los Bahitos (primero el cultivo, BP, y luego el páramo, BF), los dos cultivos de maíz, MM y CM, (inseparables), seguidos del potrero de Cacute (CP), y de penúltimos los suelos de Los Pozos (PF y PP).

La Figura 7.3 muestra el ordenamiento de las variables ambientales en que se puede ver que el cuadrante superior derecho (en donde está el bosque siempreverde, CB) se asocia principalmente con la pendiente, el magnesio y el contenido de materia orgánica (C y N). En el cuadrante inferior, donde está la selva nublada (MS), está muy asociado con el contenido de humedad y la precipitación, mientras que CC y CIC están muy asociados con el potrero de Cacute y Los Pozos-papa. En la porción negativa del plano de ordenamiento, resalta la fuerte asociación de la altitud con el páramo de Los Bahitos (BF).

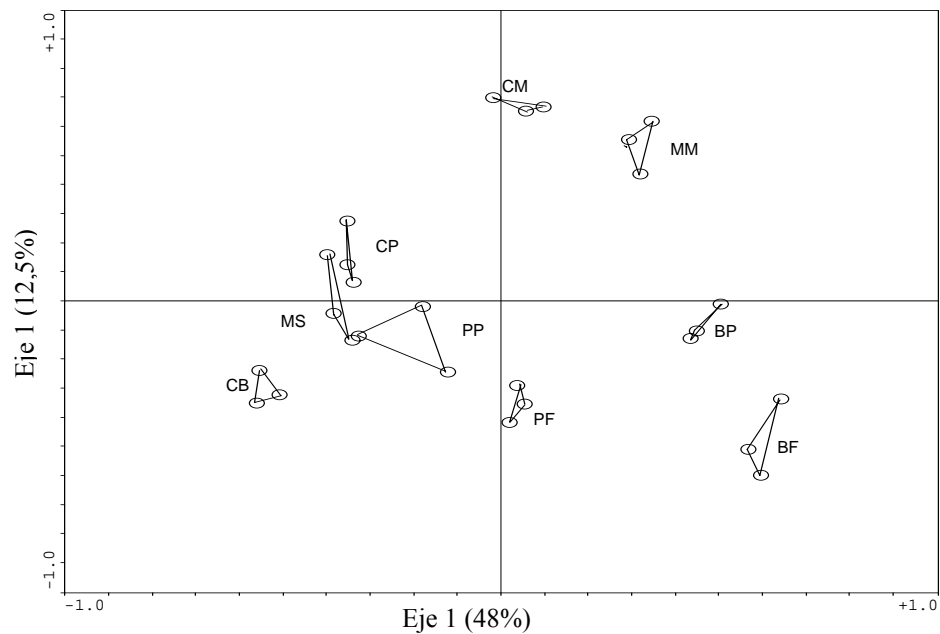
### **Conversiones (sin los datos de biomasa microbiana)**

Cuando obviamos del ACP las variables relacionadas con la biomasa microbiana, es decir,  $C_{mic}$ ,  $C_{mic}/C_b$ ,  $C_b$ ,  $C_f/C_b$ , y  $qCO_2$  encontramos que el primer eje explica el 48,0% de la variabilidad, el segundo el 12,5%, y el tercero y cuarto lo hacen en un 11,7 y 5,6% respectivamente. Así, la figura 7.4 muestra que en el plano de ordenamiento se separan todos los suelos y que sobre el primer eje se ubican en su parte más positiva los suelos del páramo de Los Bahitos (BF) seguido de su cultivo de papa (BP) y del cultivo de maíz de La Mucuy (MM), y en la parte central del plano de ordenamiento, se encuentra el grupo formado por los suelos de Cacute cultivados con maíz (CM) y los del páramo de Los Pozos (PF). En la porción negativa de este mismo eje se aprecia un grupo de tres suelos formado por la selva nublada (MS), el potrero de Cacute (CP) y el de papa de Los Pozos (PP). Por último, ya en la porción más negativa de este eje, se ubican los suelos del bosque siempreverde seco (CB). Si comparamos este ordenamiento con el anterior (Fig. 7.1) nos daremos cuenta que en ambos, los suelos del bosque siempreverde seco y del páramo de Los Bahitos se encuentran ocupando posiciones extremas y opuestas (sobre el primer eje, que es el que explica el mayor grado de variabilidad), y que los suelos se distribuyen siguiendo la misma secuencia aunque en orden inverso: CB, CP-PP-MS, CM-PF, MM, BP y BF (Figura 7.1) y BF, BP, MM, PF-CM, PP-CP-MS, CB (Figura 7.4).

Al analizar la Figura 7.5 se puede ver que en la parte positiva del primer eje, en donde están los suelos de los páramos no intervenidos (BF, PF), los dos cultivos de maíz (CM, MM) y el cultivo de papa de Los Bahitos (BP) está asociado con las mismas variables que muestra el análisis donde sí se incluían los datos directamente relacionados con los valores de biomasa microbiana, y también como es de esperar, en la porción negativa del primer eje se asocia los suelos restantes a las demás variables, lo cual implica, que sobre este primer eje, que explica el 48% de la variación, las grandes diferencias en



**Figura 7.3.** Ordenamiento de las variables ambientales incluyendo todos los datos bióticos. CC: capacidad de campo; CT: conductividad; C: C total; N: N total;  $N_{inor}$ : N inorgánico;  $N_{amo}$ :  $N-NH_4^+$ ;  $N_{nitro}$ :  $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ ; C/N: relación carbono/nitrógeno; CIC: capacidad de intercambio catiónico; P: fósforo disponible; Al: aluminio; SB: suma de bases; %SB: % de saturación de bases.

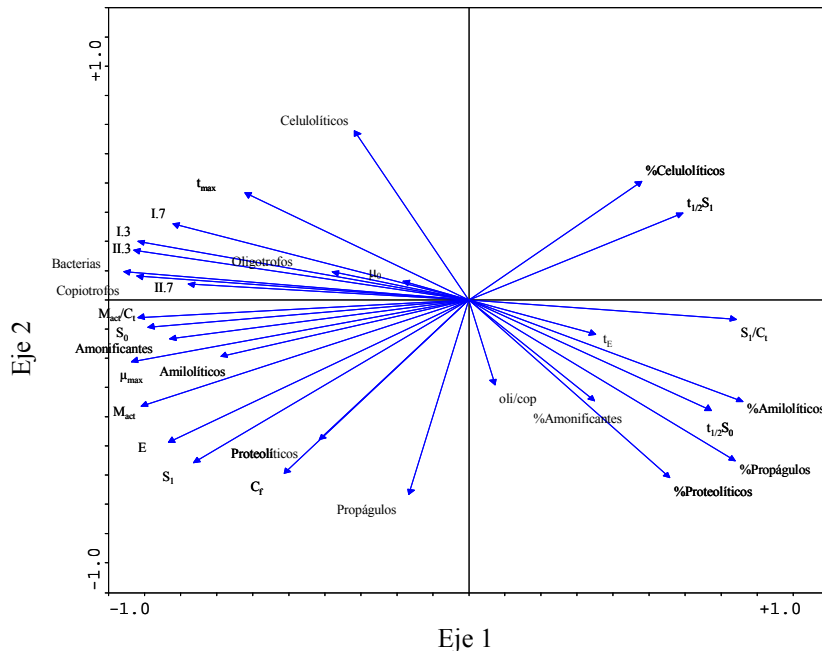


**Figura 7.4.** Ordenamiento de todos los suelos estudiados, sin  $C_{mic}$ ,  $C_f/C_b$ ,  $C_{mic}/C_{total}$ ,  $C_b$  y  $qCO_2$ . BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa; CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: La Mucuy, maíz.

los valores de biomasa microbiana entre los diferentes suelos no estaría determinando la secuencia de los suelos sobre este eje ni su relación con las variables determinadas. En donde si se detectan cambios de la ordenación de los suelos es a lo largo del segundo eje (12,5% de variabilidad) tal y como se ve en la figura 7.4, la cual muestra que estos se distribuyen de la siguiente manera: en la porción más positiva están los suelos cultivados con maíz (CM, MM), seguidos del potrero (CP) y la selva nublada (MS) que parecen formar un solo grupo, y a continuación, en la porción negativa de estemismo eje, los dos cultivos de papa (PP, BP) y por último, ocupando la porción más negativa el grupo constituido por los suelos de páramo (PF, BF) y el bosque siempreverde (CB). El segundo eje se asocia principalmente en su parte más positiva (figura 7.5) con los microorganismos celulolíticos mientras que en su parte negativa lo hace con los propágulos de hongos y el C fúngico.

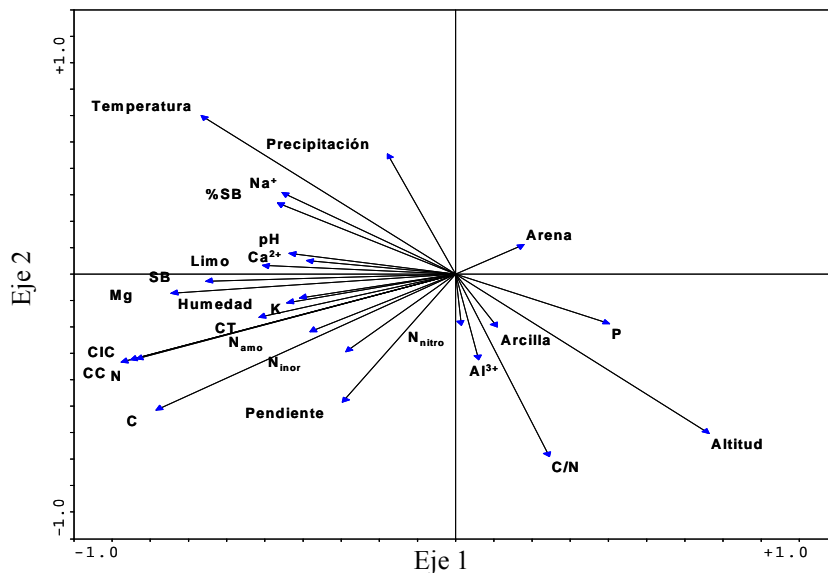
### **Análisis por tipo de conversión: bosques a maíz y potrero, páramos a papa**

Para seguir estudiando los efectos de la conversión se analizaron de manera independiente, la conversión de bosques y la de páramos (incluyendo todos los datos). Esto porque, los resultados y análisis hechos a lo largo de este trabajo sugieren que con la conversión a cultivos de maíz la respuesta es más homogénea, es decir, no se aprecian diferencias importantes entre las dos cultivos de maíz, mientras que con los páramos y su conversión a cultivo de papa, los resultados varían mucho de un sitio a otro lo que estaría indicando respuestas muy diferentes entre estos dos ecosistemas de páramo. Dicho esto, vemos en la Figura 7.7 que en los ecosistemas boscosos, con la conversión, los cultivos de maíz se ubican muy cerca uno del otro, en la porción positiva del primer eje y ocupando el mismo cuadrante del plano de ordenamiento, el cual está asociado, por una parte, a valores elevados de unas pocas variables como la relación  $S_1/C_t$ , %celulolíticos, %amilolíticos, y la vida media de la materia orgánica recalcitrante (Fig. 7.8), y por otra, a una importante disminución en los valores de parámetros vinculados con la diversidad funcional microbiana, el tamaño de las poblaciones de microorganismos y la cantidad y calidad de la materia orgánica, resaltando esto, el profundo impacto que tiene la conversión de ecosistemas de bosques a cultivos de maíz. El potrero de Cacute (CP) por su parte, cercano a la parte central del plano de ordenación, aparece superpuesto (sobre el primer eje) con la selva nublada (MS) lo que sugiere unos cambios menos acentuados en la conversión del bosque siempreverde a potrero. También la Figura 7.9 refleja las grandes diferencias entre los ecosistemas de bosques y los cultivos de maíz: en el plano de ordenación vemos que sobre la porción negativa del mismo (ocupada por la selva nublada y el bosque siempreverde, Fig. 7.7.) se asocian la casi totalidad de las variables ambientales consideradas. Por otra parte, en la conversión de páramo a cultivo de papa (Figura 7.10) vemos sobre el primer eje, lo cercano que están BF y BP, casi superpuestos, mientras que PF y PP mantienen cierta distancia entre sí. Además, hay mayor distancia entre Los Bahitos



**Figura 7.5.** Ordenamiento de los parámetros bióticos de todos los suelos, sin  $C_{mic}$ ,  $C_f/C_b$ ,  $C_{mic}/C_{total}$ ,  $C_b$  y  $qCO_2$

$M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{(CO_2)}$  acumulado a los 28 días);  $M_{act}/C_t$ : tasa de mineralización;  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $S_1/C_t$ : relación  $S_1$ / carbono total;  $t_{1/2}$ : vida media de la materia orgánica,  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad;  $E$ : velocidad de estabilización ( $mg C_{(CO_2)} kg^{-1} suelo h^{-1}$ );  $qCO_2$ : coeficiente metabólico;  $t_E$ : tiempo para alcanzar  $E$ ;  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ;  $C_{mic}$ : carbono microbiano;  $C_{mic}/C_t$ : relación  $C$  microbiano/ $C$  total;  $C_f$ : carbono fúngico;  $C_b$ : carbono bacteriano;  $C_f/C_b$ : carbono fúngico/carbono bacteriano; oli/cop: relación oligotrofos/copiotrofos; bacterias: bacterias heterotrofas totales; I,3:H' una semana de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; I,7:H' una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos; II,3:H' dos semanas de inoculados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; II,7:H' dos semanas de inoculados los suelos, siete días de inoculados los sustratos.



**Figura 7.6.** Ordenamiento de las variables ambientales de todos los suelos, sin  $C_{mic}$ ,  $C_f/C_b$ ,  $C_{mic}/C_{total}$ ,  $C_b$  y  $qCO_2$

CC: capacidad de campo; CT: conductividad; C: C total; N: N total;  $N_{inor}$ : N inorgánico;  $N_{amo}$ :  $N-NH_4^+$ ;  $N_{nitro}$ :  $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ ; C/N: relación carbono/nitrógeno; CIC: capacidad de intercambio catiónico; P: fósforo disponible; Al: aluminio; SB: suma de bases; %SB: % de saturación de bases,

(BF) y Los Pozos (PF) que entre cada uno de estos sitios y su cultivo asociado (BP, PP), lo cual se explica por la gran diferencia que hay entre los dos páramos, mayor que las que hay entre cada uno de ellos y su respectivo cultivo de papa. En contraste, en los bosques (Figura 7.7), hay más distancia (sobre el eje 1) entre cada uno de ellos y sus respectivos cultivos de maíz que la que hay entre ellos mismos, resultado de cierta similitud entre CB y MS, aunque las diferencias existen pero se asocian más al 2° eje, puesto que sobre este, los dos bosques están más distantes entre sí y ocupan posiciones extremas (Fig. 7.1, 7.7 y 7.13) pero este eje sólo explica el 22,5% de la variabilidad.

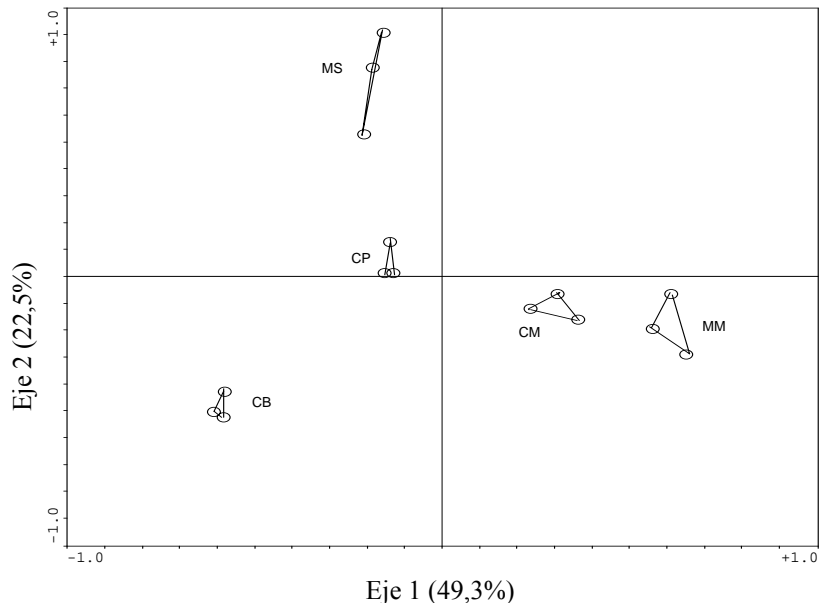
Adicionalmente, las figuras 7.10 y 7.11 nos dicen que en los páramos los más importantes cambios en las variables se manifiestan con la conversión de Los Pozos (PF, PP), hacia donde vemos se dirigen la mayoría de los vectores del ACP, incluso de las variables ambientales (Fig. 7.12) algunas de éstas relacionadas con los cambios promovidos por el manejo del cultivo de papa de Los Pozos, como son el Mg, pH, %SB, Ca, N-nitro, N-inor, fundamentalmente.

### **Ecosistemas naturales**

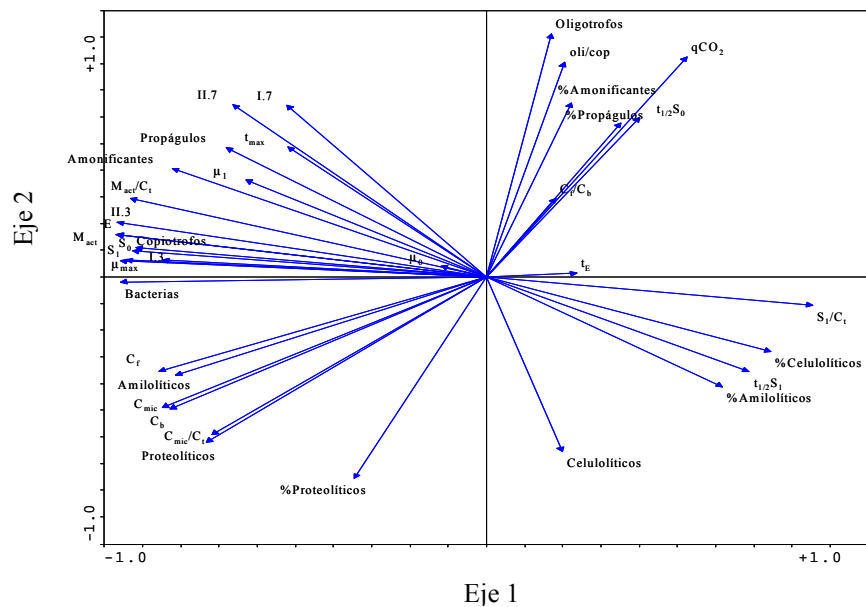
En las Figuras 7.13, 7.14 y 7.15 se muestran los resultados del ACP de los ecosistemas naturales cuando se tomaron todos los datos, y los mismos indicaron que los dos primeros componentes explican el 59,4% y 22,9%, el tercero un 6,1% y el cuarto el 3,4% restante.

Cuando se eliminaron del análisis los datos relacionados con la biomasa microbiana, el ordenamiento no mostró cambios sustanciales (resultados no mostrados). En la Figura 7.13 se ve que cada uno de los ecosistemas estudiados ocupa un cuadrante del plano de ordenamiento y que sobre el primer eje la mayor distancia se presenta entre BF y CB, mientras que sobre el segundo eje, son los suelos de bosques los que más se separan. Los ecosistemas boscosos se asocian, fundamentalmente a mayores valores de población microbiana total (bacterias, propágulos de hongos, amonificantes, proteolíticos, copiotrofos, oligotrofos, celulolíticos, amilolíticos, biomasa microbiana), mayor diversidad funcional microbiana, y mayor tasa respiratoria, mientras que los páramos, sobresalen por los rearrreglos que ocurren en la estructura de sus poblaciones microbianas que aunque es menor en términos absolutos, cuentan con una mayor proporción de propágulos, microorganismos amilolíticos y celulolíticos, una mayor proporción de biomasa fúngica y mayores vidas medias de la materia orgánica. Básicamente el ordenamiento de los ecosistemas naturales es igual que el mostrado por las figuras 7.1, 7.2 y 7.3.

Todo esto debería estar determinado porque estos ecosistemas boscosos presentan características ambientales propicias para el desarrollo y actividad de las comunidades microbianas, básicamente por su mayor temperatura, precipitación y contenido de humedad, lo cual favorecería una

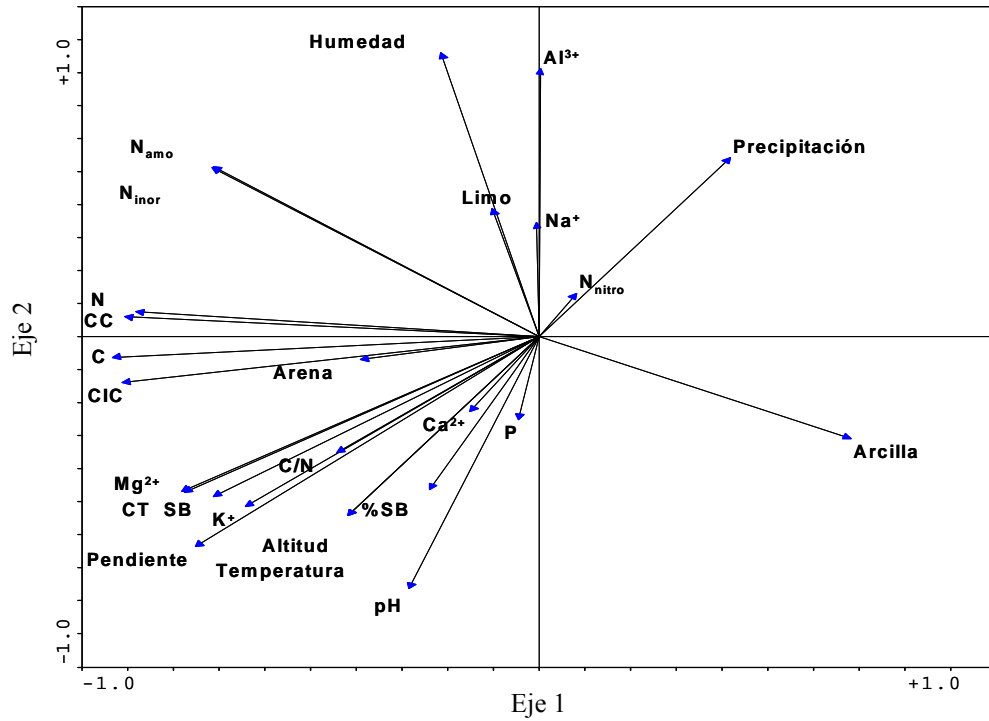


**Figura 7.7.** Ordenamiento de los suelos de bosques y sus cultivos asociados  
 CB: Cacute, bosque; CP: Cacute, potrero; CM: Cacute, maíz; MS: La Mucuy, selva; MM: Mucuy, maíz

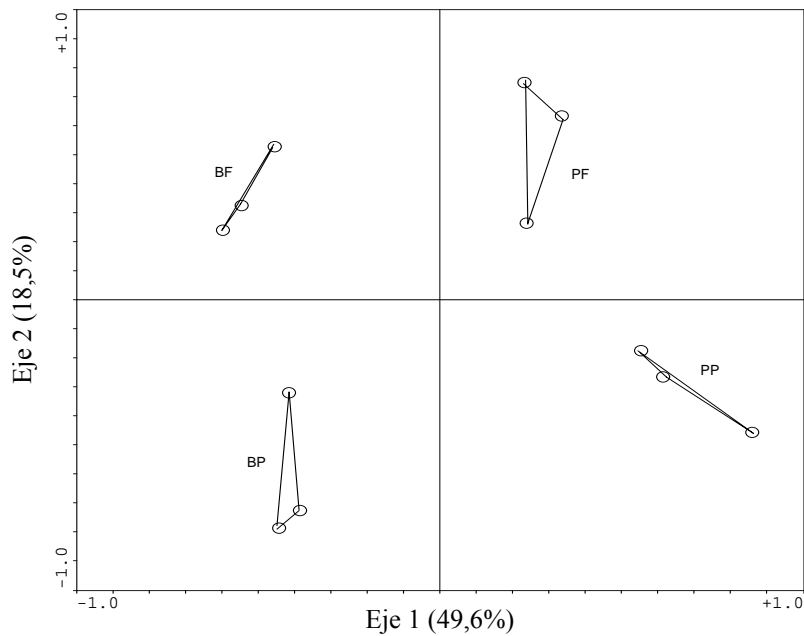


**Figura 7.8.** Ordenamiento de los parámetros bióticos de bosques y sus cultivos

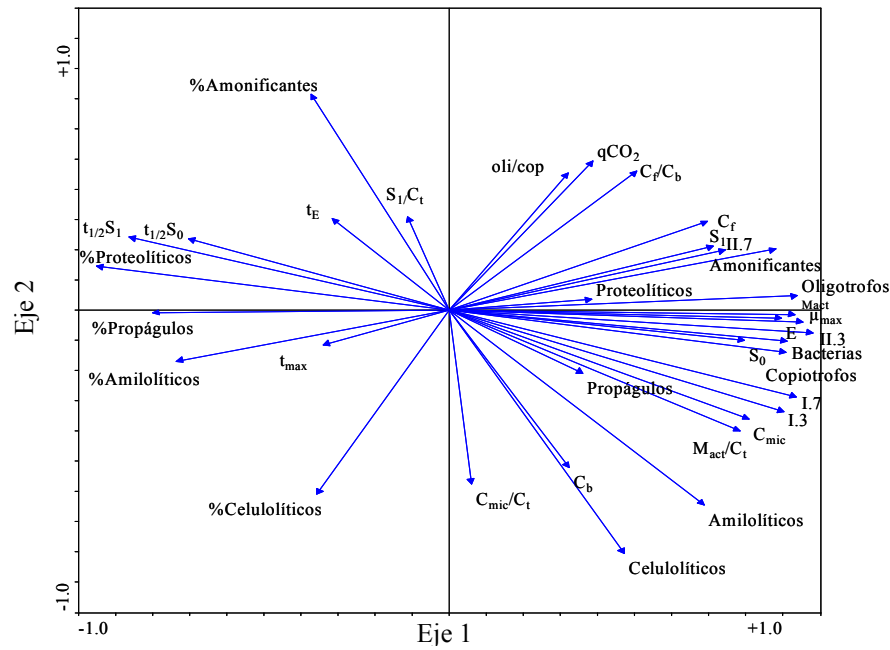
M<sub>act</sub>: actividad microbiana (C<sub>(CO2)</sub> acumulado a los 28 días); M<sub>act</sub>/C<sub>t</sub>: tasa de mineralización; S<sub>0</sub>: fracción lábil de la MOS; μ<sub>0</sub>: constante de velocidad de oxidación de S<sub>0</sub>; S<sub>l</sub>: materia orgánica recalcitrante; S<sub>l</sub>/C<sub>t</sub>: relación S<sub>l</sub>/ carbono total; t<sub>1/2</sub>: vida media de la materia orgánica, μ<sub>max</sub>: velocidad máxima de actividad; E: velocidad de estabilización (mg C<sub>(CO2)</sub> kg<sup>-1</sup>suelo h<sup>-1</sup>); qCO<sub>2</sub>: coeficiente metabólico; t<sub>E</sub>: tiempo para alcanzar E; t<sub>max</sub>: tiempo para alcanzar; μ<sub>max</sub>; C<sub>mic</sub>: carbono microbiano; C<sub>mic</sub>/C<sub>t</sub>: relación C microbiano/C total; C<sub>f</sub>: carbono fúngico; C<sub>b</sub>: carbono bacteriano; C<sub>f</sub>/C<sub>b</sub>: carbono fúngico/carbono bacteriano; oli/cop: relación oligotrofos/copiotrofos; bacterias: bacterias heterotrofas totales; I,3:H' una semana de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; I,7:H' una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos; I,7:H' una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos; I,7:H' una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos; I,7:H' una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos.



**Figura 7.9.** Ordenamiento de las variables ambientales en suelos de bosques y sus cultivos. CC: capacidad de campo; CT: conductividad; C: C total; N: N total; N<sub>inor</sub>: N inorgánico; N<sub>amo</sub>: N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; N<sub>nitro</sub>: N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup>+NO<sub>2</sub><sup>-</sup>); C/N: relación carbono/nitrógeno; CIC: capacidad de intercambio catiónico; P: fósforo disponible; Al: aluminio; SB: suma de bases; %SB: % de saturación de bases.

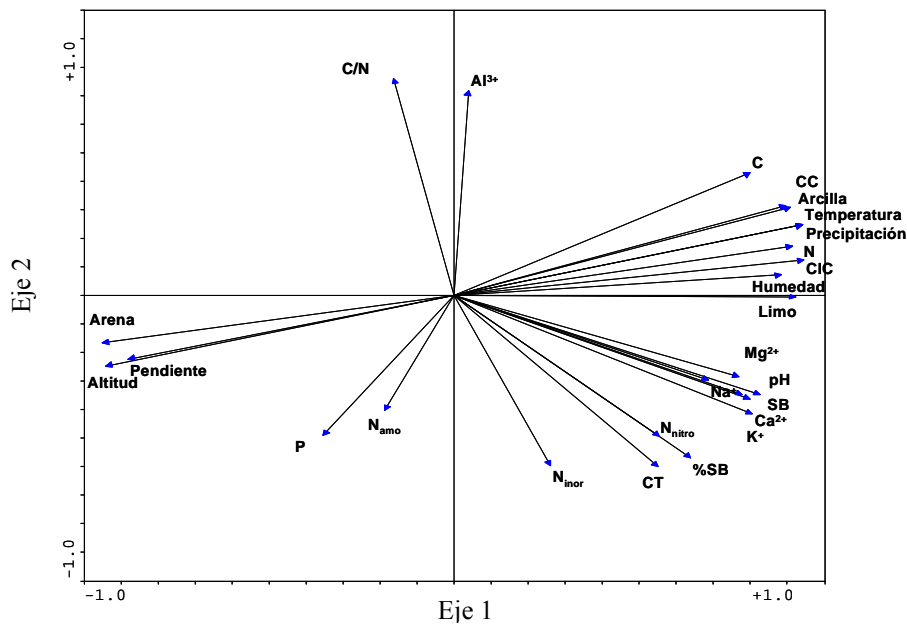


**Figura 7.10.** Ordenamiento de los suelos de páramo y sus cultivos asociados BF: Los Bahitos, páramo; BP: Los Bahitos, papa; PF: Los Pozos, páramo; PP: Los Pozos, papa.



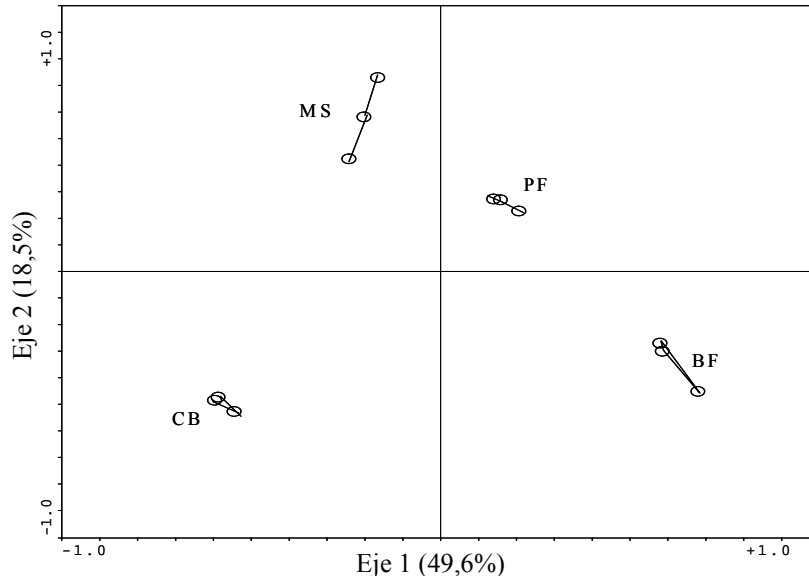
**Figura 7.11** Ordenamiento de los parámetros bióticos de los suelos de páramos y sus cultivos.

$M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{(CO_2)}$  acumulado a los 28 días);  $M_{act}/C_t$ : tasa de mineralización;  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $S_1/C_t$ : relación  $S_1$ / carbono total;  $t_{1/2}$ : vida media de la materia orgánica,  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad;  $E$ : velocidad de estabilización,  $mg\ C_{(CO_2)}\ kg^{-1}\ suelo\ h^{-1}$ ;  $qCO_2$ : coeficiente metabólico;  $t_E$ : tiempo para alcanzar  $E$ ;  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ;  $C_{mic}$ : carbono microbiano;  $C_{mic}/C_t$ : relación C microbiano/C total;  $C_f$ : carbono fúngico;  $C_b$ : carbono bacteriano;  $C_f/C_b$ : carbono fúngico/carbono bacteriano; oli/cop: relación oligotrofos/copiotrofos; I.3: H' una semana de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; I.7: H' una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos; II.3: H' dos semanas de inoculados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; II.7: H' dos semanas de inoculados los suelos, siete días de inoculados los sustratos.

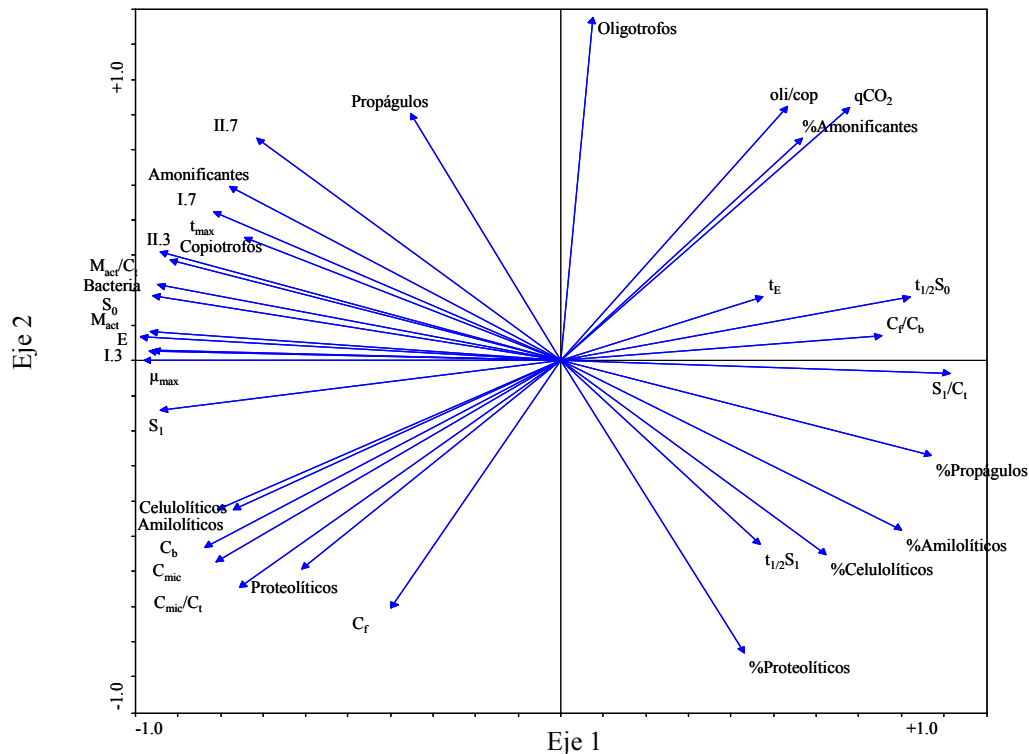


**Figura 7.12.** Ordenamiento de las variables ambientales de suelos de páramo y sus cultivos asociados.

CC: capacidad de campo; CT: conductividad; C: C total; N: N total;  $N_{inor}$ : N inorgánico;  $N_{amo}$ :  $N-NH_4^+$ ;  $N_{nitro}$ :  $N-(NO_3^- + NO_2^-)$ ; C/N: relación carbono/nitrógeno; CIC: capacidad de intercambio catiónico; P: fósforo disponible; Al: aluminio; SB: suma de bases; %SB: % de saturación de bases

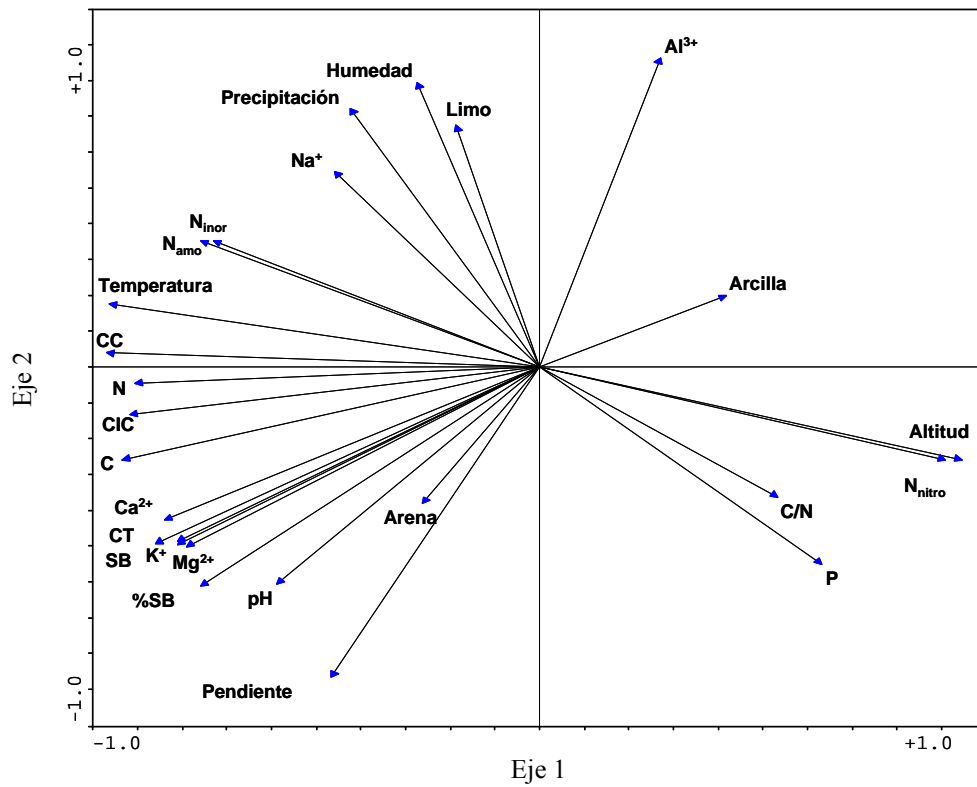


**Figura 7.13.** Ordenamiento los suelos de ecosistemas naturales.  
 BF: Los Bahitos, páramo; PF: Los Pozos, páramo; CB: Cacute, bosque; MS: La Mucuy, selva.



**Figura 7.14.** Ordenamiento de los parámetros bióticos de los ecosistemas naturales.

$M_{act}$ : actividad microbiana ( $C_{(CO_2)}$  acumulado a los 28 días);  $M_{act}/C_t$ : tasa de mineralización;  $S_0$ : fracción lábil de la MOS;  $\mu_0$ : constante de velocidad de oxidación de  $S_0$ ;  $S_1$ : materia orgánica recalcitrante;  $S_1/C_t$ : relación  $S_1$ / carbono total;  $t_{1/2}$ : vida media de la materia orgánica,  $\mu_{max}$ : velocidad máxima de actividad; E: velocidad de estabilización,  $mg C_{(CO_2)} kg^{-1} suelo h^{-1}$ ;  $qCO_2$ : coeficiente metabólico;  $t_E$ : tiempo para alcanzar E;  $t_{max}$ : tiempo para alcanzar  $\mu_{max}$ ;  $C_{mic}$ : carbono microbiano;  $C_{mic}/C_t$ : relación C microbiano/C total;  $C_f$ : carbono fúngico;  $C_b$ : carbono bacteriano;  $C_f/C_b$ : carbono fúngico/carbono bacteriano;  $oli/cop$ : relación oligotrofos/copiotrofos; I.3: H' una semana de incubados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; I.7: H' una semana de incubados los suelos, siete días de inoculados los sustratos; II.3: H' dos semanas de inoculados los suelos, tres días de inoculados los sustratos; II.7: H' dos semanas de inoculados los suelos, siete días de inoculados los sustratos.



**Figura 7.15.** Ordenamiento de las variables ambientales los suelos de ecosistemas naturales. CC: capacidad de campo; CT: conductividad; C: C total; N: N total; N<sub>inor</sub>: N inorgánico; N<sub>amo</sub>: N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>; N<sub>nitro</sub>: N-(NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup>); C/N: relación carbono/nitrógeno; CIC: capacidad de intercambio catiónico; P: fósforo disponible; Al: aluminio; SB: suma de bases; %SB: % de saturación de bases.

mayor cantidad de materia orgánica (C y N) y en consecuencia mayor capacidad de campo y capacidad de intercambio catiónico, entre otros factores estimuladores de la vida microbiana (Fig. 7.15).

#### 7.4. Conclusiones

1) La respuesta de las comunidades microbianas al cambio en el uso del suelo por conversión de ecosistemas naturales en agroecosistemas, varía entre un ecosistema y otro, y también dentro de un mismo ecosistema.

2) Entre los dos páramos estudiados existen más diferencias que entre ellos y sus respectivos cultivos de papa, y entre las dos conversiones de páramo a cultivo, la de Los Pozos fue la que más impacto tuvo sobre la estructura de las comunidades microbianas y sus actividades (variaciones dentro de un mismo ecosistema).

3) Entre los dos bosques estudiados existen menos diferencias que entre ellos y sus cultivos de maíz. Y entre las dos conversiones a cultivo de maíz ocurridas en los bosques no se distinguen diferencias importantes.

4) De todos los ecosistemas naturales estudiados, la menor similitud ecológica la hay entre el páramo de Los Bahitos (BF) y el bosque siempreverde (CB).

5) El análisis de componentes principales sugiere que la conversión de bosques a cultivos de maíz tuvo un profundo impacto, comparativamente mayor que el de páramo a cultivo de papa (variación entre ecosistemas diferentes). Este impacto se materializó sobre el tamaño, estructura y las actividades de las comunidades microbianas, así como también sobre los diferentes compartimientos de la materia orgánica del suelo. La conversión a potrero tuvo un impacto intermedio.

6) Los análisis de componentes principales hechos en este capítulo concuerdan con las observaciones y análisis de capítulos anteriores en donde se señalan el mayor impacto que sobre las comunidades microbianas tuvo la conversión de bosque a cultivo de maíz en comparación con la de páramo a papa.

7) Los altos valores de biomasa microbiana encontrados en el bosque siempreverde Cacute pueden disminuir en cierto modo el poder de resolución del ACP, aunque no en gran medida pues no cambia sustancialmente el ordenamiento de los suelos en el principal eje de variación.

8) Los factores ambientales (abióticos) que resultaron más determinantes en la respuesta de las comunidades microbianas fueron: pendiente, altitud y temperatura, textura, humedad y el conjunto formado por las variables C, N CIC y CC, las cuales están muy interrelacionadas entre sí y asociadas negativamente a la altitud y de forma positiva a la temperatura.

## **CAPÍTULO 8**

### **VERIFICACIÓN DE HIPÓTESIS, CONCLUSIONES Y CONSIDERACIONES FINALES**

#### **8.1. Introducción**

En el presente trabajo nos hemos propuesto caracterizar las propiedades abióticas y bióticas de suelos de ecosistemas naturales y sus sistemas de reemplazo (cultivos) de los Andes venezolanos con la finalidad de conocer el tamaño, la estructura y la actividad de las comunidades microbianas de esos suelos (objetivos específicos), así como el efecto que las conversiones tienen sobre dichas comunidades y hemos planteado una serie de hipótesis (Capítulo 1) que más adelante verificaremos a la luz de los resultados obtenidos. Para alcanzar estos objetivos, hemos determinado en primer lugar, las propiedades abióticas de los suelos (Capítulo 2), y luego, en los siguientes capítulos, hemos estudiado los aspectos relacionados con el tamaño, la estructura y actividad de las comunidades microbianas. Para conocer su tamaño, determinamos la biomasa microbiana (total, bacteriana y fúngica) y la población de bacterias heterótrofas y de propágulos de hongos (Capítulo 5); para conocer su estructura, determinamos la población de microorganismos oligotrofos y copiotrofos y de los involucrados en los ciclos del C (celulolíticos y amilolíticos) y del N (amonificantes y proteolíticos), así como la relación entre la biomasa fúngica y la bacteriana (Capítulo 5). Por último se estudiaron las actividades de nitrificación potencial (Capítulo 3), descomposición de sustratos carbonados (Capítulo 4) y actividad respiratoria (Capítulo 6). En el capítulo 7 se construyó una tabla en la que presentamos las variaciones ocurridas en las propiedades bióticas y abióticas de los suelos como consecuencia de la conversión y se analizó en forma integrada toda la información obtenida, identificando los principales ejes de variación de las comunidades microbianas y los factores del ambiente asociados. En el actual capítulo, se quiere verificar las hipótesis propuestas y expresar las conclusiones y consideraciones finales.

## 8.2. Verificación de hipótesis

Hipótesis 1. *Puesto que los ecosistemas naturales de páramo, selva nublada y bosque siempreverde seco, presentan diferentes características que vienen dadas por su altitud, temperatura, precipitación, vegetación, entre otras, esperaríamos también, diferencias estructurales y funcionales de sus comunidades microbianas.*

Los suelos de páramo presentaron diferencias importantes de tamaño, estructura y actividad de sus comunidades microbianas, en comparación a los de selva y bosque. Respecto al tamaño de las poblaciones microbianas, en los suelos de páramo se detectaron menor población de bacterias heterótrofas y de C bacteriano que los suelos de bosques; en relación a la estructura, las mayores diferencias de los suelos de páramo fueron respecto al bosque siempreverde que reportó mayor población de microorganismos celulolíticos, amilolíticos, proteolíticos, copiotrofos y una menor relación oligotrofos/copiotrofos, y en cuanto a la actividad, los bosques fueron los que presentaron la mayor tasa de mineralización, mayor índice de diversidad de Shannon y de porcentaje de degradación de sustratos carbonados (Capítulo 4), y en los que la amonificación predominó sobre la nitrificación (Capítulo 3). En relación a la actividad respiratoria, el bosque y la selva se diferenciaron de los páramos por los altos valores de actividad microbiana ( $M_{act}/C_t$ ), respiración basal (E), materia orgánica lábil ( $S_0$ ) y velocidad máxima de actividad respiratoria ( $\mu_{max}$ ) (Capítulo 6).

Entre los dos ecosistemas boscosos se detectaron diferencias importantes. El bosque siempreverde seco de Cacute presentó mayor número de bacterias heterótrofas y de microorganismos celulolíticos, amilolíticos, proteolíticos, copiotrofos y menor población de oligotrofos y de relación oligotrofos/copiotrofos. Esto es de esperar si tomamos en cuenta que el bosque de Cacute, en comparación con la selva nublada de La Mucuy, presenta mayor pH, CIC, porcentaje de saturación de bases, bases totales y mayor contenido de C, todo lo cual, favorece el desarrollo de las comunidades microbianas. Además el bosque siempre verde fue superior en biomasa microbiana ( $C_{mic}$ , C fungico y C bacteriano). En la tasa de nitrificación no se detectaron cambios entre estos dos ecosistemas como tampoco en la diversidad funcional microbiana donde no hubo una tendencia clara a favor de uno u otro; en donde si hubo diferencias fue en los parámetros respiratorios, en los que el bosque siempreverde seco superó a la selva nublada en la actividad respiratoria ( $M_{act}$ , la cantidad de sustrato potencialmente mineralizable ( $S_0$ ), la velocidad máxima de actividad ( $\mu_{max}$ ) pero mostró valores inferiores de vida media de la materia orgánica lábil ( $t_{1/2}$  de  $S_0$ ) y del coeficiente metabólico.

Hipótesis 2. *En los ecosistemas naturales se esperaba mayor diversidad funcional microbiana, menor coeficiente metabólico y menor tasa de nitrificación que en los sistemas agrícolas.*

Los resultados indican que en el caso del bosque siempreverde y la selva nublada, efectivamente la diversidad funcional microbiana fue mayor en los ecosistemas naturales que en los cultivos, mientras que en los páramos, o no hubo variaciones muy importantes como en Los Bahitos, o por el contrario a lo ocurrido en la selva y el bosque, el cultivo de papa presentó mayor diversidad funcional de las comunidades microbianas (Los Pozos).

En los páramos, no se evidenciaron cambios en el coeficiente metabólico mientras que en el bosque siempreverde, con el cultivo, este parámetro aumentó su valor y curiosamente en la conversión de selva nublada, el cultivo presentó menor valor.

En Los Pozos, el suelo cultivado con papa nitrifica (7-21 días) más que el páramo. En Cacute la tasa de nitrificación aumentó en los dos cultivos. En Los Bahitos y La Mucuy no se detectaron cambios.

*Hipótesis 3. Se esperan diferencias entre los sistemas cultivados, relacionadas con el tipo de cultivo y el tipo de prácticas agrícolas e intensidad del manejo.*

En los suelos de los dos cultivos de maíz, aunque se encontraron algunas diferencias entre sus propiedades abióticas, no se detectaron variaciones importantes en sus propiedades bióticas, en contraste con lo que mostraron los dos cultivos de papa en el que el manejo más intensivo y con mayores insumos del cultivo de Los Pozos, influyó considerablemente sobre diversos parámetros abióticos y bióticos. Entre los abióticos, resaltó el aumento (aunque no significativo) en el pH y que probablemente haya contribuido con una mayor tasa de nitrificación y en consecuencia de N-nítrico, además de un mayor contenido de C, N, capacidad de campo, Ca, Mg, K y CIC. En cuanto al tamaño y estructura de las comunidades microbianas, si comparamos los dos cultivos de papa encontramos mayor población total de bacterias heterótrofas en Los Pozos, así como de celulolíticos, oligotrofos, copiotrofos y de la relación oligotrofos/copiotrofos. También en Los Pozos, se detectaron mayores valores de biomasa microbiana ( $C_{mic}$ ) y de C fúngico. En cuanto a la actividad de las comunidades microbianas, en el cultivo de papa de Los Pozos, la tasa de nitrificación fue también muy diferente, no sólo respecto al otro cultivo de papa sino que este suelo fue entre todos, el que mayor tasa presentó (7-21 días), y en relación al índice de Shannon de degradación de sustratos carbonados, siempre fue mayor en Los Pozos que en el otro cultivo de papa y en ocasiones también superior a todos los demás cultivos. Por otra parte, los parámetros respiratorios de ambos cultivos de papa también mostraron diferencias, ya que en Los Pozos la velocidad máxima de actividad ( $\mu_{max}$ ) así como la de estabilización (E), fueron superiores en Los Pozos.

En general el potrero mostró resultados intermedios entre los cultivos de maíz y el cultivo de papa. Respecto a la nitrificación relativa no mostró diferencias significativas con los demás cultivos de maíz, pero si mostró una mayor tasa de nitrificación que la del cultivo de papa de Los Bahitos, pero

menor que la del cultivo de los Pozos. En relación a la diversidad funcional microbiana, el potrero siempre presentó un índice ( $H'$ ) superior al del cultivo de Los Bahitos y variable (igual, mayor o menor) respecto al cultivo de Los Pozos y con respecto a los cultivos de maíz nunca inferior, sino igual o mayor. En cuanto al tamaño y la estructura de las comunidades microbianas, el potrero tiene menos diferencias con el cultivo de papa de Los Pozos que con cualquiera de los otros cultivos y es el que tiene, de todos los cultivos, mayor biomasa microbiana, y por lo tanto, mayor relación  $C_{mic}/C_{total}$ , mayor C bacteriano e igual cantidad de C fúngico que el cultivo de Los Pozos. En los parámetros respiratorios, aunque no mostró diferencias significativas de su actividad microbiana ( $M_{act}$ ) respecto a los demás cultivos, dicho valor fue el mayor de todos, seguido muy de cerca por Los Pozos. En conclusión, podría decirse que el potrero presenta características en el tamaño, estructura y actividad de las comunidades microbianas similares a las encontradas en el cultivo de papa de Los Pozos (de mayores insumos), pero sin los efectos indeseables de altos contenidos de nitratos, ni la reducción drástica de la materia orgánica lábil, entre otras cosas.

### 8.3. Conclusiones

1) En los páramos, los parámetros respiratorios fueron muy poco sensibles a los cambios derivados de la conversión. Por el contrario, las propiedades abióticas, la nitrificación y el tamaño y estructura de las comunidades microbianas si mostraron sensibilidad.

2) En los páramos, el tamaño y la estructura de la comunidad microbiana siempre que mostraron variación con la conversión, lo hicieron aumentando sus valores, mientras que en la conversión de los bosques la respuesta fue más heterogénea aunque la tendencia predominante fue a que las variables disminuyeran su valor.

3) En relación al efecto de la conversión sobre las actividades de las comunidades microbianas, la nitrificación relativa (7-21 días), fue un indicador sensible, que, o no varió o aumentó su valor, tanto en páramos como en bosques, mientras que los parámetros asociados a la actividad respiratoria no mostraron muchas variaciones en el páramo, y en los bosques respondieron, en general, disminuyendo su magnitud. La diversidad funcional microbiana, por su parte, fue un indicador muy sensible al cambio en el uso del suelo y presentó varios matices. En el páramo de Los Pozos, este índice muestra una tendencia clara a aumentar mientras que Los Bahitos no pareciera haber grandes cambios, y en los bosques, sobre todo con la conversión a cultivo de maíz la diversidad funcional microbiana desciende de manera importante.

4) Entre los diferentes grupos funcionales de microorganismos evaluados, los amonificantes no mostraron ser sensibles al cambio en el uso del suelo, a diferencia de lo mostrado por los celulolíticos que prácticamente siempre aumentaron (valores absolutos y relativos al total) con la conversión a cultivo, y los proteolíticos que fueron sensibles (valores relativos) a la conversión en los suelos de selva nublada y bosque siempre seco (aumentando y disminuyendo respectivamente). Estos cambios resaltan la importancia de estudiar mejor, tal y como proponen otros autores, la estructura de la comunidad microbiana y el efecto que sobre ella tienen los disturbios en lugar de considerar aisladamente el cambio en el tamaño de la población o de la biomasa microbiana (van Bruggen y Semenov, 2000; Roper y Ophell-Keller, 1997).

5) En nuestro trabajo encontramos que, excepto en la conversión de Los Bahitos en donde aunque hubo aumento en la población total de bacterias heterótrofas no lo hubo de manera significativa en su proporción, los celulolíticos siempre aumentaron su porcentaje respecto a la población total. Lo

mismo reporta Abril (2002), cuando comparara la estructura de la microbiota en suelos sometidos a diferentes impactos por la explotación agrícola, y encuentra un significativo aumento en la proporción de este grupo de microorganismos en suelos sometidos a un impacto intermedio. La determinación de estos microorganismos en el actual trabajo fue hecha siguiendo una técnica engorrosa que consistió en determinar la actividad sobre cintas de papel sumergidas en una solución de cultivo (Capítulo 5) por lo que sería interesante desarrollar un método más sencillo y expedito con el fin de implementarlo en futuras investigaciones con la finalidad de profundizar en el conocimiento de cómo responden estos microorganismos a las perturbaciones y poder así optimizar su utilización como indicadores muy sensibles a los cambios en uso del suelo.

6) Muy importante sería también la búsqueda de un sistema de clasificación (valoración) de la variables microbianas asociadas al tamaño, estructura y actividad, con la finalidad de utilizarlas para hacer un diagnóstico del estado de salud y calidad del suelo que pudiera servir de orientación para un manejo sustentable. Esto no es tarea fácil porque, entre otras cosas, no existe un consenso universal acerca del significado y alcances de los diferentes variables determinadas y de cómo valorar en términos de calidad y salud del suelo los diferentes parámetros físicos, químicos y biológicos (Bouma 2002; Abril, 2003) Sin embargo, podríamos decir que si tomamos como criterio favorable que el suelo de un cultivo mantenga las características del de su ecosistema natural asociado, entonces los cultivos de papa fueron los que menos cambios presentaron, es decir, los que mantuvieron e incluso mejoraron algunas características, mientras que los suelos de cultivos asociados a la selva nublada y el bosque siempre verde, redujeron considerablemente el valor de la mayoría de las variables. Por otra parte, en la conversiones de páramo a cultivo de papa, en Los Pozos aumentaron algunos parámetros que podemos considerar positivos para el suelo, como lo fueron las bases intercambiables (nutrientes para las plantas y los microorganismos) la capacidad de retención de agua, pero el aumento indeseable de la tasa de nitrificación y de los nitratos presentes en los suelos contrastan enormemente con las aparentes “bondades” del manejo en este cultivo.

7) Las causa de las diferentes y muy contrastantes respuestas que ocurrieron entre los suelos de páramo y los de bosques (selva nublada y bosque siempre verde) puede atribuirse a: A) Los importantes cambios en la entrada y flujos de energía con la conversión de la selva nublada y el bosque siempre verde que pudo repercutir con mayor intensidad en la productividad primaria neta y los diferentes niveles tróficos de estos ecosistemas. B) Las diferencias en los manejos de los cultivos, ya que en el de papa con la utilización de pargana y gallinaza se hace un importante aporte de materia orgánica que mejora las condiciones del suelo, y C) Mayor resiliencia y/o resistencia de las comunidades

microbianas del páramo que las harían menos sensibles a los cambios en el manejo y el uso del suelo. La resiliencia se define como la capacidad de los suelos a recuperarse y funcionar después de un disturbio, y por resistencia se entiende la capacidad del suelo para superar de inmediato los efectos de una perturbación (Griffiths *et al.*, 2004; Degens, 1998). Se ha sugerido que la estructura de las comunidades microbianas pueden jugar un papel crucial sobre estas dos propiedades del sistema (Griffiths, *et al.*, 2004). En el trabajo actual, vemos que a diferencia a lo encontrado en las conversiones de páramo, la conversión de los bosques a cultivo, trajo consigo la reducción en importantes parámetros relacionados con el tamaño y la estructura de las comunidades microbianas (biomasa, población de bacterias heterótrofas) y la diversidad funcional asociada a la descomposición de sustratos carbonados, lo cual podría estar indicando una menor resistencia/resiliencia de los suelos de bosques en comparación con los de páramo. Considerando las condiciones ambientales que imperan en el páramo: bajas temperaturas promedio acompañadas de grandes oscilaciones de temperatura entre el día y la noche, alta radiación ultravioleta, bajas precipitaciones, sería de esperar que las comunidades microbianas del suelo hayan desarrollado mecanismos para soportar y sobrellevar condiciones adversas como las que generan los disturbios. Existen diversos reportes en donde se describen algunos procedimientos para determinar en el laboratorio el grado de resiliencia y resistencia de los suelos, lo cual sería interesante realizar con los suelos de páramo y bosque, con la finalidad de corroborar esta idea y determinar cómo responden los mismos a diferentes perturbaciones (Griffiths *et al.*, 2004, 2008; Degens *et al.*, 2001).

#### **8.4. Reflexiones finales**

En primer lugar diremos que en términos generales fueron alcanzados los objetivos generales y específicos que se propusieron en este trabajo, enumerados en el Capítulo 1. Se caracterizaron los suelos en sus propiedades bióticas y abióticas y llegamos a conocer características de las comunidades microbianas como su tamaño, composición, estructura y función, aunque con las limitaciones propias de cada técnica. En este sentido podemos señalar que por ejemplo, el tamaño de las comunidades microbianas se determinó por el recuento viable de microorganismos, el cual nos da una información que a lo sumo se aproxima al 10% del valor determinado por otras técnicas como la biología molecular o la microscopía o que para medir la nitrificación se ajustaron los suelos al 60% de su capacidad de campo lo cual seguramente difiere de lo que ocurre realmente en la naturaleza. Lo mismo habría que decir de otros ajustes y mediciones que se hicieron en el laboratorio por lo que, nuestro conocimiento de las características de las comunidades microbianas es limitado y sólo representan lo que ocurre en condiciones muy controladas de laboratorio. Además, nos hemos limitado a estudiar un reducido grupo de parámetros y hemos obviado otros, que también juegan un importante papel en los procesos que ocurren en el suelo, como son las bacterias nitrificantes, desnitrificantes, cianobacterias, micorrizas, e incluso miembros de otros niveles tróficos de la cadena alimentaria del suelo como, protozoos, nematodos, etc., que últimamente han ido acaparando más atención por los ecólogos del suelo. Pero además debemos mencionar otros factores que estarían limitando nuestro conocimiento sobre el asunto que nos hemos planteado estudiar, uno de ellos y tal vez el más importantes es la falta de datos más precisos sobre el manejo de los cultivos agrícolas, lo cual genera algunas dudas a la hora de interpretar las respuestas de las comunidades microbianas (conversión vs. manejo). Tampoco nuestro estudio considera las variaciones espaciales ni temporales que puedan ocurrir en las comunidades microbianas puesto que hemos considerado sólo dos páramos, que además poseen un clima muy seco (hay páramos más húmedos, como los de Gavidia) un bosque siempre verde y una selva nublada, y todas las muestras fueron tomadas en el mes de julio (estación lluviosa). Otro asunto que hay que considerar es que estudiamos la microbiota hasta 10 cm de profundidad del suelo. Además los resultados de las propiedades abióticas de los suelos indican que entre parcelas contiguas existen diferencias significativas en la granulometría de las mismas lo cual es indicativo de la gran heterogeneidad espacial presente en el suelo lo cual no permite hacer conclusiones firmes sobre el efecto de la conversión. Una de las dudas de nuestro estudio es que desconocemos cuándo ocurrió la conversión y si esas diferencias abióticas son respuesta a ella o si han intervenido otros factores desconocidos. Todas estas consideraciones deben ser tomadas en cuenta a la hora de planificar futuras investigaciones las cuales debería completar la información recogida en el presente trabajo.

Una vez reconocidas las limitaciones del presente trabajo y aceptado en consecuencia que el alcance de nuestros hallazgos también es limitado, debemos plantearnos el siguiente camino a seguir que no puede ser otro que, por una parte, darle la más amplia utilidad a toda la información generada en el trabajo -sólo así el trabajo adquirirá su adecuado valor- y en segundo lugar, plantearnos las perspectivas futuras de investigación que incluyan las correcciones metodológicas o teóricas necesarias para llevar por buen camino las nuevas investigaciones.

Respecto a lo primero podemos decir que tenemos una serie de resultados que tomados así de uno en uno no solo reflejan procesos específicos en el suelo que tendrían que tomarse con cautela como indicadores de la calidad del suelo ya que el suelo y su funcionamiento pleno implica actividades mucho más complejas que implican todas las actividades de la biomasa microbiana por ejemplo además de las propiedades emergentes resultantes de todas esas actividades actuando conjuntamente. Un asunto clave es, como ya mencionamos en este Capítulo, determinar qué parámetros se deben considerar como indicadores de la calidad del suelo. Muchos parámetros han sido utilizados para evaluar la calidad del suelo y hacer valoraciones de su degradación aunque no existe un consenso general sobre el significado de real de las variables edáficas ni de cómo valorarlas en términos ecológicos. Esto en parte porque aunque por una parte se considera que los microorganismos y sus actividades juegan un papel fundamental en el funcionamiento de los ecosistemas, sin embargo en lo que no hay grandes consensos es en cómo conocer con exactitud el significado de algunos indicadores comúnmente aceptados como indicadores de la calidad del suelo como es la biomasa microbiana, por citar uno solo. Otro aspecto que interviene en la interpretación de los resultados es que la capacidad para investigar la naturaleza exacta del papel de los microorganismos está limitada por las diferentes aproximaciones teóricas y metodológicas que hay entre la ecología microbiana y la ecosistémica, que para ser superada amerita una estrecha colaboración interdisciplinaria fundamentada entre otras cosas, insisten algunos autores, en el mutuo respeto, la comunicación activa y el aprendizaje recíproco entre micro- y macro-ecólogos (Balsler *et al.*, 2006). De manera que podríamos concluir en este apartado que la correcta interpretación y aplicación de los resultados tiene que pasar por la integración de grupos interdisciplinarios que generen la sinergia necesaria para responder las grandes incógnitas que tenemos sobre los procesos del suelo.

También es conveniente considerar algunas cuestiones surgidas del presente trabajo que llaman la atención y que hemos mencionado en los respectivos capítulos pero que no está de más considerar nuevamente aquí, como son, el papel de los oligotrofos en los diferentes ecosistemas estudiados, el significado de la baja relación ologotrofos/copiotrofos en el bosque siempre verde, la reorganización estructural de los grupos funcionales, la alta sensibilidad de los microorganismos celulolíticos, y la mayor amonificación que tiene lugar en los bosques. El estudio más minucioso de estos aspectos debe

formar parte de futuras investigaciones con el fin de confirmar que los mismos poseen el suficiente grado de sensibilidad para ser utilizados como indicadores de las perturbaciones ocurridas en el suelo, si muestran consistencia en el cambio de dirección (aumento o disminución) y si pueden reflejar los diferentes grados de perturbación. También llama la atención, el alto valor de biomasa microbiana en el bosque siempreverde seco, por lo que debemos señalar lo conveniente que sería verificar este dato con nuevas muestras de suelo del mismo bosque y de otros bosques similares, tal vez por el método de fumigación-extracción, y en el caso de repetir por respiración inducida por sustrato, determinar cuál es la menor concentración de glucosa que induce la respiración máxima (Anderson y Domsch, 1978), ya que en el presente trabajo se utilizó la cantidad de 2500 mg glucosa  $\text{kg}^{-1}$  suelo por ser esta la cantidad utilizada en otros estudios con suelos similares de los Andes venezolanos (Gonzales, 2004 ).

Entre todos los parámetros bióticos evaluados, los que resultaron más sensibles al comparar ecosistemas y evaluar conversiones y que por lo tanto podríamos recomendar como indicadores (mínimos) a tener muy en cuenta a la hora de estudiar otros suelos están:

- a) La amonificación y la nitrificación.
- b) El patrón de degradación de sustratos carbonados (suelos incubados por dos semanas y lectura después de tres días de inoculados los sustratos).
- c) La población total de bacterias heterótrofas y de celulolíticos, así como el porcentaje de éstos respecto a la población total.
- d) Biomasa microbiana (total) y fúngica.
- e) Actividad respiratoria ( $M_{\text{act}}$ ) y  $S_0$  (materia orgánica lábil).

Habría que recordar nuevamente que fueron pocos los suelos estudiados en este trabajo y que por lo tanto las recomendaciones anteriores podrían tener una validez muy limitada. Sería conveniente estudios adicionales que incluyeran un mayor número de suelos para poder validar y hacer extensivas nuestras recomendaciones, así como investigaciones que evalúen el efecto del manejo versus la sensibilidad del suelo a las conversiones.

## 8.5. Referencias Bibliográficas

- Abril, A (2003). ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores del impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología Austral* 13: 195-204.
- Anderson JPE y Domsch KH (1978). A physiological method for the quantitative measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biology & Biochemistry* 10: 215-221.
- Balser TC, McMahon KD, Bart D, Bronson D, Coyle DR, Craig N, Flores-Mangual ML, Forshay K, Jones SE, Kent AE, Shade AL (2006) Bridging the gap between micro- and macro-scale perspectives on the role of microbial communities in global change ecology. *Plant and Soil* 289: 59-70.
- Bouma J (2002). Land quality indicators of sustainable land management across scales. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 88: 129-136.
- Degens BP (1998) Decrease in microbial functional diversity do not result in corresponding changes in decomposition under different moisture conditions. *Soil Biology & Biochemistry* 30(14): 1989-2000.
- Degens BP, Schipper LA, Sparling GP, Duncan LC (2001). Is the microbial community in a soil with reduced catabolic diversity less resistant to stress or disturbance. *Soil Biology & Biochemistry* 33: 1143-1153.
- Gonzales S (2004). *Microbiota Edáfica de Los Andes Tropicales*. Tesis Doctoral. Universidad de Santiago de Compostela. 266p.
- Griffiths BS, Kuan HL, Ritz K, Glover LA, McCaig AE y Fenwick (2004). The relationship between microbial community structure and functional stability, tested experimentally in an upland pasture soil. *Microbial Ecology* 47: 104-113.
- Griffiths BS, Hallett PD, Kuan HL, Gregory AS, Watts CW, Whitmore AP. (2008). Functional resilience of soil microbial communities depends on both soil structure and microbial community composition. *Biology and Fertility of Soils* 44: 745-754.
- Roper MM y Ophel-Keller KM (1997). Soil microflora as bioindicators of soil health. En CE Pankhurst, BM Doube y VVSR Gupta (eds.). *Biological Indicators of Soil Health* CAB INTERNATIONAL, pp. 157-177
- Van Bruggen AHC y Semenov AM (2000). In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology* 15: 13-24

**ANEXO A. Medios de Cultivo.****Medio bacterias heterótrofas<sup>e</sup>**

Composición	g l <sup>-1</sup>
Glucosa anhidra	1,0
KNO <sub>3</sub>	0,5
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,2
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5
CaCl <sub>2</sub>	0,1
NaCl	0,1
FeCl <sub>3</sub>	0,01
Extracto de levadura	1,0
SET <sup>a</sup>	
CTT <sup>b</sup>	

**Medio ACN**

Composición	g l <sup>-1</sup>
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,5
KNO <sub>3</sub>	0,5
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> ·3H <sub>2</sub> O	1,3
CaNO <sub>3</sub> ·4H <sub>2</sub> O	0,06
Glucosa	2,5
HEC <sup>c</sup>	0,2
Cicloheximida	100 ppm
CTT <sup>b</sup>	

**Medio amilolíticos**

Composición	g l <sup>-1</sup>
Almidón de arroz	1,5
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,0
SSW	
SET	

**Solución Salina de Winogradsky (SSW)**

Composición:	g l <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	5,0
MgSO <sub>4</sub>	2,5
NaCl	2,5
Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	0,05
MnSO <sub>4</sub>	0,05

**Solución Elementos Traza (SET)**

Composición:	g l <sup>-1</sup>
NaMoO <sub>4</sub>	0,05
H <sub>3</sub> BO <sub>4</sub>	0,1
FeCl <sub>3</sub>	0,05
CoCl <sub>2</sub>	0,025
NiCl <sub>2</sub>	0,025
CuSO <sub>4</sub>	0,05
ZnSO <sub>4</sub>	0,05
MnSO <sub>4</sub>	0,05

**Caldo peptona-dextrosa<sup>e</sup>**

Composición	g l <sup>-1</sup>
Dextrosa	10,0
Peptona	5,0
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,0
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,5
Rosa bengala al 1 %	3,3 ml l <sup>-1</sup>
Estreptomicina	30 ppm

**Medio celulíticos**

Composición	g l <sup>-1</sup>
NH <sub>4</sub> NO <sub>3</sub>	1,0
SSW <sup>d</sup>	
SET <sup>a</sup>	
Tira de papel de filtro	

**Medio proteolíticos<sup>f</sup>**

Composición	g l <sup>-1</sup>
Gelatina	30,0
SSW <sup>d</sup>	
SET <sup>a</sup>	
CTT <sup>b</sup>	

**Medio amonificantes**

Composición	g l <sup>-1</sup>
Asparagina	0,2
SSW <sup>d</sup>	

**Medio MSB**

Composición	g l <sup>-1</sup>
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,75
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,5
NH <sub>4</sub> Cl	0,582
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0,25

a: SET= solución elementos traza (1ml l<sup>-1</sup>); b: CTT= Cloruro de trifenil tetrazolio (0.075 mM); c: HEC= Hidrolizado enzimático de caseína; d: SSW: Solución salina de Winogradsky (50 ml l<sup>-1</sup>); e: ajustar pH a 6.8; f: ajustar pH a 7.2

**ANEXO B. Reactivos*****Reactivo de Nessler***

Solución A

HgI	100 g
KI	70 g
H <sub>2</sub> O	250 ml

Solución B

NaOH	160 g
H <sub>2</sub> O	500 ml

Añadir lentamente la solución A a 500 ml de solución B. Diluir con agua desionizada hasta un volumen final de 1 litro.

***Reactivo de yodo-yodurado***

Yodo	10 g
KI	25 g
H <sub>2</sub> O	1 L