

**DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS DEL SUELO EN PAISAJES AGRÍCOLAS MONTAÑOSOS DE LA RESERVA DE LA BIOSFERA SIERRA DEL ROSARIO.**

Yoania Ríos Rocafull<sup>1</sup>, Maité Torres Leblanch<sup>1</sup>, Alejandro González Álvarez<sup>1</sup>, Marisel Ortega García<sup>1</sup>, Yanisbell Sánchez Rodríguez<sup>1</sup>, Rayza Garbey Coroneaux<sup>1</sup>, Daniel La O Machado<sup>1</sup>, Amarilis Cruz Ortega<sup>1</sup>, Rider Baños Utria<sup>2</sup>, Damaysa Arzola Delgado<sup>2</sup> y Janet Rodríguez Sánchez<sup>1</sup>.

**RESUMEN**

Las reservas de la biosfera tienen dentro de sus principales objetivos preservar la diversidad. Sin embargo, poco se estudia el efecto sobre el ecosistema edáfico de las prácticas agrícolas que dentro de ella se realizan. En Cuba constituye ello una necesidad para el manejo adecuado de los ecosistemas. En este trabajo se determinó la concentración de diferentes grupos de microorganismos del suelo (microorganismos totales, hongos, bacterias, actinomicetos, microorganismos fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fósforo y solubilizadores de potasio) en dos zonas de influencia de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario. Con el empleo del método de siembra directa en placas y el conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en medios selectivos se demostró que el número total de microorganismos fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo es muy similar en los siete puntos de estudio. El número total de microorganismos, los hongos y los actinomicetos mostraron variaciones, las que no guardaron relación con los niveles de materia orgánica pero sí con el establecimiento de prácticas con un impacto negativo en la biodiversidad. Los grupos más afectados fueron los solubilizadores de potasio y celulolíticos, ausentes en las muestras procedentes de zonas arbustivas. Los resultados demostraron la necesidad de realizar acciones que incrementen los niveles de materia orgánica y minimicen las perturbaciones de la microbiota edáfica. Se sugiere estudiar la composición de los microorganismos a nivel de especie mediante el empleo de técnicas que brinden información adicional sobre el impacto de las prácticas agrícolas en la biodiversidad edáfica.

**Palabras clave:** diversidad biológica, microbiología.

**Behavior of soil microorganisms in areas of the biosphere reserve of Sierra of the Rosario.****ABSTRACT**

The reserves of the biosphere have inside these main objectives to preserve the biodiversity. However, it has a few studies about the effect in soil ecosystem of the agricultural practices that are carried out inside the reserve. In Cuba this is a necessity for the correct management of the ecosystems. In this research were evaluated the concentration of different groups of soil microorganisms (total microorganisms, fungi, bacteria, actinomicetes, nitrogen fixers, and phosphorus and potassium solubilizers) in two areas of Biosphere Reserve Sierra of the Rosario. With the employment of the method of direct inoculation in box and the count of Units Formation of Colonies (UFC) in selective culture mediums, it was demonstrated that the total number of

---

<sup>1</sup>MSc. Yoania Ríos Rocafull, Investigador Auxiliar del Departamento de Recursos Genéticos Microbianos del Instituto de Investigaciones Fundamentales en Agricultura Tropical "Alejandro de Humboldt" (INIFAT), MINAG. Calle 188 #38754 e/ 397 y Linderos, Santiago de las Vegas. Boyeros. La Habana. Cuba, E-mail: [dpagrobiotec@inifat.co.cu](mailto:dpagrobiotec@inifat.co.cu), <sup>2</sup>Estacion Ecológica Sierra del Rosario, Artemisa, Cuba.

microorganism of nitrogen fixer's microorganisms and phosphorus solubilizers are very similar in the seven study points. The total number of microorganisms, the fungus and the actinomycetes show variations, those that don't keep relationship with the levels of organic matter of the soil but if with the establishment of practical aggressive. The more affected groups were the potassium solubilizers and cellulolytic, those that could not be quantified in the samples coming from areas with big plants. The results demonstrated the necessity to carry out actions that increase the levels of organic matter and minimize the interferences of the edaphic microorganisms, even in these special areas. It is suggested to study the composition from the microorganisms to species level by different techniques to obtained more information about the impact of agriculture practices over soil biodiversity.

**Key words:** biological diversity, microbiology.

### **INTRODUCCIÓN**

El suelo es el sustento de la vida vegetal al regular diferentes mecanismos que permiten el funcionamiento del ecosistema terrestre, ya que en él tienen lugar la mayor parte de los ciclos biogeoquímicos. Es además, el hábitat de macro y microorganismos (Salazar *et al.*, 2014).

Las reservas de la biosfera tienen como objetivo preservar la diversidad y los recursos naturales y además, proporcionar a las comunidades que en ellas habitan los medios de vida para un buen vivir de forma sostenible. Sin embargo, en no pocas ocasiones se obvia el estudio de las interrelaciones entre los seres humanos y la biodiversidad, a pesar de la actividad agrícola que se desarrolla en las zonas de influencia de la reserva y que puede modificar parte de sus elementos. De forma general, los trabajos realizados dentro de las reservas se enfocan a levantamientos de estado de biodiversidad y a comparar está dentro y fuera de la reserva. En los últimos años, se realizan aportes que recopilan el saber del agricultor y sus prácticas como contribución a la sostenibilidad del desarrollo agrícola. Sin embargo, pocas son las investigaciones relacionadas con los microorganismos que habitan en el suelo.

Dentro de los microorganismos se incluyen las bacterias, hongos, algas, protozoarios y virus (Salazar *et al.*, 2014). Particularmente los microorganismos del suelo, pueden ser utilizados como indicador del estado de los agroecosistemas, al reflejar los efectos de procesos agrícolas que afectan tanto su diversidad como la densidad poblacional (Ramírez *et al.*, 2013).

Este trabajo tuvo como objetivo determinar el comportamiento de distintos grupos de microorganismos del suelo en dos áreas pertenecientes a la zona de influencia de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario en aras de emitir alertas y recomendaciones en pos de un manejo más sostenible.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio se realizó en el mes de mayo del año 2015, en un área de influencia de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario, ubicada en la provincia de Artemisa, Cuba. Se muestrearon dos zonas pertenecientes a fincas emplazadas entre dos laderas: una con orientación hacia el norte y otra con orientación sur. Los puntos de muestreo se distribuyeron tal y como se ilustra en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Datos de las muestras tomadas en la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario.

Muestra	Orientación de la ladera	Cultivo presente
M1	Sur	Café ( <i>Coffea arabica</i> L.)
M2	Sur	Yuca ( <i>Manihot esculenta</i> Crantz.)
M3	Sur	Caña de azúcar ( <i>Saccharum officinarum</i> )
M4	Sur	Monte. Vegetación arbustiva.
M5	Norte	Plátano ( <i>Musa</i> spp)
M6	Norte	Café ( <i>Coffea arabica</i> L.)
M7	Norte	Monte en regeneración. Vegetación arbórea

Para cada muestra se determinó el contenido de materia orgánica, según la metodología descrita por Walkley y Black (1934).

La presencia de los grupos microbianos se cuantificó mediante su concentración, para lo que se utilizó el método de siembra directa en placas y conteo de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) en medios selectivos (Madigan *et al.*, 2012). Se tomaron 10 g de suelo y se disolvieron en 90 mL de agua destilada estéril, para posteriormente agitar hasta lograr la homogenización de la muestra. A partir de la solución resultante se realizaron diluciones sucesivas (1/10 v:v). Una alícuota (0,1 mL) de cada dilución se inoculó en diferentes medios de cultivo. Después de 48-96 horas de incubación a una temperatura entre 28-30° C, se contaron las colonias formadas en el medio agarizado (UFC).

En el caso de los medios Pikovskaya, Pikovskaya modificado y el de celulolíticos, solo se consideraron las colonias con características distintivas (halo transparente alrededor de la colonia, halo amarillo y decoloración del medio, respectivamente). En la Tabla 2 se relacionan los medios de cultivo utilizados y las diluciones empleadas para el conteo para cada grupo microbiano.

En ambas determinaciones (contenido de materia orgánica y concentración de microorganismos) se emplearon tres réplicas por cada punto de muestreo. Esta muestra de 100 g se constituyó a partir de sub-muestras tomadas en un área de 1 m<sup>2</sup> de suelo a una profundidad no mayor de 10 cm. Se utilizó el programa Microsoft Office Excel sobre Windows XP para la elaboración de los gráficos, los cálculos de las medias y desviación estándar de cada muestra.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

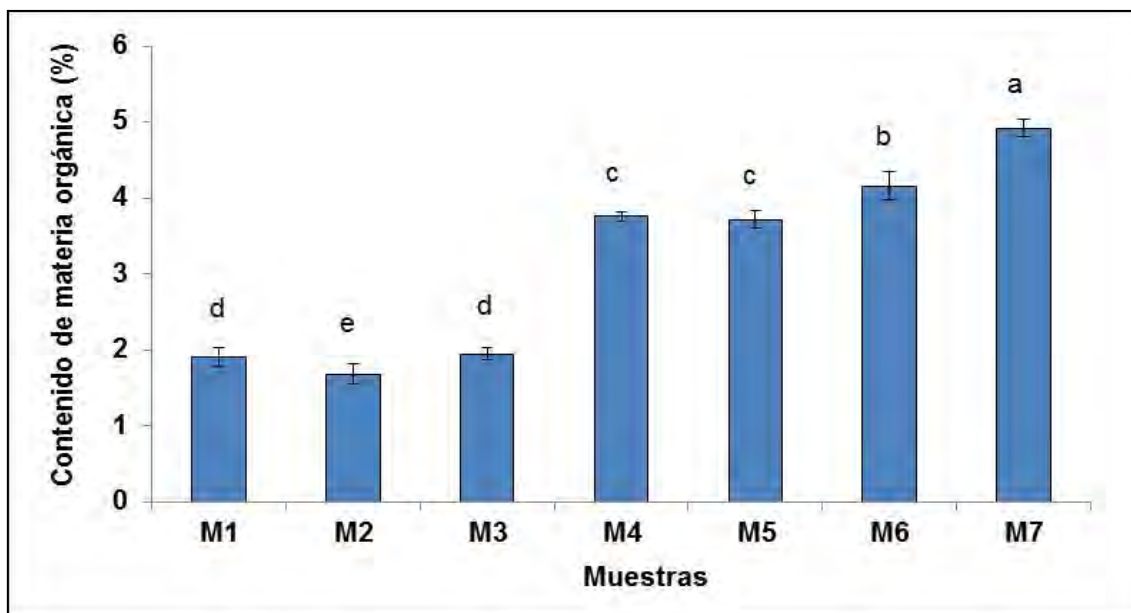
Los puntos de muestreo (muestras) evaluados durante la investigación presentan diferencias en sus características naturales y de manejo agronómico. Así, las muestras 1, 2, 3 y 4 pertenecientes a la ladera con orientación sur, que según la percepción del campesino recibe una mayor radiación solar lo que hace que disminuya el contenido de humedad en la zona. Por su parte, las muestras 5, 6 y 7, tomadas en la ladera con orientación norte, se destacan por tener una menor incidencia de radiación, y por lo tanto, mayor humedad. Estas condiciones climáticas favorecen el desarrollo de una vegetación particular en cada ladera, así como el establecimiento de diferentes estrategias para la producción agrícola, con predominio en la norte de la presencia de plantas arbustivas que permiten la acumulación de hojarasca, factor que puede haber

incidido en el mayor contenido de materia orgánica presente en estos tres puntos (Figura 1). Se observa que de las muestras de la ladera sur (M1, M2, M3 y M4) solo la número cuatro se asemeja en contenido de materia orgánica a las de la ladera norte. En este caso, se corresponde con un monte, zona que recibe poca perturbación por parte del hombre, por lo que a pesar de encontrarse en la zona opuesta, sus características son más semejantes a las de la ladera con orientación norte. Los resultados obtenidos en cuanto a contenido de materia orgánica sugieren que las condiciones

climáticas que favorecen la descomposición de la hojarasca, de conjunto con los cultivos que se seleccionen pueden favorecer este indicador. Por ejemplo, en las muestras 1 y 6 la especie vegetal predominante es el café; sin embargo, en la muestra 6 este se asocia con otras plantas arbustivas como el mamey, el plátano y la naranja, mientras que en el punto 1 se intercala con piña. La deposición de una mayor cantidad de hojarasca con condiciones adecuadas para su descomposición podría haber condicionado las diferencias en niveles de materia orgánica para ambas muestras.

**Tabla 2.** Medios de cultivo y diluciones utilizadas para determinar la concentración de diferentes grupos microbianos.

<b>Grupo microbiano</b>	<b>Medio de cultivo</b>	<b>Diluciones utilizadas para la cuantificación de los microorganismos</b>
<b>Microorganismos totales</b>	Agar Nutriente (BIOCEN, 2013)	10 <sup>-6</sup> y 10 <sup>-7</sup>
<b>Hongos</b>	Agar Extracto de Malta (BIOCEN, 2013)	10 <sup>-2</sup> y 10 <sup>-3</sup>
<b>Actinomicetos</b>	Medio de almidón (Herrera, 1985)	10 <sup>-2</sup> y 10 <sup>-3</sup>
<b>Fijadores de nitrógeno</b>	Asbhy sin nitrógeno (citado por Martínez <i>et al.</i> , 2006)	10 <sup>-2</sup> y 10 <sup>-3</sup>
<b>Solubilizadores de fósforo</b>	Pikovskaya (citado por Martínez <i>et al.</i> , 2006)	10 <sup>-2</sup> y 10 <sup>-3</sup>
<b>Solubilizadores de potasio</b>	Pikovskaya modificado (Velázquez y Ramos, 2015)	10 <sup>-2</sup> y 10 <sup>-3</sup>
<b>Celulolíticos</b>	Medio suplementado con carboximetilcelulosa (Herrera, 1985)	10 <sup>-2</sup> y 10 <sup>-3</sup>



**Figura 1.** Contenido de materia orgánica en muestras de suelo de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario (Esx: 0,0711; CV: 38,93%). Medias con letras distintas difieren significativamente para  $\alpha=0,05$ , según Prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

En la ladera con orientación sur las prácticas agrícolas de conjunto con los factores ambientales, producen un decremento de materia orgánica mucho más evidente si se comparan las muestras 1, 2 y 3 con la 4 (Figura 1). Este resultado indica que se deben realizar en esta zona prácticas agrícolas que favorezcan el incremento de materia orgánica, con el objetivo de que la agricultura armonice con la preservación del ecosistema edáfico.

La concentración de los diferentes grupos de microorganismos no presentó una relación directa con el contenido de materia orgánica. En puntos de muestreo como el 5 se observó un decremento significativo en la concentración de microorganismos totales y hongos, a pesar de encontrarse en la ladera con orientación norte y presentar altos niveles de materia orgánica. Por su parte, el resto de las muestras presenta valores muy similares para la concentración de

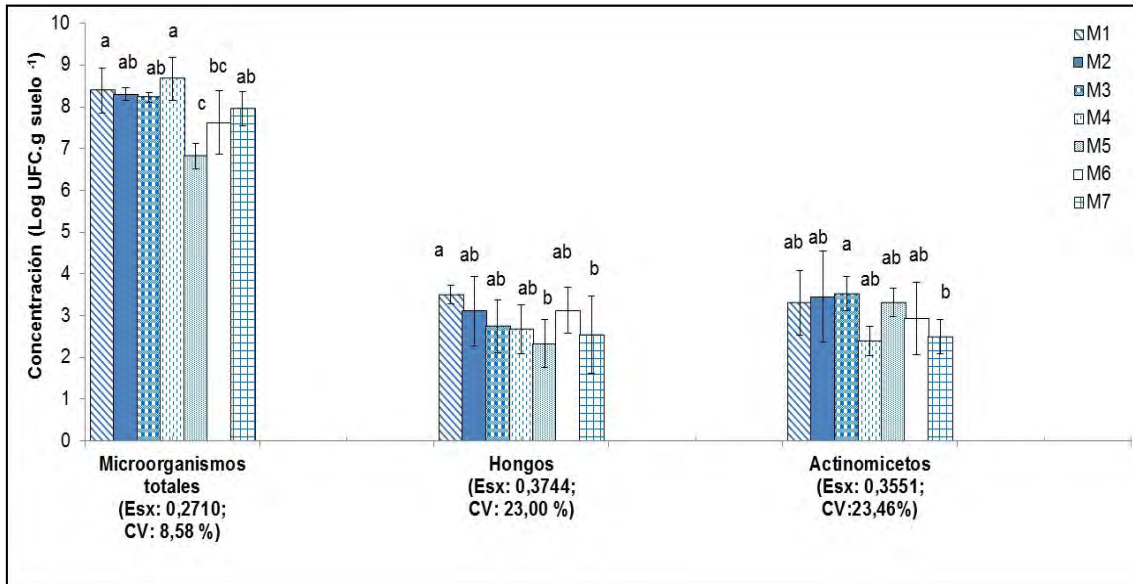
microorganismos totales, hongos y actinomicetos, independientemente de la ubicación, el cultivo presente y las cantidades de materia orgánica (Figura 2).

Se debe destacar que la muestra 5 se corresponde con una zona donde se realizó, aproximadamente un mes antes del estudio, la práctica de tumba y quema, la que sin lugar a dudas produce afectaciones a la microbiota del suelo aun cuando pueda favorecer los niveles de materia orgánica en los primeros 10 cm de suelo. Se observa que las otras afectaciones en cuanto a concentración de grupos generales de microorganismos se produjo en la muestra 7, ubicada cerca de la zona de tumba y quema, lo que indica que este tipo de prácticas podría perturbar no solo al lugar donde se realiza directamente, sino a sus alrededores.

La mayor afectación en el número total de microorganismos puede deberse a que en este

caso se cuantificaron mayormente bacterias, donde no todas las especies presentan estructuras de resistencia como las esporas y los quistes. Los hongos, por su parte, se destacan por sus posibilidades de reproducción tanto por esporas como por fragmentos de hifas y su gran versatilidad metabólica le permite adaptarse a

disímiles condiciones ambientales (Madigan *et al.*, 2012). Sería interesante replicar el estudio en el tiempo con el objetivo de valorar si el carácter local de estas prácticas agrícolas favorece la resiliencia a escala de paisaje y por lo tanto, la recuperación de las poblaciones microbianas afectadas.



**Figura 2.** Comportamiento de la concentración de grupos microbianos generales en muestras de suelo de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario. Medias con letras distintas difieren significativamente para  $\alpha=0,05$ , según Prueba de Rangos Múltiples de Duncan.

El otro grupo general evaluado durante la investigación fueron los actinomicetos, los que tampoco mostraron grandes variaciones entre las muestras. Estos microorganismos producen diferentes sustancias bioactivas y se destacan por la producción de antibióticos, que pueden ejercer un efecto de control sobre patógenos (Quiñones-Aguilar *et al.*, 2016). Son bacterias filamentosas que tienen importantes funciones como la descomposición de la materia orgánica, la degradación de compuestos recalcitrantes, la fijación de nitrógeno y la promoción del crecimiento vegetal (Salazar *et al.*, 2014).

Por otra parte, son microorganismos muy versátiles, que pueden utilizar gran cantidad de fuentes de carbono como por ejemplo azúcares, alcoholes, ácidos orgánicos, aminoácidos e incluso compuestos aromáticos. Además, son buenos productores de enzimas extracelulares que les permiten utilizar sustratos complejos como almidón, celulosa, lignina, entre otros. (Madigan *et al.*, 2012), lo que puede favorecer su presencia ante diferentes condiciones ambientales.

Las concentraciones de los grupos generales microbianos determinados en el estudio se encuentran dentro de los valores publicados por

otras investigaciones. Autores como Barton y Northup (2011) refieren un rango entre  $10^6$ - $10^8$  UFC.g suelo<sup>-1</sup> para las bacterias;  $10^5$  y  $10^6$  UFC-g suelo<sup>-1</sup> para actinomicetos y para los hongos de  $10^4$  y  $10^6$  UFC-g suelo<sup>-1</sup>, los que coinciden con los resultados que aquí se discuten.

La poca perturbación de la zona arbustiva no garantiza una alta población microbiana, pero puede que contribuya a una mayor diversidad de especies, aspecto que sería interesante valorar en otras investigaciones con el empleo, no solo de técnicas de microbiología clásica, sino de herramientas como la genómica y la metagenómica teniendo en cuenta el gran número de microorganismos no cultivables que existen en la naturaleza (Barton y Northup, 2011).

En los trabajos de Brown *et al.* (2011), se comenta sobre la influencia de las prácticas agrícolas en la diversidad de los organismos del suelo y dentro de ellos, de los microorganismos. Por su parte, en las investigaciones realizadas por Ramírez *et al.* (2013), no se encontraron diferencias en la concentración global de bacterias, hongos y actinomicetos, con valores similares a las obtenidas en el presente estudio, sin embargo, los índices de equidad, diversidad y riqueza microbiana dependieron del manejo agronómico realizado.

La disponibilidad de agua es uno de los factores que más influye en el establecimiento de los microorganismos en el suelo. Los suelos que más cambios en sus propiedades biológicas presentan son los encharcados, donde la disponibilidad de oxígeno se limita de manera considerable. El otro factor que más influye es el estado nutricional, el que se ve favorecido en capas ricas en materia orgánica, muchas veces no siendo el carbono el nutriente limitante, sino el nitrógeno y el fósforo (Madigan *et al.*, 2012), indicadores que sería útil

determinar en otros estudios teniendo en cuenta el comportamiento que mostraron los grupos microbianos específicos, los que en algunos casos solo fue posible cuantificar en un grupo de los puntos muestreados.

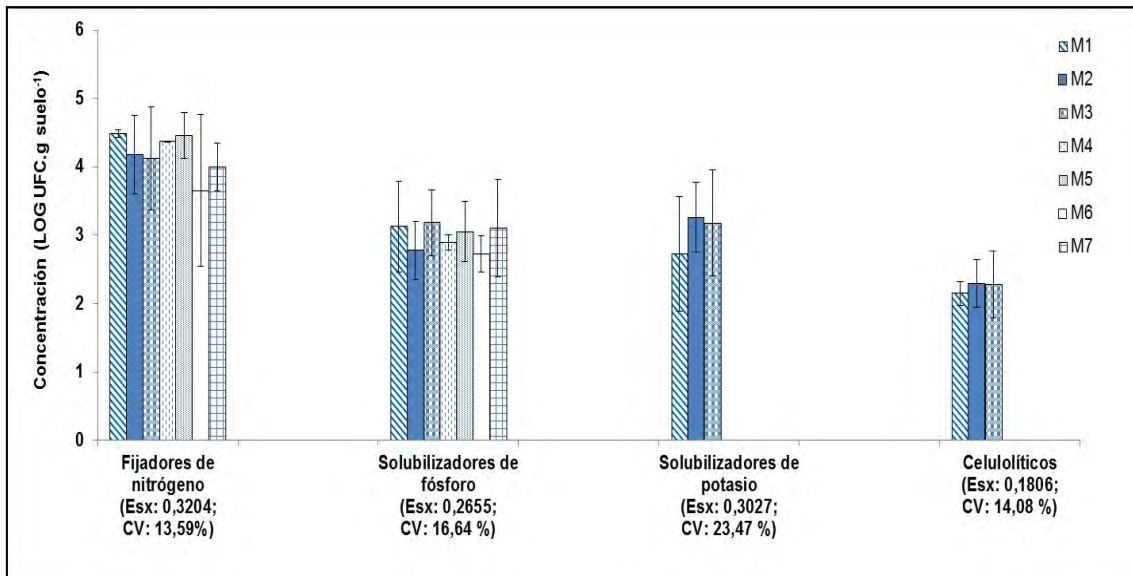
En la Figura 3 se puede apreciar que la concentración de los microorganismos fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fósforo no presentó diferencias significativas entre las muestras evaluadas. Sin embargo, los microorganismos solubilizadores de potasio y los celulolíticos no crecieron en las placas Petri donde se inocularon las muestras 4, 5, 6 y 7, correspondientes con las zonas arbustivas.

En este caso, parece que la explotación agrícola incrementa la disponibilidad de portadores de potasio que permiten la proliferación de microorganismos solubilizadores de este elemento. Igualmente sucedería en el caso de fuentes celulósicas de fácil degradación como residuos de cosecha o compost. Para el caso de la cubierta de hojarasca de los bosques al parecer aún no se encuentra lista para ser aprovechada por microorganismos mesófilos que puedan posteriormente cultivarse bajo condiciones de laboratorio a  $28 \pm 2^\circ\text{C}$  de temperatura.

Para los grupos específicos sería interesante conocer también si se desplaza la población microbiana hacia alguna especie en particular aunque no existan diferencias en la concentración general. Se reconoce la existencia en el suelo de un importante número de microorganismos solubilizadores donde se incluyen bacterias, hongos y actinomicetos (Velázquez y Ramos, 2015). La fijación de nitrógeno, por su parte, puede ser realizada por distintas especies de microorganismos procariontes (Madigan *et al.*, 2012).

El trabajo demostró que aunque el manejo agrícola se realiza en una zona con importantes valores naturales (protegida) debe velarse por mantener buenos niveles de materia orgánica y por realizar prácticas que minimicen su impacto sobre los microorganismos del suelo,

considerando las múltiples funciones que éstos cumplen y que dependen de su densidad poblacional como los ciclos biogeoquímicos, la estimulación del crecimiento vegetal (Madgan *et al.*, 2012) y el control sobre microorganismos patógenos (Ramírez *et al.*, 2013).



**Figura 3.** Comportamiento de la concentración de grupos microbianos específicos en muestras de suelo de la Reserva de la Biosfera Sierra del Rosario.

De forma general, se demostró que aun en estas regiones deben realizarse acciones que incrementen los contenidos de materia orgánica y minimicen las perturbaciones a los microorganismos del suelo.

### CONCLUSIONES

En zonas de influencia de la reserva de la biosfera existen diferencias entre los contenidos de materia orgánica y la concentración de diferentes grupos de microorganismos del suelo en dependencia de las prácticas agrícolas que en ella se realicen, lo que indica la necesidad de incorporar estrategias que permitan un menor impacto en la biodiversidad.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barton, L. y Northup, D.E. (2011): Microbial Ecology. Jon Wiley and SONS, INC. Publication. Wiley-Blackwell. Hobeken, New Jersey, Canadá, 407 pp. ISBN. 978-0-470-04817-7.
- BIOCEN (2013): Manual de Medios de Cultivo. La Habana. Centro Nacional de Biopreparados. BIOCEN. 80 p.
- Brown, G.G., Swift, M.J.; Bennack, D.E.; Bunning, S.; Montañez, A. y Brusaard, L. (2011): Manejo de la biodiversidad del suelo en los ecosistemas agrícolas. En: El manejo de la Biodiversidad en los sistemas agrícolas. D.I. Jarvis, C. Padoch y H.D. Cooper (Eds.), 234-282 pp. ISBN 978-92-9043-823-6.

- Herrera, A. (1985): Manual de Medios de Cultivo. Editorial Científico Técnica, La Habana. 87 p.
- Madigan, M., Martinco, J.; Stahl, D. y Clarck, D. (2012): Brock Biology of Microorganisms. Thirteenth Edition. 1155 pp. ISBN 13: 978-8-321-64963-8.
- Martínez, V. R.; López, M.; Brossard, F. M.; Tejeda, G. G.; Pereira, A. H.; Parra, Z. C.; Rodríguez, S. J. y Alba, A. (2006): Procedimientos para el estudio y fabricación de Biofertilizantes Bacterianos. Ed. INIA - Maracay. Venezuela, 88 pp. (Serie B No 11).
- Ramírez, J.G., Castañeda, D.A. y Morales, J.G. (2013): Diversidad microbial del suelo asociado a diferentes estrategias de manejo de *Phytophthora cinnamomi* Rands en aguacate. Rev. Ceres. Viçosa, 60 (6): 811-819.
- Salazar, A.M., Ordoñez, C.A.; Hernández, D.; Castaño, L.M.; Peña, K.; Rodríguez, J.R y Bueno, L. (2014): Actinomicetos aislados del suelo del Jardín botánico de la Universidad Tecnológica de Pereira. Scientia et Technica Año XIX, 19 (2). 223-229. ISSN 0122-1701.
- STATGRAPHICS *Plus* versión 5.0 (2000): Online Manual. [www.statgraphics.com](http://www.statgraphics.com).
- Quiñones-Aguilar, E.E., Evangelista, Z. y Rincón, G. (2016): Los actinomicetos y su aplicación biotecnológica. Elementos 101. 59-64. [www.elementos.buap.mx](http://www.elementos.buap.mx).
- Velázquez, A. y Ramos, M.P. (2015): Beneficios de los microorganismos solubilizadores de P y K en la recuperación y mantenimiento de los suelos agrícolas. Actas del VIII Congreso Mundial de La Plata 2015, 13-18 de septiembre, Lima, Perú, 495-499.
- Walkley, A y Black, I.A. (1934): An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of chromic acid titration method. Soil Sci., 37:29-38.

Fecha recibido: 25 de octubre de 2016.

Fecha aceptado: 15 de diciembre de 2016.

Agrotecnia de Cuba

ISSN impresa: 0568-3114

ISSN digital: 2414- 4673

<http://www.ausuc.co.cu>

