

Changes in the soil microbial variability by alteration of native forest

Juan Araya Silva

Universidad de Barcelona. Juan.araya@geomundo.cl

Rogers Atero Montes

Universidad de Santiago de Chile. Rogers.atero@usach.cl

Abstract. Present time, erosion is one of the main environmental problems in Chile, which depresses the soil capability for generating goods and services; besides breaking the synergic relationships between soil and its environment, creating alterations in the ecologic equilibrium of an ecosystem. These variations also alter the soil microbiota in eroded soils or in soils whose native vegetation has been replaced by alien vegetation. To get to know these alterations, a microbial analysis was carried out on the soils of the area of Alto Loica (district of San Pedro de Melipilla, in the Metropolitan Region); which proved a direct relation between the soil status and its bacteria communities. RNA S16 comparative analyses were carried out to on soil bacteria in the rizosphere of a native species: *Cryptocarya alba*, an alien tree representative of the area of Alto Loica (*eucalyptus cameldulensis*), and from eroded soil. Correlation coefficients close to one indicate a high rate of variability when the samples from the rizosphere of *Cryptocarya alba* are compared to analyses from samples coming from *Eucalyptus cameldulensis* and from eroded soils, which points out to the fact that the alteration of vegetation changes drastically the bacterial composition of soils. This represents an indicator reflecting the status of an ecosystem, and how adapted bacteria collaborate in the ecological cycles of the soil. These variations represent a source of future analyses where the bacteria compositions grouped in biological crusts may become a powerful tool to fend off erosion.

Keywords: bacteria, variability, soil, erosion, rizosphere.

1.- Problema

El suelo es un complejo biogeoquímico donde interaccionan compuestos orgánicos, inorgánicos y seres vivos, teniendo éstos últimos una función crucial en el desarrollo de las propiedades emergentes que condicionan las complejas y dinámicas redes ecológicas de un ecosistema, las cuales, se alteran significativamente ante perturbaciones antrópicas [1]. En el marco de estas perturbaciones, la erosión implica un serio problema medioambiental, económico y social que no solo causa degradación de tierras y disminución de la productividad, sino que impide el desarrollo sustentable,

particularmente en las zonas rurales [2]; y en el caso de los países miembros de la OCDE, más de un tercio de ellos presentan erosión hídrica en más del 20% de los suelos cultivables [3].

En Chile, la erosión constituye el problema medioambiental de mayor gravedad a nivel nacional [4], debido no solo a las consecuencias económicas, sino a las implicancias sociales que esto conlleva. Esto se debe básicamente a que los modelos de desarrollo en Chile así como en América Latina han sido modelos sostenibles

centrados en el paradigma del crecimiento económico que han contribuido a la degradación de vastas áreas boscosas así como la disminución progresiva de los recursos naturales. Respecto a esto último, la deforestación (por motivos de sobreutilización agrícola, incendios, pastoreo, etc.) presenta en muchos casos una connotación asociada a la pobreza rural.

La alteración de la capa vegetal no solo altera las condiciones ecológicas a nivel ecosistémico, también afecta tanto la biodiversidad como la densidad de las poblaciones microbianas [5] [6]. Las poblaciones tanto de bacterias como de protozoarios unicelulares forman un entramado biológico con la rizósfera arbórea estructurando redes ecológicas que son claves para los procesos llevados a cabo en el suelo. Por ello, la microbiota del suelo es un indicador que refleja el estado de un ecosistema, así como los efectos de las intervenciones antrópicas que se realizan en el suelo [7]. Producto de ello es necesario estimar las variaciones taxonómicas microbianas (procariontes y hongos) en los suelos forestales –aun con la dificultad de cultivar microorganismos del suelo en ambientes controlados [8]– cuando estos han sido alterados por erosión de origen antrópico o la introducción de especies vegetales exóticas.

El estudio se efectuó en la zona de Alto Loica en la subcuenta el Yali, cuyos suelos están formados por suelos de uso forestal y agrícola, los cuales, han sido intensamente utilizados en labores de pastoreo y tala rasa, especialmente de ejemplares arbustivos nativos. Esta deforestación se ha traducido en erosión generando alteraciones profundas en las condiciones del suelo que se traducen en cambios en las condiciones y propiedades del mismo.

En términos generales, la antropización del entorno debido a la necesidad del hombre de obtener bienes y servicios generó externalidades negativas que dio lugar a teleconexiones que se tradujeron en erosión y pérdida de suelos. Por ello, se hace necesario que la sociedad actual regule en forma eficiente y sustentable las variables ambientales que permitan al hombre restaurar los entornos degradados y adecuarse a los desafíos que plantea un entorno que cada vez más antropizado.

2.- Objetivo

El objetivo del trabajo es investigar la variabilidad taxonómica microbiana en suelos erosionados, haciendo un análisis comparativo en las poblaciones microbianas de la rizósfera de árboles nativos, y exóticos para establecer a su vez patrones de diferenciación en las microcomunidades edáficas con suelos erosionados en la zona semiárida de la zona central de Chile.

El resultado serán tablas comparativas de variabilidad taxonómica, dendogramas de géneros microbianos y gráficos adimensionales de NMDS tanto para hongos como para bacterias.

3.- Estado del Arte

Las bacterias edáficas –por su un rol fundamental– han sido utilizadas desde los estudios de Beckmann y Zobell en las décadas del 20 y 40 respectivamente en diversos ámbitos, desde el análisis de su potencial mineralizador de nutrientes hasta en estudios de biorremediación de suelos contaminados [9] debido a que han demostrado tener un potencial que puede ser utilizado en la recuperación de suelos afectados por incendios o erosión. Por ejemplo, las técnicas de eliminación de

contaminantes producidos en el suelo tras un incendio forestal, se basan en el uso de bacterias que degradan los compuestos tóxicos y facilitan el crecimiento de la vegetación; esto mediante la selección de bacterias capaces de degradar los compuestos resultantes tras un incendio [10]. Otro ejemplo lo constituye, la restauración de suelo en los sectores rurales de los municipios de Anorí, Cáceres, Taraza y Puerto Valdivia, en las estribaciones de la cordillera Central y el valle del río Cauca en Colombia. En dichos sectores, el gobierno colombiano usó por años el glisofato para la eliminación de las plantas de coca, como forma de combatir el narcotráfico. Sin embargo, este compuesto afectó severamente el medioambiente por lo que amplias hectáreas de suelo perdieron nutrientes y capacidad agrícola. Además, los químicos afectan severamente las poblaciones microbianas en los suelos [11]. Sin embargo, la aplicación de la bacteria *Bacillus subtilis* en cultivos con plantas de cacao, produce la generación de carbonatos de calcio fortaleciendo el suelo, permitiendo mejorar la fertilidad, la aireación, infiltración de agua y nutrientes reduciendo la presencia de aluminio y mejorando con ello las condiciones del suelo [12]. En síntesis, la bacteria calcificante, estabiliza la estructura del suelo propiciando el crecimiento de otras plantas y mejorando con ello la fertilidad. Esto además genera una retroalimentación en el suelo, debido a que la presencia y aumento de elementos orgánicos contribuye significativamente al aumento del metabolismo microbiano en el suelo¹; pudiendo a su vez contribuir a acelerar el proceso de acumulación de materia orgánica [13].

En forma análoga, las costras biológicas del suelo (CBS), las cuales están constituidas por una asociación entre partículas de suelo,

cianobacterias, algas, hongos, líquenes y briófitos [14], han demostrado una alta eficiencia para biorremediar el suelo afectado por metales pesados. Podrían por tanto, utilizarse para recuperar suelos erosionados generando con ello una nueva línea de investigación que conlleve a la aplicación de revolucionarias técnicas que permitan restaurar suelos erosionados, logrando recuperar su potencial para generar bienes y servicios, además de recuperar las condiciones ecológicas del medio ambiente. Esto implica un enorme potencial aún por descubrir debido a que los suelos presentan una inmensa diversidad poco explorada asociada al carácter no cultivable de una gran cantidad de microorganismos, ya que solo entre el 0,1 a 10% de las bacterias son cultivables [15]. El rol de las bacterias en los suelos y su variabilidad poblacional han sido estudiados en los suelos del sur de Chile al producirse alteraciones en la cantidad y composición de la materia orgánica, con el fin de analizar la microbiota microbiana en futuros escenarios de sucesión ecológica ante eventos como alteraciones ecosistémicas o cambio climático [16].

En síntesis, desde los años 40 la microbiología ambiental, ha demostrado tener las herramientas de carácter no invasivas para el uso de microorganismos en la restauración de suelos degradados tanto para derrames de crudos como para la eliminación (o inmovilización) de sustancias químicas. Por ello, es importante potenciar técnicas como la bioaumentación y bioestimulación para la recuperación de suelos cada vez mas sometidos a los pasivos de la industrialización

4.- Método

Sitio de estudio

El área de estudio está en la localidad de Alto Loica en la hoya del Estero Yali, en el

¹ Iden cita [7]

extremo S–W de la Región Metropolitana, en el extremo sur de la comuna de San Pedro, de la zona central de Chile, entre los paralelos 33° 46' y 34° 04' Latitud Sur y los entre los meridianos 71° 12' y 71° 42' Longitud Oeste, a 38 Km. de distancia directa del Pacífico y a 120 Km. de Santiago. El sector se encuentra en la zona semiárida del secano costero interior de la zona central de Chile en la cuenca del río Maipo en el límite con la region de Ohiggins en la comuna de Melipilla [17].

Toma de muestras

Se obtienen muestras compuestas de la rizósfera de dos árboles (*Cryptocarya alba* y *Eucaliptus cameldulensis*) y cinco muestras de suelo erosionado. Se cava a una distancia de 10 cm del tronco hasta una profundidad de 10 cm, esto porque la gran mayoría de las bacterias se encuentran en los primeros 10 centímetros del suelo [18].

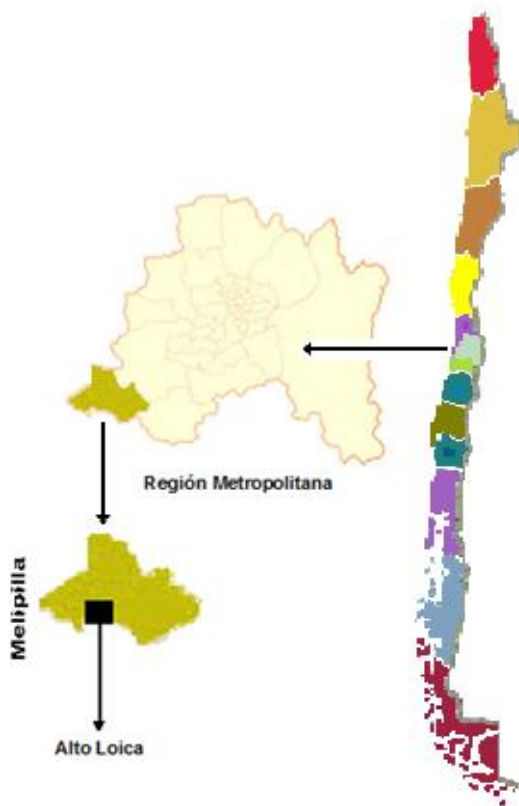


Figura 1. Localización de la zona de trabajo

Tabla 1. Características físico químicas del suelo empleado en el análisis microbiológico

Parámetro	Medida
Cap. Interc. catiónico	50,38 cmol+/Kg
Conductividad eléctrica	1,10 mS/cm
pH	6,20
C total	38,63 %
P disponible	56 ppm
N disponible	26 ppm
K disponible	540 ppm
Ca disponible	10,54 cmol/kg
Materia orgánica	32,89 %
Textura	Franco arenosa

Este proceso se repite alrededor del tronco para extraer en total cinco muestras a una distancia de 72° una de otra. Estos pasos se repiten con el siguiente árbol y posteriormente se obtienen 5 muestras de suelo erosionado. Lo anterior, con el fin de obtener un patrón de comparación.

Análisis microbiológico de las muestras

Las muestras de suelo se almacenan a 2 °C; y se homogenizan manualmente una por una y de cada muestra se sacan 10 gramos de suelo para efectuar los análisis. Para la extracción de los microorganismos se utiliza la metodología propuesta por Molano [19]. A 10 gramos de suelo de cada muestra se le agregan 90 ml de agua peptonada al 0,1 % en relación de 1:10, posteriormente se deja en reposo por 15 minutos realizándose diluciones de 1:10 iniciándose desde 10⁻¹ hasta 10⁻⁷ en tubos con 9 ml de agua peptonada al 0,1 %. En la última dilución (de todas las muestras) se obtienen 2 ml y se cultivan en un medio líquido (caldo de cultivo), obteniendo 15 cultivos rotulando cada uno de ellos. La extracción de ADN consta de una etapa de lisis, que consiste en romper las estructuras que confinan el citoplasma y liberar al medio su contenido y otra de purificación, que implica la retirada de la solución final de la

mayoría de elementos que pueden interferir en la PCR. Los pasos de la extracción del ADN son básicamente los siguientes: (a) lisis de la célula, (b) degradación de las proteínas que están asociadas al ADN y (c) purificación.

El PCR es una excelente herramienta de biología molecular para la discriminación de especies [20]. “PCR son las siglas en inglés de *Polymerase Chain Reaction* o Reacción en Cadena de la Polimerasa. La idea básica de la técnica es sintetizar muchas veces un pedazo o fragmento de ADN utilizando una polimerasa que puede trabajar a temperaturas muy elevadas. Cuando se hace una reacción de PCR se simula lo que sucede en una célula cuando se sintetiza el ADN y en el tubo se mezclan todos los ingredientes necesarios para hacerlo: la polimerasa, el ADN del organismo que se quiere estudiar –donde se encuentra el fragmento que se va a sintetizar–, los oligonucleótidos (llamados también *primers*, iniciadores, cebadores, “oligos”, etc.) necesarios para que se inicie la transcripción, di nucleótidos (dNTPs), y las condiciones para que la enzima trabaje adecuadamente”

Posterior al descongelamiento de las muestras se desnaturalizan a 95°C, luego de 30 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 30 segundos se conservan en tubos a 4 °C con un cebador para ARN 16S. Finalmente se purifica el PCR

La aplicación de la técnica del PCR permite establecer claramente diferencias genéticas entre una familia y otra por la diferenciación genética, la cual puede establecerse posteriormente mediante la aplicación de un RFLP. Los resultados del PCR se analizan posteriormente con el software PRIMER, estableciendo diferencias, cuantificando diferencias y pruebas estadísticas de diferenciación.

5.- Resultados

Bacterias

Las muestras de suelo tomadas de la zona de la rizósfera de peumo, eucaliptus y de suelo desnudo (erosionado), establecen que existe una selectividad en las poblaciones bacterianas que habitan en las raíces de estos árboles. Esto significa que las comunidades bacterianas existentes en las raíces de los eucaliptus son absolutamente distintas a las comunidades bacterianas existentes en la rizósfera de los peumos.

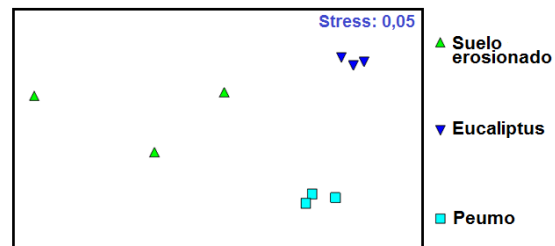


Figura 2. NMDS de bacterias.

Las comunidades bacterianas exhiben gran similitud cuando crecen en el mismo medio, sin embargo, son absolutamente diferentes cuando el medio de crecimiento es distinto. La figura 2, muestra que en el caso las comunidades bacterianas que crecen en la rizósfera de los eucaliptus, peumos y suelo desnudo (erosionado) son absolutamente diferentes.

Además, el metabolismo de ambos árboles difiere en muchos aspectos. En primer lugar el eucaliptus absorbe mayor cantidad de agua y presenta una evapotranspiración mayor que cualquier árbol nativo [21]. Esto implica que las condiciones ecosistémicas a nivel radicular cambian ampliamente de una especie a otra.

Otro aspecto diferenciador lo constituyen las comunidades bacterianas existentes en el suelo desnudo (o erosionado). Las comunidades que se localizan en el suelo erosionado difieren de las comunidades que

se localizan en las raíces de los arboles; esto debido a que ciertas especies son más dependientes a ciertas condiciones ecológicas existentes en la rizósfera de los árboles. Se deduce por lo tanto que las poblaciones existentes en los suelos erosionados son comunidades más resistentes a condiciones de baja disponibilidad de nutrientes.

Tabla 2. Test global para bacterias

Aspecto	Valor
Prueba estadística ("R" global)	0,835
Nivel de significancia de la prueba estadística	0,4 %
Numero de permutaciones	280
Numero de permutaciones estadísticas más grandes que o equivalentes al global R: 0	1

Tabla 3. Test de relación para bacterias

Grupos ²	R Estadístico	Nivel de significancia
Se / Eu	0,815	10
Se / Pm	0,778	10
Eu / Pm	1,000	10

Las tablas 2 y 3 indican el nivel de relación entre los distintos tipos de comunidades bacterianas existentes en los suelos de Alto Loica. La tabla relaciona las comunidades que se localizan en el suelo con peumo, con eucaliptus y suelo desnudo. El "R estadístico" relaciona la similitud entre los grupos encontrándose una mayor diferenciación entre las especies localizadas en la rizósfera del peumo y eucaliptus que cualquiera de estos con el suelo desnudo.

² Eu : Eucaliptus
Se : Suelo erosionado
Pm: Peumo

La Figura 3 indica el grado de variabilidad genómica existente entre las comunidades bacterianas de los suelos de Alto Loica. Las muestras que tienen un punto en común corresponden a comunidades bacterianas similares; lo que se establece mediante la similitud entre las secuencias nucleotídicas de los ARNr 16S. Las 9 muestras presentan una alta diversidad, lo cual se visualiza en la bifurcación del árbol dendrográfico.

El análisis de las comunidades bacterianas identificó 548 genes de ARNr 16S, sin embargo solo 54 genes resultaron significativos para análisis. Tal como se indica en el dendograma, los genes presentan secuencias nucleotídicas que son comunes y ciertos segmentos que presentan secuencias diferenciadoras, las cuales, establecen la diferencia entre una especie bacteriana y otra al momento de comparar estos segmentos con los bancos o bibliotecas genómicas dispuestas para estos ensayos.

Este hecho es clave para determinar la mayor o menor abundancia de ciertas comunidades, lo cual, puede establecerse por el aporte de ciertos segmentos en relación al total. En el estudio, las especies se connotan con el gen asociado a un correlativo.

Cabe consignar que en los 3 ambientes distintos (suelo desnudo, con eucaliptus y con peumo) hay un segmento que es común y que es el que aporta con un peso mayor al promedio de abundancia. La tabla 4 consigna que la especie 92³ es común a todos los ambientes por lo que se infiere que presenta la capacidad de adaptarse a todos los exudados y a ambientes con una baja disponibilidad de agua y nutrientes.

³ Tal como se indicó, el numero corresponde solo al número de la muestra (en este caso una secuencia) y por lo tanto indica una especie bacteriana.

Tabla 4. Porcentajes de similaridad y contribución de cada especie en suelo erosionado

Especie	Similaridad Sd	Contribución (%)
92	3.33	43.54
100	7.46	10.02
152	5.77	9.52
55	2.01	8.09
161	7.42	6.81
146	6.91	6.33
153	0,58	2.46
503	0.58	2.33
155	0.58	2.23

Sin embargo, cabe considerar que independiente de la abundancia el elemento a considerar es la riqueza. Tanto en suelo erosionado como en suelo con eucaliptus, esta especie aporta con un valor superior al 60% de abundancia y su aporte es sobre el 50% en el suelo de Peumo. Además, la riqueza es menor en el suelo erosionado y mayor (casi similar) en los otros 2 casos.

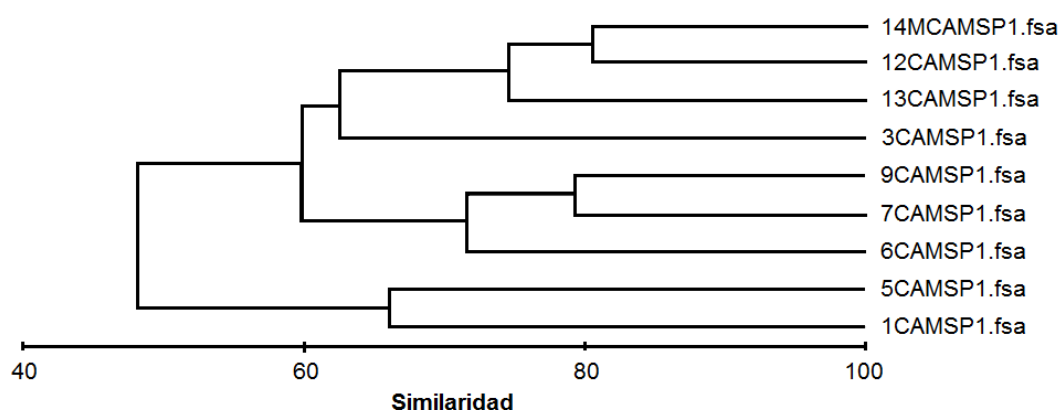


Figura 3. Dendrograma de las comunidades microbianas de los suelos de Alto Loica.

Hongos

A diferencia del análisis anterior relativo a las bacterias, en el caso de los hongos las 15 muestras resultaron ser significativas encontrando muestras de ARN 16S en condiciones de ser analizadas. De esta forma, se detectan 161 genes o muestras viables de ser consideradas en el estudio.

Aunque los hongos están limitados debido a su dependencia de humedad y materia orgánica asociada a su metabolismo [21], estos muestran una gran variabilidad en suelos forestales. El análisis demostró que – al igual que en bacterias– la variabilidad a nivel de comunidades que habitan en la rizósfera de los árboles difieren cuando se trata de diferentes especies arbóreas. Este

hecho se explica por la selectividad originada por la diversidad química de los exudados radiculares, los cuales, determinan y seleccionan comunidades de microorganismos adaptables a un medio determinado.

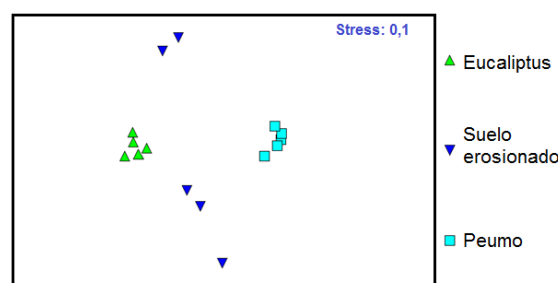


Figura 4. NMDS de hongos

Para el caso en estudio, la figura 4 muestra que en el suelo de peumo, las comunidades bacterianas son absolutamente distintas a las comunidades encontradas en el suelo con eucaliptus y en suelo erosionado. A nivel de hongos, la diferencia cuantitativa a nivel de comunidades es similar a las diferencias encontradas a nivel bacteriano. Esto significa que al igual que las bacterias, también los hongos sufren un proceso de selectividad al crecer y multiplicarse en medios radiculares distintos, lo cual, confirma el hecho que los ambientes radiculares de especies arbóreas diferentes, forman medios metabólicamente distintos que afectan no solo a las bacterias sino también a los hongos.

Otro elemento a considerar es el hecho que los microorganismos son limitados por los elementos químicos del suelo, sea como sustancias necesarias para su metabolismo o como limitantes del crecimiento.

Al igual que en las bacterias, el NMDS muestra dos aspectos básicos:

a) Existe una alta variabilidad cuantitativamente significativa entre los hongos existentes en la rizósfera de peumos y eucaliptus, lo cual, conlleva a que los exudados radiculares no solo generan una selectividad de las poblaciones microbianas, sino también, seleccionan las comunidades de hongos existentes en dicho lugar. Aunque poseen una alta tasa metabólica y un alto potencial mineralizador [22], la composición química de las secreciones radiculares produce un microecosistema que altera las comunidades fúngicas, seleccionando aquellas capaces de adaptarse a determinadas condiciones químicas del entorno radicular.

b) Se observa una mayor biodiversidad y menor selección de comunidades en los hongos que habitan el suelo erosionado. Estos hongos a su vez son más similares con los que habitan en los suelos con peumo

y eucaliptus. Esta característica puede explicarse por el hecho que la falta de capa vegetal en los suelos erosionados genera una menor selección de comunidades edáficas, y presenta una mayor homogeneidad por no estar afectada por los exudados radiculares de las especies arbóreas mencionadas; aunque, su número puede ser relativamente menor por el hecho de estar sometidos a la falta de nutrientes orgánicos y disminución de agua debido a la baja retención de esta por la eliminación de la capa vegetal

Las comunidades de hongos que crecen en suelos con peumo y eucaliptus presentan una gran variabilidad entre si, en cambio, su variabilidad disminuye con las poblaciones que se encuentran en los suelos erosionados.

En la figura 4 puede observarse la alta diferenciación de las comunidades de hongos existentes en las rizósferas de peumos y eucaliptus. Aunque no se determinaron especies de hongos específicas para cada caso, la variabilidad de las especies que crecen en el suelo con peumos es absolutamente distinta a las comunidades de hongos existentes en los suelos con eucaliptus.

Sin embargo, en los suelos erosionados (con azul) puede observarse una mayor diversidad entre si y mucho más cercanas a los otros dos anteriores. En esto se presume que las comunidades de hongos tienden a ser homogéneas en el suelo, pero incide directamente el lugar y especie arbórea específica que da el hábitat a las comunidades fúngicas.

Tabla 5. Test global para hongos

Aspecto	Valor
Prueba estadística ("R" global)	0,737
Nivel de significancia de la prueba estadística	0,1 %
Numero de permutaciones	999
Numero de permutaciones estadísticas más grandes que o equivalentes al global R: 0	0

Tabla 6. Test de relación para hongos

Grupos	R Estadístico	Nivel de significancia
Eu / Se	0,50	0,8
Eu / Pm	1,00	0,8
Se / Pm	0,64	0,8

En la tablas 5 y 6, el "R estadístico" obtenido para el análisis de la biodiversidad comunitaria fúngica en los suelos, muestra una relación significativa entre las especies seleccionadas en diversos ambientes.

Al comparar las comunidades existentes en suelos erosionados y suelos con eucaliptus, el valor para el "R estadístico" es de 0,50; lo cual implica que la diferenciación no es altamente significativa, e indica que ciertas especies de hongos son comunes en estos dos ambientes mientras que otros claramente seleccionados no aparecen en los suelos que han perdido la capa vegetal. De esta misma forma al comparar cuantitativamente las comunidades de suelos erosionados; pero esta vez con hongos provenientes de suelos con peumo; el valor cambia a 0,64, lo cual es un claro indicador

que la diferenciación entre dos medios es mucho mayor y menor el grado de similitud entre estos dos medios. Claramente, esto significa que las comunidades de hongos encontrados en los suelos erosionados tienen similitud con los hongos encontrados en suelos con peumos y eucaliptus. La similitud puede deberse a compartir un suelo con aspectos similares y la diferencia en este caso estaría dada por la falta de agua y nutrientes en los suelos erosionados, lo cual haría cambiar la similitud de comunidad de hongos en estos medios.

Sin embargo, el análisis de las comunidades encontradas en suelos con peumo y eucaliptus indica una diferenciación altamente significativa cuyo valor alcanza el máximo (1). Este valor indica que las comunidades de ambos sitios son absolutamente distintas, lo cual, implica que la selectividad de la rizósfera de ambos medios actúa alterando las comunidades de hongos seleccionando aquellos que son más aptos o se adecuan a las condiciones químicas de los exudados radiculares.

La diferenciación encontrada en los medios de distintos arboles –en este caso un árbol nativo y un árbol exótico– claramente establecen diferencias significativas a nivel radicular que son apreciables tanto en hongos como en bacterias, lo cual, significa que gran parte de los microorganismos del suelo son afectados y seleccionados por los exudados radiculares, lo que genera diferencias microbiológicas en los suelos forestales con una gran biodiversidad arbórea.

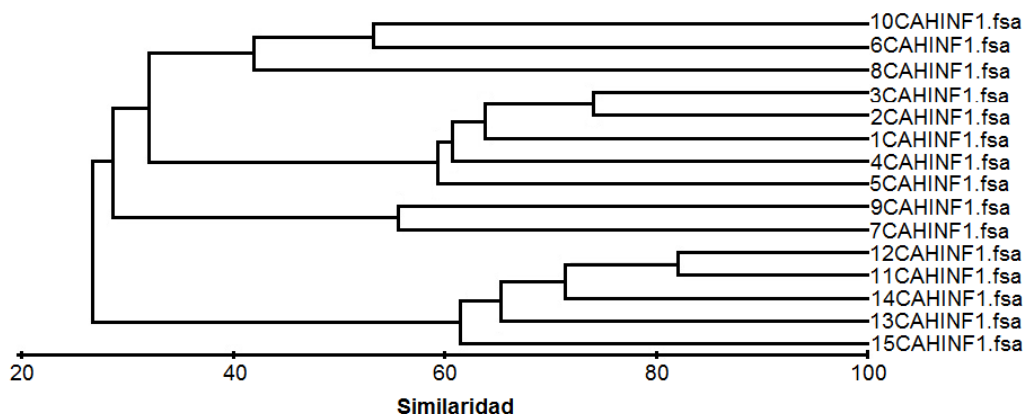


Figura 5. Dendrograma de las comunidades de hongos de Alto Loica

La figura 5 indica el grado de variabilidad genómica existente entre las comunidades de hongos de los suelos de Alto Loica. Al igual que en las bacterias, la variabilidad está determinada por la presencia de diversos genes diferenciados por segmentos que contienen secuencias nucleotídicas específicas en los genes de ARN 16S. Las 15 muestras presentan una alta diversidad, lo cual se visualiza en la bifurcación del árbol dendrográfico que a su vez presenta mayores ramificaciones que el dendrograma bacteriano.

El análisis hecho en el dendrograma otorga una perspectiva acerca de la variabilidad genética de las comunidades encontradas; la gran variabilidad y segmentación encontradas en las 15 muestras (en las cuales casi todas en el dendrograma tienen diferencias nodales), indica el gran nivel de diferenciación a nivel del ARN 16S lo cual es un indicador de las diferencias a nivel de especies que es posible encontrar en los suelos de Alto Loica.

Por otra parte en los suelos con eucaliptus se observa que solo una especie contribuye con un 25 % a la biodiversidad total y a diferencia de las bacterias, es posible encontrar un mayor número de especies, siendo una (en este caso la 98) la que se presenta con mayor claridad. Otro aspecto a considerar es que esta misma especie es

la que aporta con una mayor contribución en suelo erosionado lo que claramente indica que es la especie más abundante en los suelos forestales de las microcuencas en estudio. En este último caso, esta especie aporta más del 62 % del total en este suelo por lo que se infiere que este aumento se explica por el hecho que esta especie es más abundante en suelos erosionados por no estar sometida a la selectividad que se encuentra en la rizósfera de los eucaliptus.

En los suelos con peumos los análisis indicaron la existencia de una menor cantidad de especies y por ende una mayor selectividad por parte de la rizósfera del peumo con los hongos, ya que, se encontraron solo 6 especies y ninguna de ellas alcanza un aporte del 50%, cosa que no ocurre en los casos anteriores. Esto tipifica el hecho que la selectividad del peumo (al menos con los hongos) es mayor debido al hecho que hay menos especies y la más abundante no logra llegar a los aportes que sí se encuentran en los suelos mencionados anteriormente.

Tabla 7. Test de relación global para bacterias y hongos

Grupos	"R" Estadístico	
	Bacterias	Hongos
Eu / Se	0,815	0,50
Pm / Se	0,778	0,64
Eu / Pm	1,000	1,00

Finalmente, la tabla 7 indica que los hongos presentan una mayor resistencia al cambio de variabilidad cuando el suelo es erosionado, sin embargo, tanto para bacterias como hongos, sufren un cambio de máxima amplitud cuando el bosque nativo es reemplazado por vegetación exótica. Este factor debe ser considerado para futuros planes de restauración vegetal, además de ser un factor determinante para el estudio de sucesiones vegetacionales.

6.- Conclusiones Generales

Los árboles liberan a través de sus raíces, exudados de composición química variada, los cuales cumplen una función importante en los ciclos naturales que se llevan a cabo en la rizósfera y en los suelos en general. Estos exudados son utilizados por las bacterias y hongos como elementos nutritivos para su desarrollo y multiplicación, lo cual, produce importantes crecimientos bacterianos a nivel radicular generando un aumento considerable de la biomasa del suelo del orden de los 10^3 a 10^4 kg de masa microbiana por hectárea [23].

Esta selección puede explicarse del hecho que estos árboles tienen elementos claramente diferenciadores. En primer lugar, el eucalipto es un árbol exótico, mientras que el peumo es un árbol nativo; esto significa que el peumo ha evolucionado durante miles de años adaptándose a las distintas variables existentes en la zona, lo cual, ha conllevado a una evolución paralela de las especies microbianas existentes en los suelos. Una de los elementos claves

para la adaptación bacteriana, han sido los exudados radiculares liberados por este árbol. Esto permite inferir que estos [exudados], difieren ampliamente de los exudados radiculares del eucalipto, ya que, este último pertenece a un suelo con pH inferior a 6.

La correlación existente entre las comunidades de diferentes especies arbóreas queda de manifiesto con el "R estadístico". Al relacionar las comunidades de suelo desnudo y peumo, se observa que estas [comunidades] presentan un alto grado de diferenciación, al igual que el suelo desnudo asociado con eucalipto, lo cual indica que algunas de las bacterias coexisten en ambos medios, estableciendo la diferencia aquellos microorganismos que poseen un alto grado de tolerancia a la baja disponibilidad de nutrientes y humedad. En cambio, al relacionar las comunidades existentes en suelo con peumo y con eucalipto, este factor toma un valor de 1, lo cual indica una diferenciación máxima entre las dos comunidades microbianas. Esto clarifica lo expresado en el NMDS bacteriano: las comunidades bacterianas de suelos con árboles exóticos y nativos presentan un grado de variabilidad y selectividad mayor que las comunidades bacterianas existentes en suelo erosionado, ya que estas, solo se han diferenciado por su capacidad de tolerancia a condiciones adversas, mientras que las otras (peumo y eucalipto) han sido sometidas a un proceso de selección propia de la diferenciación metabólica existente a nivel radicular expresada en la diferenciación química de sus exudados.

Lo último puede atribuirse a la disminución de recursos, debido a la falta de nutrientes orgánicos y exudados por la ausencia de individuos vegetales. La abundancia de microorganismos en los medios radiculares es esencial para la mineralización de

sustancias orgánicas y para los ciclos biogeoquímicos. Por ello, una mayor riqueza y abundancia constituyen dos elementos fundamentales para los ciclos bacterianos, entre los que destacan la acción de los protistas sobre las comunidades bacterianas contribuyendo al ciclo ecológico de la rizósfera. Esto significa que la rizósfera es una compleja fuente, que varía química y morfológicamente en interacción con la microbiota del suelo, encargada de la mineralización de la materia orgánica [24], estimulando a su vez, el crecimiento de las plantas [25]. En síntesis –y aunque invisibles– los microbios del suelo son esenciales para los ecosistemas por su participación en procesos tales como los ciclos de carbono y de otros nutrientes [26].

Los microorganismos del suelo forman parte de comunidades complejas y dinámicas conformadas por numerosas especies. Para comprender su función en sus nichos específicos, es esencial identificar y cuantificar cada uno de los miembros que conforman estas comunidades. Es posible caracterizar la diversidad no cultivable presente en diferentes ambientes por medio del análisis del metagenoma bacteriano. La información generada permitirá comprender la función de las comunidades bacterianas en los ciclos biogeoquímicos que mantienen a la biosfera, y establecer cómo la actividad humana local y global puede alterar la diversidad microbiana. Contar con una descripción más completa de la diversidad, hace posible conocer los mecanismos bioquímicos y fisiológicos desarrollados por Eubacterias y Archaeas, que permiten su desarrollo en los ambientes extremos del planeta. El análisis de la diversidad genética y metabólica del metagenoma bacteriano de muestras de suelo ha permitido extraer y explotar su diversidad metabólica, incluyendo la de aquellos microorganismos considerados cultivables, y de aquellos aún no descubiertos. Esta metodología permitirá

identificar actividades bacterianas novedosas con aplicaciones biotecnológicas potenciales.

Las CBS sin embargo, no se distribuyen de manera uniforme y son vulnerables a los cambios como por ejemplo incendios y cambio de uso de suelo demorando décadas en regenerarse [25]. Aun así, su presencia favorece la germinación de semillas, entre otros bioprocesos. La costra biológica del suelo (CBS) es un componente complejo del ecosistema, que engloba diferentes organismos presentes en las primeras capas de suelo siendo abundante donde la cobertura de plantas vasculares es escasa, como por ejemplo en los ecosistemas áridos y semiáridos donde la CBS tienen un mayor desarrollo y puede contribuir notablemente en términos de cobertura [27].

Las CBS crecen en suelos desnudos y pueden contribuir significativamente a estabilizar el suelo y disminuir la erosión reduciendo la energía erosiva de la escorrentía superficial y disminuyendo el impacto de la gota de lluvia. Por tanto, la complementación de esta técnica con las obras hidrológicas–forestales, puede llevar al aumento de la cobertura, además de potenciar el crecimiento de las herbáceas, aplicando las técnicas microbiológicas como las CBS.

Estas además, establecen zonas seguras donde las condiciones de humedad y nutrientes son favorables para la germinación de semillas. No obstante el efecto positivo, las CBS no reaccionan igual según el tipo de plantas, por ello es importante combinar adecuadamente esta técnica con un procedimiento correcto de reforestación [28]. Respecto a esto último, la fertilidad del suelo mejora notablemente con la implementación de CBS debido a que ciertas bacterias participan en el ciclo del nitrógeno contribuyendo al reservorio de

nutrientes del suelo. La cantidad de nitrógeno fijado por las CBS puede fluctuar alrededor de los 100 Kg/ha/año y en el caso del carbono, el parte puede ser entre 6 a 350 Kg/ha/año. Esto representa un enorme potencial de abastecimiento de sustancias orgánicas, sobretodo en suelos erosionados⁴.

Las CBS representan un enorme potencial para la recuperación de suelos, aunque, aún falta por descubrir, ya que, aún existe falta de información respecto a su influencia en los ciclos biogeoquímicos del fosforo; de la misma forma, aún falta mucho por descubrir respecto a su interacción con las plantas vasculares. Debido a que la mayor parte de los estudios se han efectuado en estados Unidos, Israel y China, aún faltan estudios sobre ello en Latinoamérica; representando una futura fuente de estudios en los suelos áridos y semiáridos de Chile⁵. Debido a que la CBS incrementa la infiltración y el contenido de humedad en los suelos, disminuyendo la escorrentía, las CBS se convierten en un poderoso aliado para combatir la erosión y promover los parches de fertilidad en zonas atacados por cárcavas [29]. De esta forma, mitigan la degradación de los suelos y tienen un efecto biofertilizante natural [30].

Sin embargo, las CBS están limitadas por elementos exógenos como por ejemplo, acción humana, pisoteo de ganado etc., lo cual puede disminuir sus mecanismos de acción, ya que, en condiciones naturales y sometidas en extremo a estas variables, la CBS no incide en un aumento de la infiltración [31]. Esto implica que aún faltan más estudios, lo que representa un enorme potencial a futuro, debido a que no solo pueden restaurarse zonas degradadas antrópicamente, sino, recuperar zonas

desérticas que generen bienes y servicios y que eventualmente impliquen asentamientos humanos transformando en habitables lugares antes deshabitados.

Referencias

- [1] Erika Michelotti, Jeffrey Whicker, William Eisele, David Breshears & Thomas Kirchner. "Modeling aeolian transport of soil-bound plutonium: considering infrequent but normal environmental disturbances is critical in estimating future dose". *Journal of Environmental Radioactivity*. 120: 73 – 80. 2013. ISSN 0265-931X
- [2] Bin Wang, Fenli Zheng, Mathias Römkens & Frédéric Darboux. "Soil erodibility for water erosion: A perspective and Chinese experiences". *Geomorphology*. 187: 1–10, 2013. ISSN: 0169-555X
- [3] Volker Prasuhn, Hanspeter Liniger, Simon Gisler, Karl Herweg, Anton Candinas & Jean-Pierre Clément. "A high-resolution soil erosion risk map of Switzerland as strategic policy support system". *Land Use Policy*. 32: 281 – 291, 2013. ISSN: 0264-8377
- [4] Samuel Francke, Rodrigo Vargas, Koichi Torugawa y Masatoshi Marita. "Manual de control de erosión", 2004, Santiago de Chile, Editado por CONAF, 2ª edición, paginas 10 – 73.
- [5] Daniel Buckley & Thomas Schmidt. "Diversity and dynamics of microbial communities in soils from agro-ecosystems". *Environment microbiology*, 5:441 – 452, 2003. ISSN 1462-2920
- [6] Martina Girvan, Juliet Bullimore, Andrew Ball, Jules Pretty & Mark Osborn. "Responses of active bacterial and fungal communities in soils under winter wheat to

⁴ Iden cita [28]

⁵ Iden cita [14]

[7] Joaquín Ramírez, Darío Castañeda, Juan Morales. “Dinámica microbiana del suelo asociada a diferentes estrategias de manejo de *Phytophthora cinnamomi* Rands en aguacate”. Rev. Ceres, Viçosa. 60(6); 811 – 819, 2013. ISSN 2177-3491

[8] Matt Kaeberlein, Kim Lewis & Slava Epstein. “Isolating Uncultivable Microorganisms in Pure Culture in a Simulated Natural Environment”. Science. 296: 1127 – 1129, 2002. ISSN 1095 - 9203

[9] José Rodríguez, Jesús Sánchez. “Biorremediación: Aspectos tecnológicos y aplicación al vertido del Prestige”. Industria y Minería. 351: 17 – 21, 2003. ISSN 1137-8042

[10] Ricardo Vélez. “La defensa contra los incendios forestales. Fundamentos y experiencias”, 2009, Madrid, España, Editado por Mc Graw Hill Interamericana, 2ª edición, páginas 500 – 510.

[11] Bantee Richter, Kelly Ivors, Wei Shi & David Benson. “Cellulase activity as a

mechanism for suppression of *Phytophthora* root rot in mulches”. Phytopathology. 101: 223 – 230. 2011. ISSN 0031 – 949X.

[12] Made Ardhana & Graham Fleet. “The microbial ecology of cocoa bean fermentations in Indonesia. International”. Journal of Food Microbiology. 86: 87 – 99, 2003. ISSN: 0168-1605.

[13] María Cariello, Liliana Castañeda, Inés Riobo, Jimena González. “Inoculante de microorganismos endógenos para acelerar el proceso compostaje de residuos sólidos

urbanos”. R. C. Suelo Nutr. Veg. 7(3): 26 – 37. 2007. ISSN 0718-2791.

[14] Andrea Castillo y Fernando Maestre. “La costra biológica del suelo: Avances recientes en el conocimiento de su estructura y función ecológica”. Revista Chilena de Historia Natural. 84: 1 – 21, 2011. ISSN 0716-078X

[15] Adolfo Escalante, Guillermo Gosset, Alfredo Martínez y Francisco Bolívar. “Diversidad bacteriana del suelo: métodos de estudio no dependientes del cultivo microbiano e implicaciones biotecnológicas”. Agrociencia. 38(6): 583 – 592, 2004. ISSN 1405-3195

[16] Marysol Alvear, Cecilia Urra, Rodrigo Huaiquilao, Marcia Astorga y Francisco Reyes. “Actividades biológicas y estabilidad de agregados en un suelo del bosque templado chileno bajo dos etapas sucesionales y cambios estacionales”. R.C. Suelo Nutr. Veg. 7(3): 38 – 50. 2007. ISSN 0718 – 2791.

[17] Margarita Aguirre. “Atlas universal Antártica Chile y sus regiones”. 2009, Santiago de Chile, Editorial Antártica, 16ª edición, páginas 60 – 70.

[18] Allison Caig, Sue Grayston, James Prosser, Anne Glover. Impact of cultivation on characterization of species composition of soil bacterial communities. FEMS Microbiol. Ecol. 35: 37 – 48, 2001. ISSN: 1574-6941.

[19] Andrés Molano. “Aislamiento de bacterias biofertilizantes (*Nitrobacter*, spp, *Rhizobium*, spp, *Azospirillum*, spp) para un sistema de compost tipo Windows”. Umbral científico. 5: 25 – 32. 2004. ISSN: 1692-3375

[20] Astrid Cienfuegos, Giovani Gómez, Liliana Cordova, Shirley Luckhart, Jan Conn y Margarita Correa. “Diseño y evaluación de

- metodologías basadas en PCR-RFLP de ITS2 para la identificación molecular de mosquitos *Anopheles* spp. (Diptera: Culicidae) de la Costa Pacífica de Colombia”. *Rev Biomed*, 19: 35 – 44, 2008. ISSN: 1697 – 090X
- [21] Anton Huber, Andrés Iroumé, Cristian Mohrc, Cristian Frêne. “Efecto de plantaciones de *Pinus radiata* y *Eucalyptus globulus* sobre el recurso agua en la Cordillera de la Costa de la región del Biobío, Chile”. *Bosque*, 31(3): 219-230, 2010. ISSN 0717 – 9200.
- [22] Eldra Solomon, Linda Berg, Diana Martin y Claude Villee. *Biología*, 1998, México, D.F, Editorial Mc Graw Hill. 4ª edición, paginas 960 – 972.
- [23] Noah Fierer, Mya Breitbart, James Nulton, Peter Solomon, Catherine Lozupone, Ryan Jones, Michael Robeson, Robert Edwards, Ben Felts, Steve Rayhawk, Rob Knight, Forest Rohwer & Robert Jackson. “Metagenomic and Small-Subunit rRNA Analyses Reveal the Genetic Diversity of Bacteria, Archaea, Fungi, and Viruses in Soil”. *Applied and environmental microbiology*, 73(21): 7059–7066. 2007. ISSN 2373-6712
- [24] Alberto Julca, Liliana Meneses, Raúl Blas y Segundo Bello. “La materia orgánica: importancia y experiencias de su uso en la agricultura”. *Idesia*, 24(1): 49 – 61. 2006. ISSN 0718-3429
- [25] Laura Moreno y Fabián Galvis. “Potencial biofertilizante de bacterias diazótropas aisladas de muestras de suelo rizosférico”. *Pastos y Forrajes*, 36(1): 33 – 37. 2013. ISSN: 2078 - 8452
- [26] Christine Hawkes “Microorganismos del suelo, plantas en peligro de extinción y la conservación del Matorral de Florida”. *Ecosistemas*, 12(2): 2 – 23. 2003. ISSN 1697-2473
- [27] Wolfgang Elbert, Bettina Weber, Susannah Burrows, Jörg Steinkamp, Burkhard Büdel, Meinrat Andreae & Ulrich Poschl. “Contribution of cryptogamic covers to the global cycles of carbon and nitrogen”. *Nature Geoscience*. 5: 459 – 462. 2012 ISSN : 1752-0894
- [28] Víctor Rivera, Irma Manuel y Héctor Godínez. “Las costras biológicas del suelo y las zonas áridas”. *Ciencias*, 75: 24 – 27, 2004. ISSN: 0187 - 6376
- [29] Valentina Toledo, Adriana Florentino. “Evaluación de las propiedades biológicas y bioquímicas de la costra microbiótica de un suelo bajo vegetación natural en la región árida de Quíbor, Venezuela”. *Revista de Investigación* 75(36): 143 – 163. 2012. ISSN : 0798-0329
- [30] Valentina Toledo, Adriana Florentino. “Las Costras Microbióticas del Suelo”. *Revista de Investigación* 68(33): 199 – 216. 2009. ISSN : 0798-0329
- [31] Jesús Quiñones, Edmundo Castellanos, Celso Valencia, Juan Martínez, Teodoro Sánchez y Carlos Montes. “Efecto de la costra biológica sobre la infiltración de agua en un pastizal”. *Terra Latinoamericana*, 27(4) 287 – 293, 2009. ISSN electrónico: 2395-8030.

Fecha de recepción: marzo 2016.
Fecha de aceptación: mayo 2016. Revisores: 3.
Cantidad de revisiones consolidadas: 2.
Total de observaciones: 11.
Índice de Novedad: 0,60.
Índice de Utilidad: 0,59.