



DENSIDAD MICROBIANA EN PARCELAS DE SUELOS CON DIVERSOS GRADOS DE PRODUCTIVIDAD EN EL PROYECTO DE REFORESTACIÓN CON *Pinus caribae* DE LA YEGUADA

José Him F.

Universidad de Panamá, Centro Regional Universitario de Veraguas, Facultad de Ciencias Naturales, Exactas y Tecnología.

e-mail: jjhimf@latinmail.com

RESUMEN

Con el propósito de determinar las características microbiológicas de los suelos del Proyecto de Reforestación de La Yeguada se buscaron los siguientes grupos de microorganismos: bacterias aerobias, bacterias anaerobias, actinomicetes y hongos. Las parcelas muestreadas fueron previamente clasificadas según su nivel de productividad (metros cúbicos de pino formados por año, según estudio piloto previo) en productividad alta ($>15 - 20 \text{ m}^3/\text{año}$), media ($10 - 15 \text{ m}^3/\text{año}$) y baja ($5 - 10 \text{ m}^3/\text{año}$). Además, se muestreó un grupo de parcelas que nunca habían sido reforestadas con ningún tipo de árboles. En total se tomaron 15 muestras, 3 muestras de áreas de productividad alta, 4 de productividad media, 4 de productividad baja y 4 del grupo testigo. Las muestras fueron rotuladas y llevadas al laboratorio del CRUV (Universidad de Panamá) para hacer los análisis microbiológicos correspondientes. De los datos obtenidos se puede concluir que en todas las variantes estudiadas (hongos, microorganismos aerobios, actinomicetes y bacterias anaerobias) no se presentó una diferencia significativa estadística; lo cual indica que en el transcurso de los años de reforestación (25 años o más), las condiciones creadas por los pinos no favorecieron la proliferación de estos microorganismos. También se detectó una correlación entre el desarrollo de los actinomicetes y los anaerobios, la cual sugiere una posible relación entre los dos tipos de microorganismos.

PALABRAS CLAVES

Bacterias aeróbicas, bacterias anaerobias, actinomicetes, hongos, suelo, *Pinus caribae*.

ABSTRACT

With the purpose of determining the microbiological properties of the soils of La Yeguada Reforestation Project, the following microorganisms were searched: aerobic bacterias, anaerobic bacterias, actinomycetes and fungi. The plots sampled were previously classified according to their productivity level (cubic meter of pine tree made per year, according to a preliminary study) in high productivity ($> 15 - 20 \text{ m}^3/\text{year}$), medium productivity ($10 - 15 \text{ m}^3/\text{year}$) and low productivity ($5 - 10 \text{ m}^3/\text{year}$). Moreover, a group of plots that have never been reforested was sampled. On the whole 15 samples were taken, 3 high productivity areas samples, 4 of average productivity, 4 of low productivity and 4 of the control group. The samples were marked and taken to the CRUV (Universidad de Panamá) microbiology laboratory, where they were analyzed. The data showed that all groups of microorganisms (fungi, aerobic microorganisms, actinomycetes and anaerobic bacterias) did not present significant differences; it means that these microorganisms were not affected by the soil conditions created for the pine trees. Also, a correlation between the development of actinomycetes and anaerobics bacteria was detected, which suggests a possible relationships between both types of microorganisms.

KEYWORDS

Aerobic bacterias, anaerobic bacterias, actinomycetes, fungi, soil, *Pinus caribaeae*.

INTRODUCCIÓN

El proyecto de La Yeguada empezó hace más de treinta años con la finalidad de servir de protección de la cuenca del Río San Juan y las orillas de la laguna artificial que sostienen la planta hidroeléctrica. Además, en lo que se refiere al ecosistema, se buscaba mejorar el clima, los suelos y el paisaje de la región; los cuales se encontraban muy deteriorados y con grandes problemas de erosión por las acciones descontroladas de los pobladores como lo son las quemadas, ganadería extensiva, entre otras (Dyson, 1981).

Luego de una investigación realizada en la década de los sesenta, sobre diferentes especies forestales que podían crecer satisfactoriamente en los suelos degradados, se determinó que la especie de *Pinus caribaeae* era la especie más exitosa en las condiciones dadas en La Yeguada y se procedió a su plantación. La plantación tiene cerca de 25 a 30 años de establecida, con una superficie de 7640 ha (Dyson, 1981).

El área se caracteriza por poseer elevaciones que van desde 500 hasta 1350 m.s.n.m. y recibe un promedio anual de 3500 mm de lluvia

(Dyson, 1981); se encuentra situada en el corregimiento de La Yeguada, distrito de Calobre, provincia de Veraguas.

En los últimos años se han hecho muchas críticas a este tipo de reforestación con especies exóticas y en forma de monocultivo. Se asegura que antes de ofrecer una solución al problema, esta forma de reforestar contribuye al empobrecimiento de los suelos. Es importante saber que el suelo no es sólo un soporte para el desarrollo de plantas sino, que constituye un ecosistema más, en donde habitan numerosos grupos de microorganismos como son: los hongos, bacterias, actinomicetes, entre otros; que, dependiendo de la cantidad en que se encuentren, representan uno de los indicadores de la calidad de los suelos, ya que, tienen gran importancia en la determinación de las propiedades de éste y en la relación con el tipo de comunidades vegetales. Se ha demostrado significativas diferencias en la composición de las comunidades bacteriales en los suelos que tienen una cubierta boscosa en comparación con los suelos cubiertos por pastos. La vegetación es un factor ambiental que determina la composición de la comunidad microbiana de los suelos, pues ésta provee las fuentes primarias para el crecimiento heterotrófico. Debido a que las diferentes especies de plantas están compuestas de diferentes compuestos de carbono, diferentes microorganismos pueden crecer en el suelo según las diferentes comunidades de plantas. Además, la comunidad vegetal puede alterar otras características físicas y químicas del suelo y favorecer el crecimiento de diferentes especies microbianas (Nüsslein & Tiedje, 1999); y a su vez, la productividad de los sistemas agrícolas es conocida por depender de los procesos funcionales de las comunidades microbiales (O'Donnell, Goodfellow & Hawksworth, 1994).

Para evaluar la calidad microbiológica de los suelos, es importante detectar a los siguientes grupos de microorganismos: bacterias aerobias, bacterias anaerobias, actinomicetes y hongos (Wiley, 1994; Cambell, 1987 y Benson, 1994). Según Burges (1958), la calidad de los suelos fértiles presentan una cantidad definida de los diferentes microorganismos; así, el recuento de bacterias aerobias está en el orden de 1.5×10^7 , las bacterias anaerobias en 1.37×10^5 , los actinomicetes en 7.0×10^5 , y los hongos en 4.0×10^5 ufc/g.

Este trabajo pretende determinar la relación entre el grado de productividad de las parcelas (previamente catalogadas) y la

concentración de microorganismos en el suelo del proyecto y, verificar si la densidad de microorganismos ha sido afectada por el desarrollo de los pinos en el proyecto hidroeléctrico de La Yeguada.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestreo

Las parcelas muestreadas fueron previamente clasificadas según su nivel de productividad (metros cúbicos de pino formados por años) según un estudio previo (Díaz, 2002). Todas estas parcelas tenían más de veinticinco años de haber sido reforestadas, al cabo de los cuales presentaron diferentes grados de productividad. Además, se muestreó un grupo de parcelas que nunca habían sido reforestadas con ningún tipo de árboles para tomarlas como grupo testigo; ya que, se supuso que mantenían condiciones similares al momento del inicio del proyecto. En total, se tomaron cuatro grupos de estudio: parcelas de productividad alta ($>15 - 20 \text{ m}^3/\text{año}$), productividad media ($10 - 15 \text{ m}^3/\text{año}$), productividad baja ($5 - 10 \text{ m}^3/\text{año}$), y peladero o potrero (grupo testigo).

En cada tipo de parcela, se tomaron muestras siguiendo un patrón sistemático. Para esto, se tomó una submuestra central y, a partir de ésta, se tomaron otras ocho submuestras (cada una de ellas separadas 5 m) hasta formar un rectángulo alrededor de la submuestra central. Con cada muestreo se realizó este proceso, así como el registro de las coordenadas geográficas con un SPG (Sistema de Posicionamiento Global). Las 9 submuestras se mezclaron en una bolsa plásticas, luego fueron rotuladas y llevadas al laboratorio de microbiología del CRUV (Universidad de Panamá) para hacer los análisis correspondientes. En total se tomaron 15 muestras, 3 muestras de áreas de productividad alta, 4 de productividad media, 4 de productividad baja y 4 del grupo testigo. El propósito original era tomar 4 muestras de cada sitio, pero una de las muestras de las áreas de productividad alta se extravió en la última gira que se realizó.

Análisis de laboratorio

En los análisis microbiológicos de suelos, se realizaron los procedimientos estándares de aislamiento y de cultivo. A cada grupo se le practicó análisis microbiológicos de hongos, recuento total de aerobios, actinomicetes y anaerobios. La metodología utilizada fue

una combinación de las descritas por: Sherman (1987), Benzinger (1994), Wollun (1982), y Parkinson (1982).

En el laboratorio, cada muestra fue homogeneizada mediante movimiento manual de la bolsa plástica en que estaba contenida. Luego se pesaron 25 g de cada bolsa que se colocaron en una bolsa plástica estéril para disolverlos con 225 mL de agua peptonada estéril. Después de homogeneizados, se hicieron diluciones decimales seriadas hasta la dilución 10^5 . Estas diluciones fueron sembradas en platos Petri con sus respectivos agares. Para recuento total de aerobios se usó agar nutritivo; para hongos, agar sauboraud; para los actinomicetes, agar almidón - caseína; y para anaerobios, agar para anaerobios fastidiosos. Todos los platos Petri fueron incubados a temperatura ambiente, a excepción de los anaerobios que fueron introducidos en una jarra Gaspack®, utilizando el sistema Anaerogen®. Transcurrido la incubación necesaria (4 a 5 días para anaerobios y actinomicetes y 72 horas para aerobios y hongos a temperatura ambiente), se hicieron los cálculos necesarios para determinar la concentración de cada uno de los grupos de microorganismos.

Todos los datos de recuentos microbiológicos fueron agrupados de acuerdo al tipo de microorganismo y al nivel de productividad de las parcelas.

Análisis estadístico

Los resultados fueron analizados en el software Statistix 3.5, mediante un análisis de varianza a fin de determinar similitudes entre los grupos de parcelas. También se hizo un análisis del coeficiente de correlación de Pearson para determinar posibles relaciones entre los grupos de microorganismos. A cada análisis se le aplicó un nivel de confianza de 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La posición de las parcelas estudiadas se tabuló según los datos de SPG en el Cuadro 1. Algunos de las parcelas no muestran datos debido a que no se tomó la lectura correspondiente por omisión o por pérdida de los registros.

Cuadro 1. Clasificación de las parcelas según productividad, posición geográfica y altitud.

Productividad	Parcelas	Posición Geográfica	Elevación (m.s.n.m.)
ALTA	P-49	N8°27'7.8" W80°50'49.5"	723
	P-66	N8°27'51.8" W80°51'08"	686
	P-68	N8°28'04.8" W80°51'54.5"	700
MEDIA	P-38	N8°28'05.5" W80°51'49.7"	705
	P-67	N8°27'36.2" W80°51'48.5"	709
	P-127	N8°28'82.9" W80°50'45.3"	745
	P-139		
BAJA	P-3	N8°25'09.5" W80°51'20.9"	501
	P-4	N8°25'10.7" W80°81'14.7"	582
	P-130	Cerca de la Laguna	
	P-136	N8°28'17.5" W80°50'24.9"	845
TESTIGO	P-01		
	P-02		
	P-03	N8°27'57" W80°51'47.9"	657
	P-04	N8°28'13.7" W80°50'06.2"	883

Las medias aritméticas de los recuentos de hongos (Cuadro 2) de cada una de las áreas establecen que las áreas no reforestadas (testigo) y las de producción baja de pinos presentan recuentos en la cantidad

esperada (4×10^5) según Burges (1958). En cambio, los datos para las áreas de producción alta y media parecen ser más bajas de lo esperado.

Cuadro 2. Media aritmética de los recuentos de microorganismos en los distintos grupos de parcelas.

	Productividad			
	Alta	Media	Baja	Testigo
Hongos	57967	92000	134000	123000
Aerobios totales	280000	5630250	738250	381275
Actinomicetes	135000	68100	368000	11330
Bacterias Anaerobias	99233	27125	158950	3245

Nota: todos los datos están dados en unidades formadoras de colonias por gramo (ufc/g).

A pesar de estos aparentes resultados, el análisis estadístico mediante una ANOVA simple (Cuadro 3) demuestra que no hay diferencias verdaderas entre los grupos. Este resultado puede indicar que los pinos no son un factor determinante en la proliferación de hongos.

Cuadro 3. Análisis de varianza de los recuentos de hongos.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1.1971×10^{10}	3	3990223111	0.49895929	0.69055119	3.5874308
Dentro de los grupos	8.7968×10^{10}	11	7997091515			
Total	9.9939×10^{10}	14				

Los recuentos de aerobios totales (Cuadro 2) esperados en el orden 1.5×10^7 ufc/g estuvieron muy por debajo en los distintos lugares muestreados; sólo el área de productividad media se acercó a lo esperado. El análisis estadístico de estos datos demostró que todos los grupos eran iguales (Cuadro 4). Las cantidades de organismos aerobios no fueron afectados por el crecimiento de los pinos, pero en todos los casos las concentraciones de estos organismos están por debajo de lo esperado en un suelo fértil.

Cuadro 4. Análisis de varianza de los recuentos de aerobios.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	7.8128 10 ¹³	3	2.6043 10 ¹³	1.29101839	0.32601191	3.5874308
Dentro de los grupos	2.2189 10 ¹⁴	11	2.0172 10 ¹³			
Total	3.0002 10 ¹⁴	14				

Los recuentos de actinomicetes (Cuadro 2) también presentaron cantidades inferiores a las esperadas (7.0×10^5 ; Burges, 1958), aunque las regiones de productividad alta y baja se acercaron mucho a lo deseado. Al observar las medias aritméticas de estos resultados se observa una aparente menor cantidad de estos microorganismos en las parcelas designadas como testigo. El análisis de varianza (Cuadro 5) también estableció la similitud de los recuentos de actinomicetes en las diferentes áreas estudiadas. Este resultado indica que, en todos los sitios la cantidad de actinomicetes está por debajo de los números establecidos para suelos fértiles.

Cuadro 5. Análisis de varianza de los recuentos de actinomicetes.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2.9432 10 ¹¹	3	9.8107 10 ¹⁰	1.10277345	0.38912617	3.5874308
Dentro de los grupos	9.786 10 ¹¹	11	8.8964 10 ¹⁰			
Total	1.2729 10 ¹²	14				

Las medias aritméticas de las bacterias anaerobias (Cuadro 2), esperadas en el orden de 1.37×10^5 , muestran que la región de productividad baja es la única que presenta la densidad deseada de estos organismos. En el caso de anaerobios tampoco se demostró diferencia estadística entre las regiones (Cuadro 6), lo que indica que esta estadística tampoco estuvo en el rango esperado para ninguna de las áreas.

Cuadro 6. Análisis de varianza de los recuentos de anaerobios.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	5.9389 10 ¹⁰	3	1.9796 10 ¹⁰	1.6801559	0.22841214	3.5874308
Dentro de los grupos	1.2961 10 ¹¹	11	1.1782 10 ¹⁰			
Total	1.8899 10 ¹¹	14				

Sabiendo que la salud del suelo esta íntimamente ligada a la sostenibilidad de los sistemas productivos; se puede afirmar que el buen manejo de los suelos en áreas tan degradadas como La Yeguada asegura los sistemas productivos de esta región. En los sistemas productivos agrícolas hay un interés creciente en los factores que gobiernan la salud de los suelos, la biodiversidad, la restauración, así como en las relaciones fundamentales entre estos factores (Girvan *et al.*, 2003). La salud del suelo ha sido definida como la capacidad del suelo para funcionar como un sistema viviente vital para sostener la productividad biológica, promover la calidad ambiental y mantener las plantas y animales (Doran & Zeiss, 2000). Según Nüsslein & Tiedje (1999), un cambio radical en la vegetación, como es el caso del reemplazo del bosque tropical por pastos, ciertamente constituye un mayor cambio en el ambiente del suelo, especialmente en la fuente de carbón para los microorganismos, y esto conduce a un cambio a las propiedades del suelo, como lo son la acidificación, la disminución del carbón orgánico y un incremento en densidad de la masa. La mayor capacidad de intercambio catiónico en el suelo del bosque con respecto al suelo de pastos esta dada por el alto contenido de materia orgánico del suelo (Nüsslein & Tiedje, 1999). Así pues, hay factores primarios y secundarios que pueden ser importantes determinantes de las comunidades microbianas asociadas con el cambio de la vegetación. Aunque estos autores se refieren a los cambios ocurridos en el suelo debido a la permuta del bosque por los pastos, es de esperar que, al reforestar el área, las condiciones del suelo se recuperen a la forma original, o muy parecido a ellas. Este no fue el caso de la reforestación con pinos en el área de La Yeguada en lo referente a la densidad de

microorganismos. Las condiciones se mantuvieron iguales en los lugares reforestados y en los que no lo fueron. Esto indica que, desde el punto de vista microbiológico, la reforestación con este tipo de árboles no mejora los suelos, pero tampoco los deteriora.

La diferencia obvia, en el aspecto paisajístico, entre los terrenos nunca reforestados (peladero), y las regiones reforestadas es un resultado positivo, aunque las condiciones microbiológicas del suelo se mantengan iguales. El mejor desarrollo de un organismo en relación a otros, hace que el balance de los microhábitats se altere. Afortunadamente, los datos muestran que ninguno de los microorganismos se vio favorecido por el cultivo de estos pinos durante casi 30 años.

Los bajos recuentos de los hongos hacen pensar que, las condiciones creadas por los pinos inhibe el desarrollo de estos organismos en el piso de los bosques. Esto es incongruente con los registros de pH ácidos del suelo determinados anteriormente por Díaz (2002). Se esperaría que los hongos se desarrollen mejor en este ambiente más ácido. Este resultado, tal vez, se debe a algún tipo de sustancia inhibitoria secretada en la descomposición de los restos de pinos, la cual afecta a los hongos y tal vez a otros microorganismos también.

Al encontrar similitud en los diferentes tipos de microorganismos, los datos fueron reagrupados por tipo de microorganismo, y luego fueron sometidos a la prueba de coeficiente de correlación de Pearson. Los resultados mostraron una correlación considerable ($r_{28} = 0.8133$, $P < 0.01$) entre los anaerobios y los actinomicetes. Se requieren estudios adicionales para elucidar posibles relaciones entre ambos.

En general, aunque los resultados no muestran las concentraciones esperadas de microorganismos, la reforestación con *Pinus caribaea* funciona en lo que se refiere a la protección contra la erosión, lo cual era el caso de las áreas de La Yeguada, antes del proyecto de reforestación. Estos sitios con pendientes pronunciadas difícilmente acogen, de primera mano, especies arbóreas más fastidiosas en su crecimiento. El desarrollo de otras especies, diferentes al pino, tal vez no se hubiera dado en las condiciones originales. Las nuevas condiciones creadas por las plantaciones de pino, en lo que se refiere a microclimas (sombra, temperatura, otras), ayudará en el futuro a la

diversificación de especies, lo cual mejorará los suelos y la proliferación de la fauna.

CONCLUSIONES

Cada una de las variables estudiadas (hongos, aerobios, actinomicetes y anaerobios), al ser comparadas entre los diferentes sitios de productividad de pinos, resultaron estar en igual concentración. No se presentó una diferencia significativa estadística; lo cual indica que, en el transcurso de los años de reforestación (25 años o más), las condiciones creadas por los pinos no inciden sobre la proliferación de estos microorganismos. Así que, si seguimos la suposición de que las áreas no reforestadas (testigo) muestran condiciones similares al momento del inicio del proyecto, podemos decir que estos microorganismos se encuentran en las mismas concentraciones que al principio de la reforestación, y en cualquiera de los casos, esta cantidad es inferior a la cantidad esperada para suelos fértiles del trópico; condición alcanzada por el mal manejo de estos suelos en épocas pasadas. De esto se puede concluir que la reforestación con este tipo de árboles no mejora los suelos, pero tampoco los deteriora.

Debido a la correlación estadística mostrada, se sugiere realizar estudios adicionales para establecer si existen relaciones entre las comunidades de bacterias anaerobias y los actinomicetes. Tal vez, la relación se deba a un efecto indirecto pero es interesante el resultado observado aquí.

REFERENCIAS

Benzinger, B. 1994. *Prácticas de Laboratorio de Microbiología*. 3ª ed., editorial LIMUSA, México. 240 págs.

Benson, H. 1994. *Microbial Applications*. Brown Communications, Inc. Estados Unidos. 288 págs.

Burges, A. 1958. *Microorganism in the Soil*. 1ª ed. Hutchinson, Londres.

Cambell, R. 1987. Ecología Microbiana. 1ª ed. LIMUSA. México. Págs. 109-152.

Díaz, I. 2002. Comunicación personal. Presidente de Colegio Nacional de Ingenieros Forestales de Panamá.

Doran, J. W. & M. R. Zeiss. 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.* 15: 3-11.

Dyson, W. 1981. Fertilización en la Reserva Forestal La Yeguada, Panamá. CATIE. Turrialba. Costa Rica. 14 págs.

Nüsslein, K. & J. M. Tiedje. 1999. Soil Bacterial Community Shift Correlated with Change from Forest to Pasture Vegetation in a Tropical Soil. *Appl. Envir. Microb.* 65(8): 3622-3626.

Girvan, M. S., J. Bullimore, J. N. Pretty, A. M Osborn, & A. S. Ball. 2003. Soil type is the primary determinant of the composition of the total and active bacterial communities in arable soils. *Appl. Envir. Microb.* 69(3): 1800-1809.

O'Donnell, A. G., M. Goodfellow, & D. L. Hawksworth. 1994. Theoretical practical aspects of the quantification of biodiversity among microorganism. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B* 345: 65-73.

Parkinson, D. 1982. Filamentous Fungi. En Miller, R. *Methods of Soil Análisis. Part 2, Second Edition, ASA-SSSA. Madison, USA.*

Sherman, N. 1987. *Microbiology, manual laboratory. Second edition. Benjamín Cunnings publishing company. New York. Págs. 301-303.*

Wiley, J. 1994. *Introducción a la Microbiología de Suelos. 2ª ed., Libros y Editoriales, S.A. México. Págs. 26-81.*

Wollun, A. 1982. Cultural Methods for Soil microorganisms. Cap. 37 en Miller, R., *Methods of Soil Analisis. Part 2, Second Edition. ASA-SSSA. Madison, USA.*

AGRADECIMIENTOS

Queremos manifestar un profundo agradecimiento a los revisores de la Revista Tecnociencia y a la Profesora Margarita Merchant por su apoyo en la traducción al inglés del resumen de este trabajo. Igualmente, a la Profesora Delia Him por la revisión del texto en español.

Recibido julio de 2004, aceptado marzo de 2007.