



Grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno en el suelo del Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena

Juletsy Dayanna Graciani Álvarez

Inés Marcela Ribón Baena

Luisa Fernanda Rocha Suárez

Universidad Magdalena

Facultad de Ciencias Básicas - Programa de Biología

Facultad de Ingeniería - Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria

Santa Marta, Colombia

2020



Grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno en el suelo del Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena

Juletsy Dayanna Graciani Álvarez

Inés Marcela Ribón Baena

Luisa Fernanda Rocha Suárez

Trabajo presentado como requisito parcial para optar al título de:

Biólogo e Ingeniero Ambiental y Sanitario

Director (a):

M.Sc Jorge Luna Fontalvo

Codirector (a):

M.Sc Isaac Borja Romero

Línea de Investigación:

Biodiversidad

Grupo de Investigación:

Grupo de Investigación en Manejo y Conservación de Fauna, Flora y Ecosistemas Estratégicos Neotropicales. (MIKU)

Universidad del Magdalena

Facultad de Ciencias Básicas - Programa de Biología

Facultad de Ingeniería - Programa de Ingeniería Ambiental y Sanitaria

Santa Marta, Colombia
2020

Nota de aceptación:

Aprobado por el Consejo de Programa en cumplimiento de los requisitos exigidos por la Universidad del Magdalena para optar a los títulos de Biólogo e Ingeniero Ambiental y Sanitario

Jurado

Jurado

Santa Marta, ____ de ____ del _____

(Dedicatoria o lema)

Este trabajo va dedicado a personas, sin las cuales no hubiese podido concluir mi proceso en la Universidad del Magdalena, mis padres Joel Graciani y Yudis Álvarez, por darme la vida y el constante apoyo emocional para luchar día a día, a mis amigos Dewar López y Greisi Barranco, quienes siempre estuvieron en el momento y lugar justo para apoyar mis sueños.

A mis docentes, los cuales a su manera cada uno aportaron su granito de arena para contribuir con este trabajo.

A mis amigos, los cuales dieron especial motivación cuando las cosas se ponían difíciles.

Y a el más importante, Dios, por darme la sabiduría y la paciencia para sacar este proyecto adelante y superar cada uno de los obstáculos encontrados en el camino, muchas gracias.

Juletsy D. Graciani Álvarez

(Dedicatoria o lema)

A Dios, por la promesa que un día me hizo, a mis padres por la vida, a mi tía por sus oraciones y apoyo incondicional y a todos aquellos amigos que he cultivado a lo largo de mi vida, y que siempre han creído que puedo cumplir mis sueños, aun cuando ni yo misma lo creo; en especial a aquellas dos mujeres que me inspiraron el amor por esta carrera y que desde hace mucho tiempo considero mis hermanas de corazón y mis colegas de profesión.

Jehová, hasta los cielos llega tu misericordia, y tu fidelidad alcanza hasta las nubes.

Inés M. Ribón Baena

(Dedicatoria o lema)

En primera instancia quiero agradecerle a Dios, por permitirme llegar a este momento tan especial en mi vida y tener el privilegio de seguir gozando del amor de mi familia. Dedico este trabajo a mis padres Rosario Suárez y Concepción Rocha, quienes me han brindado su amor y apoyo incondicional durante toda mi trayectoria. Gracias por acompañarme y guiarme en cada proceso que he emprendido, y levantar mi ánimo en esos momentos de aflicción a ustedes los amo y les debo todo lo que soy.

A mis hermanos Dana Rocha, Yuliana Rocha y Oscar Rocha, por su amor y llenar mi vida de alegría con sus ocurrencias. A mis abuelos por sus consejos y por ser los mejores expositores de amor y protección.

A mis profesores y compañeros de la carrera quienes aportaron enormes conocimientos tanto para mi crecimiento profesional como personal. Así mismo a mis compañeras de tesis por su esfuerzo y compromiso, para lograr la culminación de este proyecto.

Por último, agradezco a todas las personas que depositaron su confianza en mí, y contribuyeron de una u otra forma para la realización de este sueño.

Luisa F. Rocha

AGRADECIMIENTOS

Principalmente a Dios, por darnos esta oportunidad.

De manera muy especial le damos gracias a nuestra querida Alma mater Universidad del Magdalena y en particular a la Vicerrectoría de Investigación por la apertura de la convocatoria que nos permitió conseguir la financiación a nuestro anhelado proyecto.

Al profesor Jorge Alberto Luna Fontalvo, por dirigir nuestro proyecto de grado, por creer en nuestras ideas, apoyarlas y orientarlas en el transcurso de la investigación.

Al docente Isaac Manuel Romero Borja por codirigir nuestro trabajo de grado, por habernos brindado su conocimiento, tiempo, disposición y abrirnos las puertas de su laboratorio de Calidad del Agua en el cual se realizaron algunos de los análisis de laboratorio de esta investigación.

Al Grupo de Investigación en Manejo y Conservación de Fauna, Flora y Ecosistemas Estratégicos Neotropicales. (MIKU) por su colaboración.

A los laboratorios de Calidad de Suelos, Química General, Microbiología, Biología e Ingeniería Civil, por facilitarnos reactivos e instrumentos que permitieron el desarrollo de todas nuestras actividades de análisis y muestreo.

Al decano de la Facultad de Ingeniería, Roberto Aguas Núñez, por su apoyo y especial atención en la realización de este proyecto.

Personas encargadas de la administración de la Granja Experimental de la Universidad del Magdalena, por permitirnos el ingreso al Bosque Seco Tropical, su especial acompañamiento y vigilancia para garantizar nuestra seguridad y bienestar en la etapa de recolección de muestras.

A los docentes Kenedith Méndez y Javier Rodríguez, por su ayuda a la hora de realizar los análisis estadísticos que fueron muy importantes para completar esta investigación.

Igualmente, a todos aquellos que de manera desinteresada nos apoyaron y colaboraron en los momentos que los necesitábamos.

Finalmente, y de manera muy especial le damos nuestro más grande agradecimiento al Ingeniero Gian Alfonso Celedón Ordoñez el cual, nos acogió en su laboratorio brindándonos su apoyo, conocimiento, infraestructura, instrumentos, reactivos, tiempo, pero principalmente su amistad; sin duda una de las más importantes ganancias que pudimos obtener a través de nuestra investigación.

Juletsy, Luisa e Inés.

Contenido	Pág.
Resumen	I
Abstract	II
Introducción	1
Objetivos	6
Objetivo general	6
Objetivos específicos	6
Materiales y métodos	7
Área de estudio	7
Caracterización fisicoquímica del suelo	8
Análisis microbiológicos	9
Recuento directo en placa de microorganismos fijadores de nitrógeno	9
Estimación de grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno	9
Análisis estadístico	10
Resultados	12
Análisis fisicoquímico del suelo	12
Recuento de grupos funcionales de microorganismos	13
Relación entre variables fisicoquímicas del suelo y grupos funcionales microbianos	14
Discusión	18
Conclusiones	22
Recomendaciones	23
Referencias bibliográficas	24
Anexos	30

Lista de figuras

Pág.

Figura 1. Esquema Ciclo del Nitrógeno en el suelo.....	3
Figura 2. Ubicación geoespacial del Bosque seco Tropical, Universidad del Magdalena...	7
Figura 3. Recuento de UFC/g de suelo de bacterias fijadoras de Nitrógeno de vida libre y simbiótica en el suelo del Bs-T de la Universidad del Magdalena..	13
Figura 4. Número más probable (NMP/g de suelo) de los grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno (proteolíticos, amonizantes y desnitrificantes) en el suelo del Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena.....	14
Figura 5. Análisis de redundancia (RDA), triplot para los grupos funcionales microbianos del ciclo nitrógeno.....	16
Figura 6. Características morfológicas de <i>Azotobacter spp.</i>	17

Lista de tablas

Pág.

Tabla 1. Determinación de parámetros fisicoquímicos a partir de muestras de suelos del Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena.	9
Tabla 2. Valor promedio de los parámetros fisicoquímicos del suelo en el Bosque seco Tropical durante los tres meses muestreados (octubre, noviembre, diciembre).	12
Tabla 3. Varianza y valor propio del análisis de Redundancia canónica RDA.	15

Lista de símbolos

Símbolo	Significado
cm	Centímetro
g	Gramo
°C	Grado Celsius
m	Metro
µm	Micrómetro
mm	Milímetro
mL	Mililitro
L	Litro
NMP	Número Más Probable
UFC	Unidades Formadoras de Colonias
RDA	Análisis de redundancia
%	Porcentaje

Resumen

El mantenimiento y funcionamiento de los ecosistemas boscosos dependen en gran medida de la actividad microbiana presente en el suelo, particularmente aquellos que se relacionan con el ciclo del nitrógeno, siendo aprovechado en diferentes procesos como la fijación, mineralización e inmovilización. En este sentido, se estimaron grupos funcionales microbianos relacionados con el ciclo del nitrógeno en suelos del Bosque Seco Tropical de la Universidad del Magdalena (Bs-T). Para esto, se tomaron muestras de suelo de manera aleatoria, en cinco puntos dentro del bosque entre 5 y 20 cm de profundidad, según el método de muestreo del IGAC; seguidamente se procesaron en laboratorio y se realizaron cultivos in vitro de los grupos funcionales microbianos como fijadores de nitrógeno, proteolíticos, amonizantes y desnitrificantes a través de la técnica de recuento directo en placa y determinación del número más probable. Paralelamente, se determinaron parámetros fisicoquímicos del suelo según el método analítico establecido por el IGAC y se establecieron las correlaciones con las comunidades microbianas evaluadas a través de un análisis de redundancia RDA. Se encontraron variaciones en el tamaño poblacional de los grupos funcionales durante los meses evaluados, las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno y las bacterias amonificantes registraron las densidades promedio más altas en el mes de diciembre, con valores de 136 UFC/g suelo Y 2.4 NMP/g suelo respectivamente. Paralelamente, se determinaron algunos parámetros fisicoquímicos del suelo y se establecieron las correlaciones con las comunidades microbianas evaluadas, a través de un análisis de redundancia RDA. Se encontraron variaciones en el tamaño poblacional de los grupos funcionales durante los meses evaluados, las bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno y las bacterias amonificantes registraron las densidades más altas en el mes de diciembre. Los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno se relacionaron con las propiedades fisicoquímicas del suelo y con la estacionalidad pluviométrica registrada durante el estudio; lo que produce cambios o modificaciones en la estabilidad nutricional del suelo del Bs-T.

Palabras claves: Bacterias del suelo, calidad del suelo, flujo de nutrientes, inmovilización del nitrógeno.

Abstract

The maintenance and functioning of forest ecosystems depend to a great extent on the microbial activity present in the soil, particularly those that are related to the nitrogen cycle, being used in different processes such as fixation, mineralization and immobilization. In this sense, the microbial functional groups related to the nitrogen cycle in soils of the Tropical Dry Forest of the University of Magdalena (Bs-T) were estimated. For this, soil samples were taken at five points within the forest between 5 and 20 cm deep; They were then processed in the laboratory and in vitro cultures of the microbial functional groups such as nitrogen fixers, proteolytics, ammonizers and denitrifiers were carried out through direct plate count and most probable number techniques. At the same time, some physicochemical parameters of the soil were determined and the correlations with the microbial communities evaluated through a RDA redundancy analysis were established. Variations were found in the population size of the functional groups during the months evaluated, nitrogen-fixing symbiotic bacteria and ammonifying bacteria recorded the highest average densities in the month of December, with values of 136 CFU/g soil AND 2.4 PWN/g soil respectively. The functional groups of the nitrogen cycle were related with the physicochemical properties of the soil and to the rainfall seasonality recorded during the study; which produces changes or modifications in the nutritional stability of the Bs-T soil.

Keywords: Soil bacteria, soil quality, nutrient flow, nitrogen immobilization

Introducción

El nitrógeno es un elemento necesario para los seres vivos, ya que es uno de los constituyentes principales de los compuestos vitales (Ticona, 2018); esto lo convierte en la molécula esencial para el crecimiento de todos los organismos, y regulador de procesos ecológicos (ciclos biogeoquímicos, dinámica de comunidades y crecimiento de las plantas). Asimismo, es considerado como uno de los indicadores más importantes en la calidad del suelo, debido al estatus nutricional que aporta a los cultivos (Aristizábal & Cerón, 2012).

Debido a su particularidad de ser una molécula casi inerte, el nitrógeno no puede ser asimilado por los organismos a excepción de un grupo de bacterias altamente especializadas, las cuales, lo transforman en diferentes compuestos que son utilizados por el resto de los seres vivos en sus actividades metabólicas como en la síntesis de proteínas, aminoácidos y ácidos nucleicos (Mayz-Figueroa, 2004).

El proceso de fijación biológica del nitrógeno se realiza a través de un proceso de inmovilización, el cual consiste en la extracción de nitrógeno inorgánico por parte de los microorganismos del suelo, quienes lo utilizan en la formación de compuestos orgánicos como aminoácidos y proteínas, que luego son mineralizados formando en amoníaco (NH_3) o nitratos (NO_3^-) (Grahmann *et al.*, 2013). La fijación biológica del nitrógeno es mediada por el complejo nitrogenasa, presente en los microorganismos fijadores de nitrógeno (Halbleib & Ludden, 2000). La actividad del complejo enzimático mencionada anteriormente puede ser reducida o inactivada por el oxígeno, lo que obliga a los microorganismos a implementar mecanismos de evasión del O_2 y desarrollo en ambientes anaeróbicos; de esta manera mantienen bajas concentraciones de oxígeno con el propósito de mantener activa las enzimas nitrogenasas (Ureta & Nordlund, 2002; Lee *et al.*, 2004).

Las proteínas son compuestos orgánicos complejos conformados por una serie de aminoácidos, para la asimilación de estos nutrientes se requiere de un proceso de degradación conocido como proteólisis, en el cual participan una serie de enzimas proteasas y peptidasas (Fuka *et al.*, 2008). Algunas especies de bacterias producen grandes cantidades de enzimas proteolíticas y entre las más activas están, *Clostridium histolyticum* y *C. sporogenes*; géneros como *Proteus*, *Pseudomonas* y *Bacillus* producen

dichas enzimas, pero en menor grado de actividad (Aristizábal & Ceron, 2012). En la naturaleza, la mineralización del nitrógeno orgánico se logra con la actividad de los microorganismos, que desaminan los aminoácidos hasta la obtención de los radicales aminos (NH_2), de manera que estos radicales dan lugar a la producción de amoníaco (NH_3) o proceso de amonificación, este último utilizado por las plantas y microorganismos, en condiciones fisicoquímicas del suelo favorables lo oxidan a nitrato (Pacheco *et al.*, 2002).

La nitrificación es el siguiente paso de oxidación biológica del amonio a nitratos por microorganismos aerobios, que usan el oxígeno molecular como aceptor final de electrones. Consta de dos etapas distintas, separadas y consecutivas; la Nitritación conocida como la oxidación de NH_4^+ a NO_2^- por bacterias nitrificantes, este proceso es llevado a cabo por *Betaproteobacteria*, principalmente del género *Nitrosomonas* y *Nitrospira* (Yuan *et al.*, 2008). Por otro lado, está la nitratación que se define como la oxidación de NO_2^- a NO_3^- , usando como catalizador a la enzima nitrato deshidrogenasa, puede ser realizada por algunos géneros de bacterias como: *Nitrobacter*, *Nitrococcus* y *Nitrospira* (Yuan *et al.*, 2008). El proceso de nitrificación es importante en el suelo, ya que la transformación de iones de amonio a nitrito y nitrato provoca un aumento en la capacidad de intercambio catiónico (Rodríguez *et al.*, 2007).

Otro proceso implicado en el ciclo del nitrógeno es la desnitrificación, la reducción asimilatoria catalizada por la enzima NADH (nicotinamida adenina dinucleótido), en el que se reduce el NO_3^- y NO_2^- a N_2O y N_2 de forma anaerobia; es de vital importancia debido a que devuelve el nitrógeno fijado a la atmósfera por procesos de respiración microbiana (Aristizábal & Cerón, 2012). La actividad desnitrificante en bacterias se induce en presencia de nitritos y nitratos, y bajo condiciones limitantes de oxígeno, ya que se puede inhibir en presencia de este elemento (Hayatsu *et al.*, 2008). La desnitrificación puede ser llevada a cabo por microorganismos como *Thiobacillus desnitrificans*, que son los únicos representantes de este grupo capaces de catalizar la reacción, los cuales son anaerobios facultativos y utilizan el NO_3^- como aceptor final de electrones (Sánchez & Sanabria, 2009).

Teniendo en cuenta lo anterior, en el suelo convergen una serie de comunidades microbianas relacionadas con el flujo y transformación de nutrientes y los ciclos biogeoquímicos conocidos como Grupos funcionales microbianos. Particularmente en el ciclo del nitrógeno, estos grupos están asociados a cinco grandes procesos como la fijación, proteólisis, amonificación y desnitrificación (Figura 1).

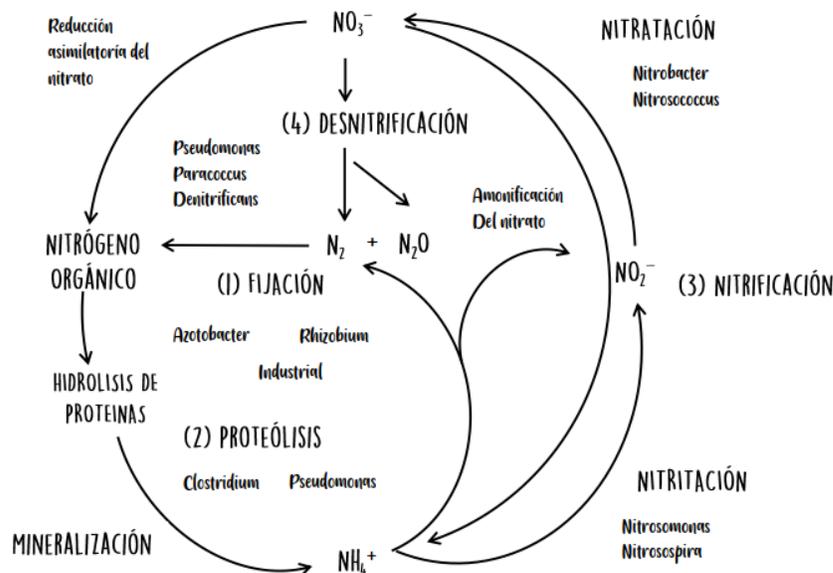


Figura 1. Esquema Ciclo del Nitrógeno en el suelo. (1) Fijación del Nitrógeno por bacterias de vida libre y en simbiosis con plantas, (2) Proteólisis- hidrolisis de proteínas, (3) Nitrificación transformación del amonio (NH_4^+) a nitrato (NO_3^-); se distinguen dos procesos: Nitritación y Nitratación, (4) Desnitrificación conversión del nitrato (NO_3^-) a N_2 . Adaptado de Paredes *et al.* (2007).

Los grupos funcionales microbianos presentes en el suelo son esenciales en los procesos ecológicos, puesto que permiten el funcionamiento de los ecosistemas; siendo responsables de la descomposición de la materia orgánica y del ciclaje de los nutrientes como carbono, nitrógeno, fósforo, azufre (Montaño *et al.*, 2010). En este sentido, las actividades microbianas están estrechamente relacionadas con la calidad del suelo, y sus propiedades fisicoquímicas, tales como pH, temperatura, textura, niveles de oxígeno, entre otros. De esta manera, estos sirven como indicadores tempranos, con la capacidad de predecir los cambios en las propiedades del suelo (Ginovart *et al.*, 2005).

Entre los estudios realizados sobre grupos funcionales microbianos en Bosque seco Tropical, se encuentra el de Singh & Kashyap, (2006) en la región de Vindhyan (India) donde evaluaron la mineralización de N, la nitrificación y el tamaño de la comunidad viable

de bacterias oxidantes de amonio y nitrito afectadas por diferentes sitios y estaciones. Por otro lado, Montañó et al. (2009; 2013), investigaron sobre poblaciones microbianas en suelos de Bs-T en México, dichos estudios revelan el comportamiento de la actividad microbiana de acuerdo con la disponibilidad de nutrientes (C y N) y las variaciones espaciotemporales que inciden sobre estos. Finalmente, el comportamiento de la actividad microbiana y los nutrientes en un periodo de transición de estación seca a húmeda fue estudiado por Eaton, (2001) en tres hábitats forestales (bosque de montaña, bosque de palma Cohune y bosque bajo), dentro de la selva tropical subtropical del noroeste de Belice.

En Colombia los estudios sobre grupos funcionales microbianos se han realizados principalmente en sistemas agrícolas, Grandett *et al.* (2015), investigaron la intervención de los microorganismos en el ciclo del nitrógeno en diferentes ambientes, indicando que su diversidad y funcionalidad son controlados por factores bióticos y abióticos. Por otro lado, Beltrán & Lizarazo, (2013) y Beltrán et al. (2017) desarrollaron investigaciones enfocada a establecer las relaciones sobre los grupos funcionales de los ciclos de C, N y P en un suelo perturbado por incendio forestal vs un suelo en condiciones normales, y en suelo revegetalizado vs otro sin revegetalizar en Boyacá.

Los Bosques secos tropicales en Colombia son uno de los ecosistemas más degradados, debido a las condiciones ambientales y la fertilidad de sus suelos, han sido un foco de interés para el desarrollo de actividades agrícolas y pecuarias, dejando de lado el valor de riqueza de especies (Díaz, 2006; Amaya, 2014). Estas alteraciones en las propiedades fisicoquímicas y biológicas conllevan a una pérdida de la calidad del suelo y biodiversidad edáfica, las cuales cuenta con un gran potencial como un indicador y proporcionan información para dar un diagnóstico oportuno sobre el estado y funcionamiento de los ecosistemas terrestre. Dada su participación en los procesos de descomposición de materia orgánica y circulación de nutrientes (Ginovart *et al.*, 2005).

El relicto de Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena se enfrenta a dos periodos climáticos (seco y lluvioso); la distribución de lluvias anual juega un papel fundamental en la entrada de sustratos y humedad del suelo, favoreciendo la actividad microbiana que a su vez aumenta la productividad de las plantas (García-Oliva *et al.*, 2003; Saynes *et al.*, 2005; Montañó *et al.*, 2007), que dependen de la transformación y transferencia de compuestos nitrogenados provenientes de microorganismos fijadores de

nitrógeno (Vitousek *et al.*, 2002). En este sentido, y teniendo en cuenta la importancia del Bs-T de la Universidad del Magdalena, el cual ofrece una serie de servicios ecosistémicos, como la regulación hídrica, retención de suelos, regulación del clima y además de ser un lugar estratégico para llevar a cabo investigaciones en pro de la conservación de la biodiversidad (Barranco *et al.*, 2016); el presente trabajo de investigación evaluó la dinámica del nitrógeno a través de los grupos funcionales microbianos, con el propósito de entender los procesos de este nutriente relacionados con la calidad y nutrición del suelo, además de servir como referente para este tipo de bosques presentes en la región.

Objetivos

Objetivo general

Determinar los grupos funcionales microbianos cultivables relacionados con el ciclo del nitrógeno en el Bosque seco Tropical (Bs-T) de la Universidad del Magdalena y de esta manera entender el funcionamiento y mantenimiento del bosque.

Objetivos específicos

- Cuantificar las comunidades microbianas heterótrofas como fijadores de N, proteolíticos, amonizantes, nitrificantes y desnitrificantes relacionadas con la nutrición del suelo del Bs-T.
- Evaluar los parámetros fisicoquímicos del suelo del Bs-T.
- Determinar la relación entre las comunidades microbianas y los parámetros fisicoquímicos del Bs-T

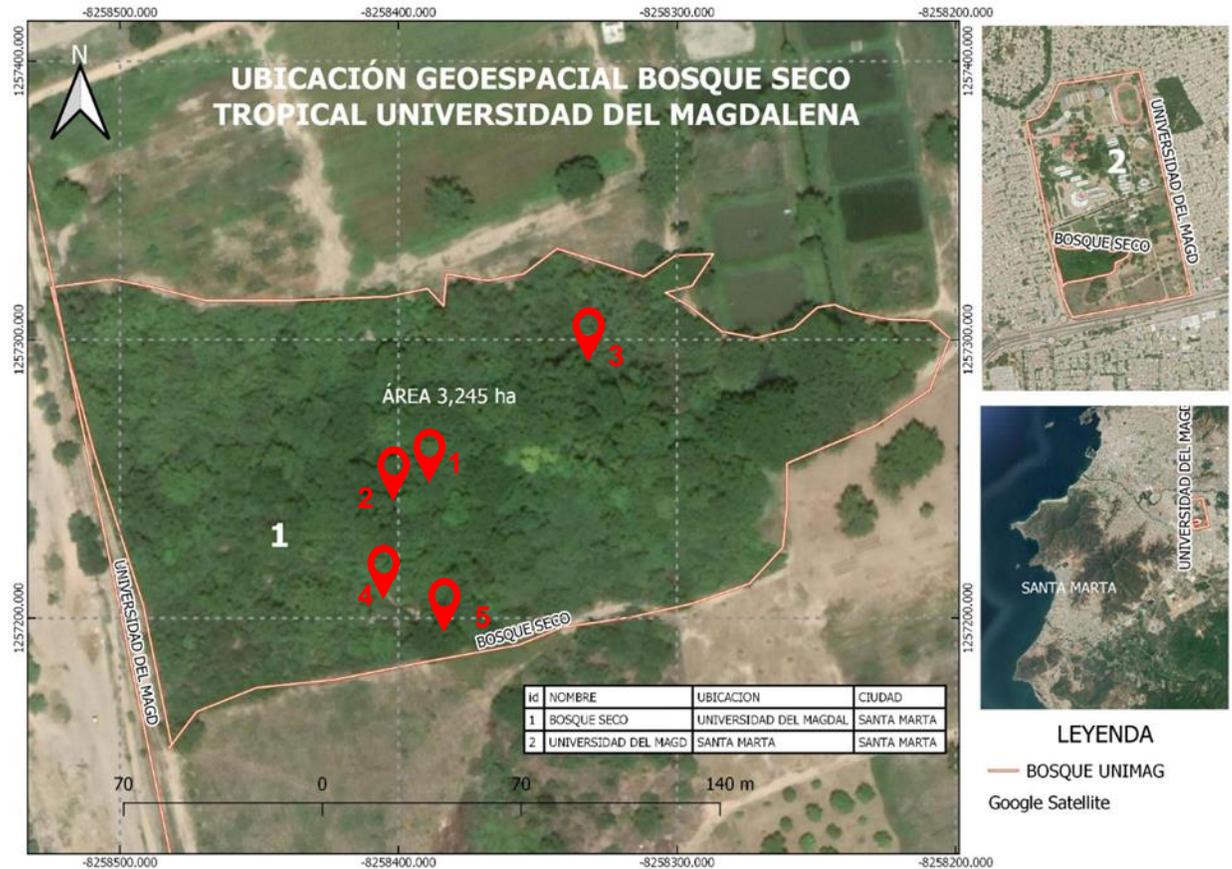
Materiales y métodos

Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en el Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena, Santa Marta – Colombia, ubicada a los 11°13'18,08" N - 74°11'11,25" O (Figura 2), el cual se caracteriza por presentar régimen de precipitación de tipo bimodal, con dos periodos de lluvias (mayo-junio y septiembre-noviembre) y dos períodos secos (diciembre-abril y junio-agosto). La precipitación promedio anual de 578 mm y la temperatura promedio anual de 27°C (Strewe et al., 2009; Rangel & Garzón, 1995). Estas condiciones proveen un clima semi-árido que refleja un déficit hídrico muy marcado en la época seca, la parcela de Bosque seco Tropical cuenta con un área de aproximadamente 3,5 hectáreas, que exhibe un estrato vegetativo con un perfil arbóreo de dosel amplio y uno inferior muy denso conformado principalmente por arbustos espinosos y arboles entre los 6 a 12 metros de altura (Rojano & España, 2013). Los suelos son de origen aluvial, poco evolucionados con predominio de texturas gruesas, (franco arcillo arenosa), clasificados en el orden Entisoles y suborden Psamments (Lobato, 2003; Vásquez *et al.*, 2010).

Las muestras de suelos fueron recolectadas en los meses de octubre, noviembre y diciembre del año 2019, se establecieron cinco puntos de muestreos, cada uno con tres replicas distribuidos aleatoriamente; con la ayuda de un barreno se realizó la extracción del suelo, a una profundidad de 5-20 cm. Todas las muestras se depositaron en bolsas plásticas tipo Ziploc de 500 g, las cuales fueron previamente rotuladas y trasladadas a los laboratorios de Calidad de Agua y Física del suelo de la Universidad del Magdalena, donde se realizaron los análisis microbiológicos y fisicoquímicos propuestos.

Figura 2. Ubicación geoespacial del Bosque seco Tropical, Universidad del Magdalena. Adaptado de Google Earth, (2020).



Caracterización fisicoquímica del suelo

Previo a la realización de los análisis fisicoquímicos, las muestras de suelo fueron tamizadas con el propósito de homogenizarlas. Seguidamente fueron procesadas siguiendo los métodos establecidos por el IGAC, (2006). Los parámetros evaluados se indican en la (Tabla 1).

Tabla 1. Determinación de parámetros fisicoquímicos a partir de muestras de suelos del Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena.

Parámetro	Método	Unidad de medida
Ph	Potenciómetro	Unidades
Temperatura °C	Termómetro	°C
Materia orgánica	Walkley & Black	%
Carbono orgánico	Walkley & Black	%
Porosidad	Gravimétrico	%
Nitrógeno total	Kjeldahl	%
Fósforo total mg	Olsen	%
Humedad %	Gravimétrico	%
Relación C/N		Adimensional
Capacidad de intercambio catiónico	Acetato de amonio	meq/100
Textura	Método de Bouyoucos	%

Análisis microbiológicos

Recuento directo en placa de microorganismos fijadores de nitrógeno

Para establecer los microorganismos fijadores de nitrógeno de vida libre y simbiótica, se manejó el método de siembra directa en placa utilizando, agar Ashby y agar Rojo-Congo manitol propuesto por Wen *et al.* (2012) y Vincent, (1970) respectivamente; se realizaron diluciones de suelo en agua destilada desde 10^{-1} hasta 10^{-5} , posteriormente las placas se incubaron a $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante 7 días, finalmente se procedió a hacer cuantificación de unidades formadoras de colonia sobre gramos de suelo (UFC/g).

Estimación de grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno

La determinación de microorganismos proteolíticos, amonizantes y desnitrificantes se realizó aplicando la técnica de Número Más Probable (NMP) en serie de 3 tubos utilizando diluciones desde 10^{-2} hasta 10^{-4} según el método propuesto por Alexander, (1982), empleando gelatina microbiológica, caldo asparagina según Levine, (1953) y caldo nitrato-

glucosa planteado por Tiedje, (1982), los cuales se sembraron a partir de 0.1 ml de la dilución de suelo; posteriormente fueron incubados a $30^{\circ}\text{C} \pm 2$ durante 7 días.

En la evaluación de los microorganismos proteolíticos, pasado el periodo de incubación, se llevaron los tubos a refrigeración durante una hora, con el fin de observar la licuefacción de la gelatina. Los tubos en los cuales se observó la gelatina en estado sólido se tomaron como negativos y aquellos en los cuales la gelatina se mostró en estado líquido se tomaron como positivos. Finalmente se anotó la cantidad de tubos positivos por cada serie (combinaciones) y se consultó en la tabla del índice de NMP según McGrady el equivalente al número de microorganismos por gramo de suelo analizado (Luna, 2020).

Con respecto a los amonizantes, transcurridos los 7 días de incubación se procedió a hacer la lectura utilizando reactivo de Nessler (Nessler, 1856), adicionando 5 a 6 gotas del reactivo a cada uno de los tubos, aquellos con una coloración amarillo-naranja fuerte se consideraron positivos, mientras que los tubos incoloros o débilmente amarillos se tomaron como negativos, para aquellos en los que no hubo coloración o hubo una coloración amarilla débil se tomaron como negativos. Las combinaciones de tubos positivos fueron consultadas en la tabla de McGrady como se explicó anteriormente.

Por último, la estimación de los microorganismos desnitrificantes se realizó mediante la aplicación de los reactivos Griess-Ilosvay A y B (Flórez & Uribe, 2011). A cada uno de los tubos se le adicionó de 3 a 4 gotas de cada reactivo consecutivamente. Finalmente, aquellos tubos que presentaron una coloración amarilla tenue a fuerte se tomaron como negativos y los que reaccionaron a los reactivos exhibiendo una coloración de rosa pálido a fuerte, fueron tomados como positivos; el NMP se estimó de acuerdo con la tabla de McGrady (Luna, 2020).

Análisis estadístico

Los parámetros fisicoquímicos y microbiológicos fueron promediados y se calculó su desviación estándar por meses para determinar la variación que presentaron durante la época de muestreo. Se realizó un análisis de redundancia (RDA) con el fin de identificar las variables ambientales que mejor explicaran los patrones de ordenación observados en los grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno. Para esto los datos ambientales fueron estandarizados y el conjunto de datos microbiológicos fueron tratados con la transformación de Hellinger. Posteriormente se aplicó un test de permutación ($nperm =$

1000) para verificar la significancia del modelo y los ejes canónicos. El análisis estadístico se realizó con ayuda del programa RStudio 1.2.5001.

Resultados

Análisis fisicoquímico del suelo

Los parámetros fisicoquímicos del suelo del Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena, evaluados durante los meses de octubre, noviembre y diciembre presentaron un comportamiento similar (Tabla 2). El pH del suelo fue moderadamente alcalino, la humedad del suelo fue mayor para el mes de octubre con un porcentaje promedio del 13% donde se evidenciaron los mayores niveles de precipitación. En relación a la textura del suelo se estableció que esta es de tipo franco arenosa. La porosidad del suelo oscilo entre los 44 a 56 %, mientras que la temperatura promedio estuvo alrededor de los 30°C. Así mismo el contenido de materia orgánica (MO) fue mayor en este mes, mientras que los meses de noviembre y diciembre presentaron valores por debajo del 50% con respecto a octubre.

Tabla 2. Valor promedio de los parámetros fisicoquímicos del suelo en el Bosque seco Tropical durante los tres meses muestreados (octubre, noviembre, diciembre).

Parámetro	Octubre	Noviembre	Diciembre
pH	7.522	7.848	7.78
Temperatura °C	29.73	29.68	29.95
Materia orgánica %	0.598	0.403	0.408
Carbono orgánico %	0.356	0.687	0.703
Porosidad %	51.4	44.53	56.73
Nitrógeno total %	0.201	0.254	0.229
Fósforo total mg	21.211	27.148	28.453
Humedad %	13.363	10.036	8.729
Relación C/N	1.771	2.705	3.065
CIC meq/100	2.893	2.96	1.693
Arena%	44.77	43.61	39.47
Arcilla%	19.25	24.78	29.86
Limo%	36.49	31.56	30.66

En contraste con lo anterior, el contenido de carbono orgánico (CO) en el primer mes de muestreo en relación a los otros dos meses, fue el que registró los niveles más bajos, de igual manera sucedió con las concentraciones de nitrógeno total (Nt) y fósforo total (Pt). La capacidad de intercambio catiónico (CIC) registró valores mayores en el mes de noviembre seguido por los meses de octubre y diciembre respectivamente.

Recuento de grupos funcionales de microorganismos

El recuento de las unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC/g de suelo) de las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre fue mayor para el mes de octubre con un valor de $86,0 \times 10^3$ (Figura 3). En el caso de las bacterias simbióticas se evidencia mayor número de colonias para el mes de diciembre con un recuento de 136,13 UFC/g de suelo.

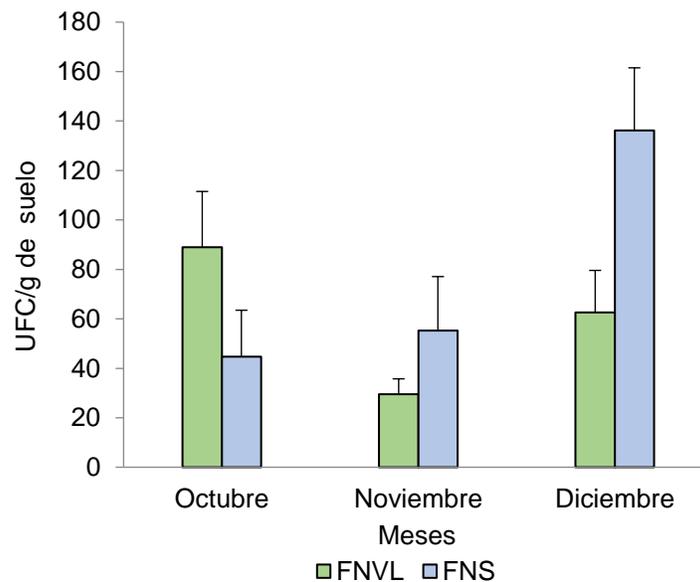


Figura 3. Recuento de UFC/g de suelo de bacterias fijadoras de Nitrógeno de vida libre y simbiótica en el suelo del Bs-T de la Universidad del Magdalena. Las barras corresponden a la media con su respectivo error estándar. FNVL: bacterias fijadoras de nitrógeno de vida libre; FNS: bacterias fijadoras de nitrógeno de vida asociativa.

Las estimaciones de los microorganismos amonificantes arrojaron altas densidades durante el mes de diciembre (2,40 NMP/g), mientras que en el mes de octubre fueron bajas con respecto a los demás meses. Así mismo las bacterias desnitrificantes estuvieron mejor representadas en el mes de diciembre con un recuento poblacional de 0,74 NMP/g; en

contraste las poblaciones proteolíticas registraron valores más altos en el mes de octubre 1,25 NMP/g y un menor valor para el mes de diciembre (Figura 4).

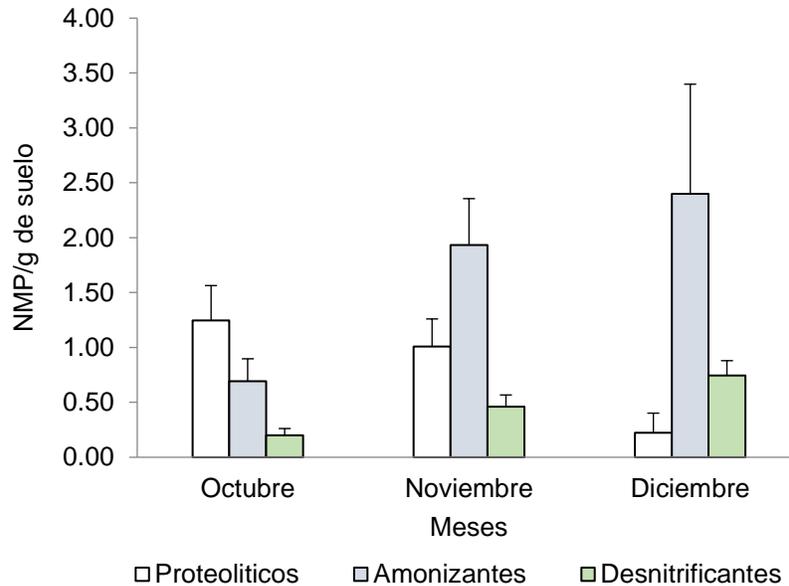


Figura 4. Número más probable (NMP/g de suelo) de los grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno (proteolíticos, amonizantes y desnitrificantes) en el suelo del Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena.

Relación entre variables fisicoquímicas del suelo y grupos funcionales microbianos

Las relaciones entre los grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno y las variables fisicoquímicas se presentan mediante un análisis de redundancia (RDA), el cual conformó cinco grupos correspondientes al número de puntos de muestreos; el RDA representa un ajuste del 85,1% (R^2 ajustado=0,8506) a excepción del grupo 1 (RDA 1). Debido a que ($p < 0,05$) se acepta que existe relación lineal entre las variables fisicoquímicas y los grupos funcionales del nitrógeno evaluados. Así mismo, la proporción de la varianza acumulada de los dos ejes graficados fue de 95,4% (Tabla 3).

Tabla 3. Varianza y valor propio del análisis de Redundancia canónica RDA.

Ejes canónicos	Valor propio	Proporción explicada	Varianza acumulada
RDA 1	0.06256	0.83618	0.83618
RDA 2	0.008817	0.117844	0.954029
RDA 3	0.001007	0.013459	0.967488
RDA 4	0.000690	0.009223	0.976711
RDA 5	0.0001466	0.0019599	0.9786708

En la parte inferior de la Figura 5 (Scaling 1) se destaca una alta correlación positiva entre los grupos funcionales amonificantes (Amon), proteolíticos (Prot) y desnitrificantes (Desn). Del mismo modo, se indican las principales variables que están influyendo en la distribución de estos grupos, tal es el caso de la capacidad de intercambio catiónico (CIC), nitrógeno total (NT), Humedad (Hum) y textura limosa (limo), estas dos últimas variables están caracterizando los sitios (2;11) evaluados dentro del Bs-T.

Los fijadores de nitrógeno no se relacionaron con los demás grupos funcionales, sin embargo, las bacterias fijadoras de vida simbiótica (FNS) se correlacionaron positivamente con la temperatura (T), porosidad (Por), materia orgánica (MO) y el carbono orgánico (CO), del suelo diferenciando los sitios (1;3;6;7;13;14;15) del resto. A su vez el pH y el NT mostraron una relación negativa para este grupo. Para el caso de las bacterias fijadores de vida libre (FNVL) se observó una correlación positiva con el tipo de textura del suelo (arcillosa y arenosa), el pH y NT presentaron una se relación positiva pero no muy marcada, en cuanto a la temperatura y limo se correlacionó negativamente.

Por otro lado, en la parte superior se muestran los valores más altos de contenido de MO y CO, los cuales se correlaciona positivamente con fósforo total (FT) en los sitios (6;13; 14;15). No obstante, estos sitios presentan bajos niveles de CIC y NT; así mismo se observan la relación negativa de la humedad y los suelos de textura arenosa.

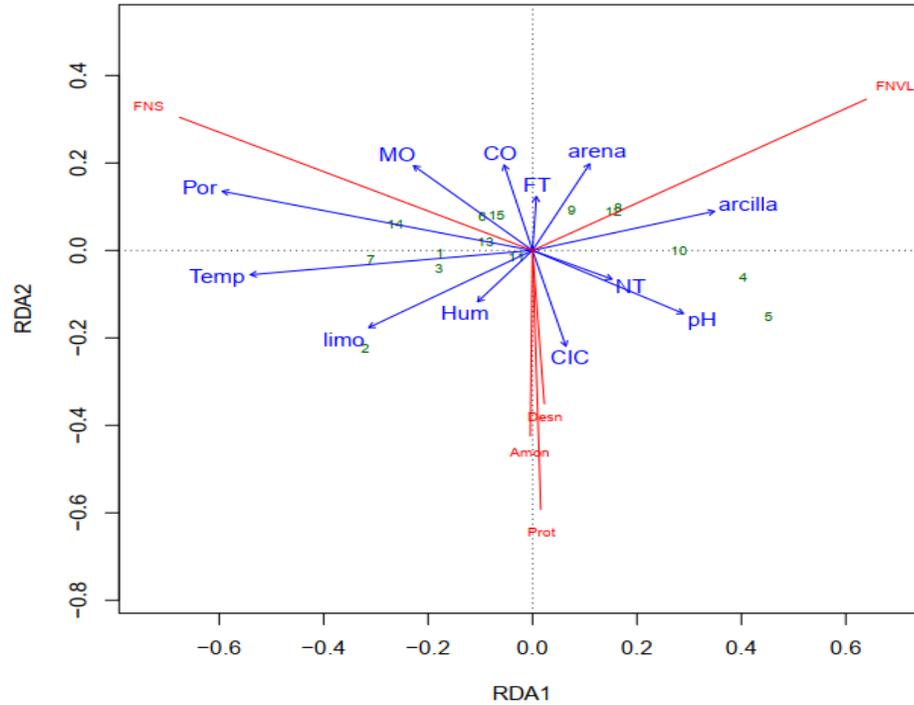


Figura 5. Análisis de redundancia (RDA), triplot para los grupos funcionales microbianos del ciclo nitrógeno. Los vectores indican las variables ambientales: pH, temperatura (Temp), materia orgánica (MO), carbono orgánico (CO), porosidad (Por), capacidad de intercambio catiónico (CIC), nitrógeno total (NT), fósforo total (FT), humedad (Hum), textura (arena, arcilla, limo) en relación con los grupos fijadores del nitrógeno (amonificantes, proteolíticos, desnitrificantes, fijadores de N vida libre y fijadores de N vida simbiótica). Los números representan los puntos de muestreo evaluados en el Bs-T de la Universidad del Magdalena.

La Figura 6 ilustra las características macroscópicas y microscópicas de *Azotobacter spp.*, aislado en las muestras de suelo del Bs-T, el cual se destaca como un buen fijador de nitrógeno de vida libre. Estas bacterias se distinguen por presentar células Gram negativas con forma de cocos o bastones, su morfología puede cambiar según las condiciones de cultivo.

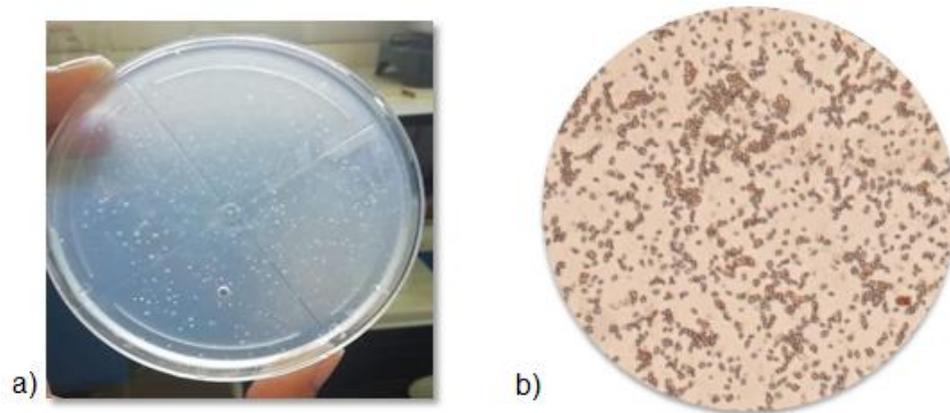


Figura 6. Características morfológicas de *Azotobacter* spp. a) colonias cultivadas en agar Ashby., b) cocobacilos Gram negativos observados a 100X. / Graciani, Ribón, Rocha, Luna, 2020

Discusión

El presente trabajo evaluó los grupos funcionales microbianos relacionadas con el metabolismo edáfico del nitrógeno, generando las primeras aproximaciones del comportamiento de las poblaciones microbianas frente a los diferentes factores fisicoquímicos del suelo, que pueden inhibir o favorecer su desarrollo y abundancia en el suelo de Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena.

En este sentido, se observó una variación de los grupos funcionales microbianos, destacando el recuento de bacterias simbióticas fijadoras de nitrógeno, las cuales exhibieron los promedios poblacionales más altos para el mes de diciembre. Así mismo, las estimaciones de bacterias amonificantes evaluadas con la técnica NMP fueron más altas para este mes, donde se evidenció poca precipitación. Lo que puede deberse al metabolismo aeróbico de estos microorganismos, que son afectados por las condiciones anoxicas del suelo cuando se presentan altos niveles de humedad (Pajares *et al.*, 2018). Sin embargo, Gei & Powers, (2015) en su investigación en suelos de bosque tropical en Guanacaste, Costa Rica, observaron mayor masa de nodulación durante la temporada de lluvias, señalando que la disponibilidad de agua puede ser un factor determinante sobre la nodulación de leguminosas.

Durante los meses de octubre y noviembre se observaron menor densidad de los grupos funcionales microbianos, donde predominaron las bacterias fijadoras de vida libre y proteolíticas, posiblemente por las diversas especies microbianas aeróbicas como anaeróbicas implicadas en este proceso (Mayz-Figueroa, 2004; Cañón *et al.*, 2012).

Estudios realizados en suelos tropicales han reportado un patrón estacional de los grupos bacterianos del nitrógeno; Hernández & Puentes, (2017) observaron mayor densidad de los grupos funcionales del nitrógeno en la época seca en un suelo de Bosque seco del Centro de Investigaciones La Tribuna (Neiva); hecho que atribuyeron a que algunos microorganismos en suelos de bajo contenido de humedad, desarrollan mecanismos de resistencias como las endosporas para solventar las condiciones de sequedad. El crecimiento poblacional de estos grupos funcionales también se ha relacionado con un alto contenido de carbono para esta época, puesto que muchas bacterias del ciclo del nitrógeno son de condición heterótrofa las cuales aumentan con la entrada de la materia orgánica para la temporada seca (García-Oliva *et al.*, 2003; Montañó *et al.*, 2007). En contraste

Singh & Kashyap, (2006) encontraron un aumento del tamaño poblacional de los microorganismos nitrificantes aislados en un suelo de bosque caducifolio (Uttar Pradesh, India) durante el periodo de lluvias, lo que condujo a un mejoramiento de la tasa de mineralización del nitrógeno proporcionando altas cantidades de nutrientes para las plantas. Por su parte Montaña *et al.* (2013) en su trabajo en el suelo del bosque seco de Chamela, México reportaron mayor biomasa de bacterias nitrificantes en los suelos con menor concentración de carbono lábil en la temporada de lluvias, debido a que obtienen la energía a través de la oxidación del amonio y no del carbono orgánico.

De acuerdo con Pajares *et al.* (2018) en su estudio desarrollado en un bosque estacionalmente seco en la península de Yucatán, registraron un aumento general en el potencial de desnitrificación, debido a las condiciones limitantes de oxígeno generadas durante la temporada de lluvia. Caso contrario ocurrió en el presente trabajo, donde se presentaron bajas densidades de bacterias desnitrificantes durante el periodo de muestreo, lo que puede estar sujeto a comportamientos de competencia por nutrientes de las poblaciones microbianas heterótrofas, debido a la cantidad limitada de carbono y nitrógeno, cuando el contenido de agua no es un factor limitante en los suelos tropicales (Beltrán *et al.*, 2017).

El análisis de correlación de los grupos funcionales y los factores ambientales, resaltan principalmente las relaciones positivas entre los grupos bacterianos proteolíticos, amonificantes y desnitrificantes; indicando una posible participación sinérgica de la comunidad microbiana, que provee mecanismos de metabolismo (Beltrán & Lizarazo, 2013). En otros ecosistemas se han documentado relaciones similares, por su parte Cañón *et al.* (2012) en su investigación sobre microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno en suelo bajo tres sistemas de uso (Cultivo de papa, ganadería y Paramo), en el Parque Nacional Natural los Nevados, Colombia; demostró que las bacterias proteolíticas intervienen en el primer paso de mineralización del nitrógeno, degradando la materia orgánica del suelo en compuestos nitrogenados como aminoácidos, que posteriormente serán transformados por bacterias amonificantes en fragmentos que puedan ser rápidamente asimilados por otros microorganismos encargados de la nitrificación y desnitrificación (Zimmerman *et al.*, 2007); este último considerado como uno de los procesos más importantes del ciclo, que devuelve el nitrógeno a la atmósfera por medio de la respiración microbiana dando lugar a la reducción desasimilatoria del nitrito (NO_2^-) y el nitrato (NO_3^-) a óxido nitroso (N_2O) y nitrógeno molecular (N_2) (Simón *et al.*, 2002).

El contenido de humedad en el suelo puede explicar la abundancia de los grupos funcionales, puesto que, el exceso de agua propicia la deficiencia de oxígeno, generando las condiciones ideales para las bacterias desnitrificantes de metabolismo anaeróbico. No obstante, el déficit hídrico disminuye la tasa de mineralización del nitrógeno, por lo que incide en la difusión de solutos y la distribución de los productos de la actividad metabólica de los microorganismos (Ramos & Zúñiga, 2008). En este sentido, Cañón *et al.* (2012) observaron bajas densidades de bacterias proteolíticas y amonificantes debido a que, su crecimiento fue inhibido por la disminución del espacio poroso al aumentar los niveles de humedad en el suelo, puesto que estas bacterias son de preferencia aeróbicas. Lo anterior explica las correlaciones observadas de los grupos proteolíticos, amonificantes y desnitrificantes con este parámetro. Simultáneamente, estas poblaciones se asociaron positivamente con el tipo de textura limosa del suelo, el cual posee la capacidad de retener agua y nutrientes proporcionando mayores recursos a los microorganismos (Simón *et al.*, 2013).

Los microorganismos fijadores de nitrógeno de vida libre mostraron una relación marcada con el porcentaje de arcilla, debido a que estos suelos presentan mayores niveles de materia orgánica y retención de nitrógeno (Marschner *et al.*, 2001; Celaya & Castellanos, 2011), dando como resultado una mayor colonización por estas bacterias. Sin embargo, Matus & Maire, (2000) señalaron que la tasa de mineralización del carbono y el nitrógeno están más relacionadas con el contenido de carbono orgánico que con los agregados que conforman la textura del suelo (limo, arena y arcilla).

En relación con el pH, Ramos & Zúñiga, (2008) en un estudio sobre los efectos de la humedad, temperatura, y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio, registraron mayor actividad microbiana a medida que éste se acercaba a la neutralidad (7,8), concluyendo que a valores de pH 4,0; 6,1 y 8,2 la actividad microbiana desciende significativamente. De igual modo Waring *et al.* (2016) en su estudio sobre tres tipos de bosque seco tropical en Costa Rica, para determinar la variación dependiente de la escala en el ciclo del nitrógeno y las comunidades de hongos establecieron que la variación del nitrógeno podría estar relacionada con variables abióticas tales como el pH, la temperatura y la humedad. Sin embargo, en el presente estudio el pH no se presentó como una variable determinante para el crecimiento de las poblaciones microbianas, a excepción de las bacterias de vida simbiótica donde la correlación fue negativa, lo cual resulta ser afín a los resultados obtenidos en estudios realizados en otros ecosistemas, como lo reporta Bello

et al. (2014) a través de su investigación sobre diazótrofos en cultivos de papa en Boyacá, quienes señalaron que el pH no fue un factor limitante para la actividad microbiana.

En un estudio realizado en Michigan (EE. UU.) por Yermakov & Rothstein, (2006) Indicaron que la tasa de ciclaje del nitrógeno estaban reguladas por la temperatura del suelo y las altas cantidades de cationes intercambiables, propiciando las condiciones favorables para la actividad microbiana. Sin embargo, la temperatura del suelo no fue un factor determinante para el establecimiento de estos grupos, debido a que en las zonas tropicales las variaciones de temperaturas son pocas, a diferencia de las bacterias fijadoras nitrógeno de vida simbiótica, quienes mostraron una correlación con la temperatura del suelo. Calvo, (2011) en su investigación señaló la temperatura como un factor que afecta de manera indirecta la simbiosis, debido a que altas temperaturas hacen que la asociación de bacteria y plantas sea menor por el contrario temperaturas inferiores a los 7 °C hacen que la nodulación sea inexistente.

En cuanto a los resultados obtenidos en el contenido de materia orgánica y porosidad del suelo, estas variables fueron las que mejor se asociaron con las bacterias fijadoras de nitrógeno de vida simbiótica. Lo contrario ocurrió con el nitrógeno total del suelo, el cual se correlacionó negativamente con el mismo grupo de microorganismos, esto puede ocurrir debido a que estas bacterias emplean en gran medida la materia orgánica o exudados radiculares como fuentes de carbono, fácilmente accesibles e incorporados en el metabolismo celular (Mayz-Figueroa, 2004).

En general las poblaciones de bacterias simbióticas fueron las más abundantes durante el estudio, posiblemente por el gran número de especies leguminosas (Fabaceae) presentes en el relicto boscoso de la Universidad del Magdalena, tales como: *Acacia tamarindifolia*, *Albizia niopoides*, *Albizia saman*, *Alysicarpus vaginalis*, *Caesalpinia punctata*, *Colindará magdalenae*, *Pithecellobium roseum* (Barranco et al., 2016).

Algunos estudios revelan el efecto de las especies vegetales dominantes en los ecosistemas forestales; Díaz et al., (2017) evaluaron tres especies de fabáceas tropicales fijadoras de nitrógeno (*Phaseolus vulgaris*, *Canavalia ensiformis* y *Clitoria ternatea*) en suelos tropicales y su efectos significativos sobre el aporte de N y P en el suelo, siendo *Canavalia ensiformis* y *Clitoria ternatea* las que presentaron mayor desarrollo en biomasa favoreciendo significativamente el aporte de N y P en el suelo. Menge et al. (2019) estudiaron los patrones de abundancia de árboles fijadores de nitrógeno en los bosques

tropicales de Asia y América en el cual, indicaron que los niveles de nitrógeno en los bosques dependen de la fijación simbiótica, la cual se ve limitada por la abundancia de árboles.

De tal manera que las determinaciones de los grupos funcionales microbianos realizadas, se relacionaron positivamente con la naturaleza fisicoquímica del suelo, debido las variaciones climatológicas durante el periodo de muestreo, dicho evento podría representar una fuente de nitrógeno disponible y fácilmente asimilable para el beneficio del suelo del Bs-T. De manera que las especies vegetales podrían hacer uso del nitrógeno que queda disponible por parte de la comunidad microbiana.

Conclusiones

Los grupos funcionales microbianos del ciclo del nitrógeno (bacterias fijadoras de nitrógeno, microorganismos proteolíticos, amonizantes y desnitrificantes) evaluados en el Bosque seco Tropical de la Universidad del Magdalena mostraron variaciones en las densidades poblacionales, relacionadas con las propiedades fisicoquímicas del suelo y con

la estacionalidad pluviométrica registrada durante el estudio; lo que produce cambios o modificaciones en la estabilidad nutricional del suelo del Bs-T.

Los microorganismos fijadores de vida simbiótica y los amonificantes mostraron mayor crecimiento en la época seca, caso contrario ocurrió con los fijadores de vida libre y proteolíticos, quienes mostraron su mayor crecimiento en la época lluviosa. El flujo del nitrógeno y la actividad microbiana del Bosque Seco Tropical en relación con los parámetros fisicoquímicos y el comportamiento pluviométrico podría representar una fuente considerable de nitrógeno para las especies vegetales presentes en el relicto boscoso. De manera que los grupos funcionales microbianos pueden estar realizando actividades degradativas, permitiendo así la movilidad del nitrógeno gracias a las entidades microbianas que están en función de este.

A través del análisis de redundancia (RDA) realizado entre las comunidades microbianas relacionadas con el ciclo del nitrógeno y los parámetros fisicoquímicos del suelo, se pudieron observar relaciones positivas, así mismo, relaciones antagónicas entre las que destacan, la de los microorganismos amonizantes, proteolíticos y desnitrificantes con parámetros como fósforo total y carbono orgánico, fijadores de vida libre con humedad y fijadores de vida simbiótica con el pH. Por todo lo anterior se sugiere que el flujo de este nutriente en el suelo del Bs-T es de carácter secuencial y dependiente del funcionamiento de cada uno de los grupos microbianos evaluados.

Recomendaciones

Se recomienda adelantar estudios encaminados a la evaluación de los grupos funcionales relacionados con los ciclos del carbono y fósforo, de esta manera se tendría una base sólida y complementaria al estudio realizado con los microorganismos del nitrógeno, lo que permitiría predecir ampliamente el funcionamiento nutricional del suelo del Bs-T.

Así mismo, se exhorta a realizar la exploración y funcionamiento de bacterias promotoras de crecimiento vegetal relacionadas especies vegetales del Bs-T, ya que esto facilitaría

entender el comportamiento de las comunidades microbianas con el desarrollo foliar del bosque.

Referencias bibliográficas

- Alexander, M. (1982). **Most probable number method for microbial populations**. In: Page, A.L. (Ed). Methods of soil. Soil Science Society of America, Inc. Publisher. Madison, WI.
- Amaya, J. C. (2014). Análisis cualitativo de las estrategias de restauración en bosque seco tropical en los departamentos del Huila y la Guajira. **Universidad Libre de Colombia**, 51p.
- Aristizábal, F., y Cerón, L. (2012). Dinámica del ciclo del nitrógeno y fósforo en suelos. **Revista colombiana de biotecnología** Volumen 14, Número 1, p. 2012. ISSN electrónico 1909-8758. ISSN impreso 0123-3475., 14(1), 285-295.
- Barranco, W., Castellanos, J., García, H., y Yepes, D. (2016). Florula de un fragmento urbano de bosque seco natural. **Revista de la facultad de ciencias**, 5(1), 141-147.
- Bello, O., García, J., y Cuervo, W. (2014). Cuantificación de diazótrofos en la rizósfera del olivo (*Olea europaea* L.) cultivado en Boyacá, Colombia. **Agroecología y Sistemas de Uso del Suelo**, 65 (2) 109-115.
- Beltrán, M., Rocha, Z., Bernal, A., y Pita Morales, L. (2017). Microorganismos funcionales en suelos con y sin revegetalización en el municipio de Villa de Leyva, Boyacá. **Colombia Forestal**, 20(2), 158-170.
- Beltrán, M., y Lizarazo, L. (2013). Grupos funcionales de microorganismos en suelos de páramo afectados por incendios forestales. **Revista de Ciencias** 17 (2), 121-136.
- Calvo, S. (2011). Bacterias simbióticas fijadoras de Nitrógeno. **Universidad de Salamanca**, 173-186
- Cañón, R., Avellaneda, L., y Torres, E. (2012). Microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno en suelos bajo tres sistemas de uso: Cultivo de papa, ganadería y páramo, en el Parque Los Nevados, Colombia. **Acta agronómica**, vol. 61, núm. 4, 2012, 371-379.
- Celaya, H., & Castellanos, A. (2011). Mineralización de Nitrógeno en el suelo en zonas áridas y semiáridas. **Tierra latinoamericana**, volumen 29(3), 343-356.
- Díaz, J. (2006). **Bosque Seco Tropical, Colombia**. Cali, Colombia: Banco de Occidente.

- Díaz, L., Vázquez, D., Jarquín, A., Velázquez, A., y Lara, D. et al. (2017). Especies tropicales (Fabaceae): Inversión asociada al aporte rizosférico de nitrógeno y fósforo al suelo. ***Agroproductividad***, 10(12), 116-121.
- Eaton, W. (2001). Actividad microbiana y de nutrientes en suelos de tres hábitats forestales subtropicales diferentes en Belice, Centroamérica antes y durante la transición de la estación seca a la húmeda. ***Ecología aplicada del suelo: una sección de agricultura, ecosistemas y medio ambiente***, 219-227.
- Flórez, N., y Uribe, D. (2011). Biological and Physicochemical Parameters Related to the Nitrogen Cycle in the Rhizospheric Soil of Native Potato (*Solanum phureja*) Crops of Colombia. ***Applied and Environmental Soil Science***, ID 847940, 10 pages.
- Fuka, M., Engel, M., Gattinger, A., Bausenwein, U., Sommer, M., Munch, J., y Schloter, M. (2008). Factors influencing variability of proteolytic genes and activities in arable soils. ***Soil Biology & biochemistry***, 40, 1646-1653.
- García-Oliva, F., Oliva, M., y Sveshtarova, B. (2003). Effect of soil macroaggregates crushing on C mineralization in a tropical deciduous forest ecosystem in western Mexico. ***Journal of Tropical Ecology*** 19, 179-188.
- Gei, M., & Powers, J. (2015). The influence of seasonality and species effects on surface fine roots and nodulation in tropical legume tree plantations. *Plant Soil* 388, 187-196.
- Ginovart, M., López, D., y Gras, A. (2005). Individual-based Modelling of microbial activity to study mineralization of C and N and nitrification process in soil. ***"Nonlinear analysis: real world applications"***, vol. 6, p. 773-795.
- Google Earth. (2020). Fotografía aérea Campus Universidad del Magdalena. Consultado: 15 de julio de 2020.
- Grahmann et al. (2013). Nitrogen use efficiency and optimization of nitrogen fertilization in conservation. ***CAB Reviews*** 8, No. 053, en línea ISSN 1749-8848.
- Grandett et al. (2015). Efecto de la actividad microbiana sobre la nitrificación en suelos cultivados con *Brachiaria humidicola* (Rendle) Schweicerdt en Cereté, Córdoba. ***Temas Agrarios*** Volumen 20(2), 9-18.

- Halbleib, C., y Ludden, P. (2000). **Regulation of biological nitrogen fixation**. The journal of nutrition, 1081-1084.
- Hayatsu, M., Tago, K., y Saito, Masanori (2008). Various players in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification. **Soil Science and Plant Nutrition** Volumen 54, 33-45.
- IGAC. (2006). **Métodos analíticos del Laboratorio de Suelos**. Bogotá.
- Lee, S., Flores. E., Contreras, M., García, I., Escamilla, J., y Kennedy, C. (2004). Indole-3-Acetic Acid Biosynthesis Is Deficient in *Gluconacetobacter diazotrophicus* Strains with Mutations in Cytochrome c Biogenesis Genes. **Journal of bacteriology**, 186 (16) 5384-5391.
- Levine, M. (1953). **An introduction to laboratory technique in bacteriology**. Nueva York: 3rd ed. The Macmillan Company.
- Lobato, R. (2003). **Mapa taxonómico de los suelos de la Universidad del Magdalena**. Santa Marta: Unimagdalena 36p.
- Luna, J. (2020). **Métodos analíticos de microbiología general y aplicada**. Santa Marta: Unimagdalena 174p.
- Marschner, P., Yang, C., Lieberei, R., y Crowley, D. (2001). Soil and plant specific effects on bacterial community composition in the rhizosphere. **Soil biology and biochemistry**, volume 33, 1437-1445.
- Matus, F., & Maire, C. (2000). Relación entre la materia orgánica del suelo, textura del suelo y tasas de mineralización de carbono y nitrógeno. **Agricultura técnica**, 60(2), 112-126.
- Mayz-Figueroa, J. (2004). Fijación biológica del nitrógeno. **Revista Científica UDO Agrícola**, ISSN-e 1317-9152, Vol. 4, Nº. 1, 2004, 1-20.
- Menge, D., Chisholm, R., Davies, S., Abu Salim, K., Allen, D., Álvarez, M., y Cao, M. (2019). Patrones de abundancia de árboles fijadores de nitrógeno en los bosques de Asia y América. **Revista de Ecología**, 107(6), 2598-2610.
- Montaño, N., García-Oliva, F., y Jaramillo, V. (2007). Dissolved organic carbon affects soil microbial and. **Plant soil**, 295(1), 265-277.

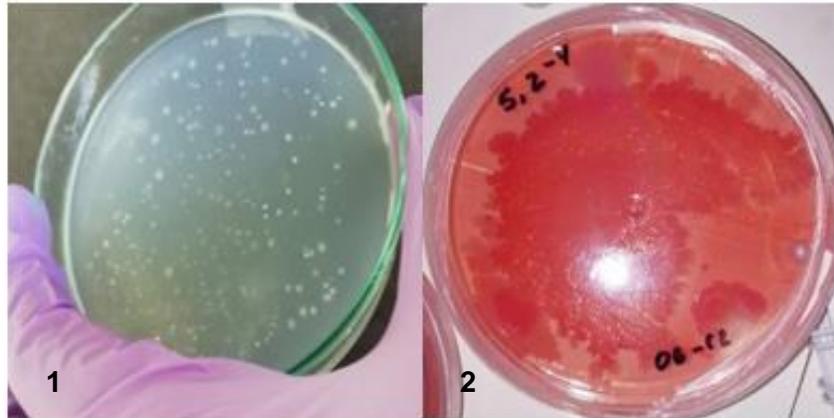
- Montaño, N., Sandoval-Pérez, A., García-Oliva, F., Larsen, J., y Gavito, M. (2009). Microbial activity in contrasting conditions of soil C and N availability in a tropical dry forest. ***Journal of Tropical Ecology***, 401-413.
- Montaño, N., Sandoval, A., Camargo, S., y Sánchez, j. (2010). Los microorganismos: Pequeños gigantes. ***Ciencia y cultura***, Vol. 17, Núm. 77, 15-23.
- Montaño, N., Sandoval, A., Sánchez, j., y García-Oliva, F. (2013). Variación espacial y estacional de grupos funcionales de bacterias. ***Biología tropical***, ISSN-0034-7744) Vol. 61 (1): 439-453.
- Nessler, J. (1856). ***Reactions of Nessler's solutions***. Alemania: Chem centr.
- Pacheco, J., Pat, R., y Cabrerías, A. (2002). Análisis del ciclo del nitrógeno en el medio ambiente con relación al agua subterránea y su efecto en los seres vivos. ***Ingeniería***, 6 (3), 73-81.
- Pajares, S., Campo, J., Bohannan, B., y Etchevers, E. (2018). Environmental controls on soil microbial communities in a seasonally dry tropical forest. *Applied and environmental microbiology* 84(17).
- Paredes, D., Kuschik, P., Mbwette, T., Stange, F., Müller., y Köser, H. (2007). New aspects of microbial nitrogen transformations in the context of wastewater treatment. ***Engineering in life sciences***, 7(1): 13-25.
- Ramos, E., & Zúñiga, D. (2008). Efectos de la humedad, temperatura, y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. ***Ecología aplicada*** 7(1.2), 123-130.
- Rangel, J., y Garzón, C. (1995). Sierra Nevada de Santa Marta-Colombia (Con énfasis en la parte norte Transepto del Río Buritaca - La Cumbre). ***Colombia diversidad biótica***, Instituto de Ciencias Naturales, Bogotá, DC, 155-170.
- Reyes, I., y Valeri, A. (2007). Efecto de la fertilidad del suelo sobre la microbiota y la promoción del crecimiento del maíz (*Zea mays L.*) con *Azotobacter spp.* ***Bioagro***, 19(3), 117-126.
- Rodríguez, N., Toro, C., Martínez, M., y Mercado, M. (2007). Estandarización de condiciones para la prueba cuantitativa de NMP con bacterias nitrificantes y denitrificantes usando como matriz compost. ***Universitas Scientiarum***, Volumen 12 N° 2, 69-81.

- Rojano, K., & España, C. (2013). Estructura y cambio de la cobertura vegetal presente en la parcela permanente del campus de la Universidad del Magdalena, Santa Marta Colombia. **Universidad del Magdalena**, 47.
- Sánchez, J., y Sanabria, J. (2009). Metabolismos microbianos involucrados en procesos avanzados para la remoción de Nitrógeno, una revisión prospectiva. **Revista Colombiana de Biotecnología**, vol. XI, núm. 1, julio, 2009, pp. 114-124.
- Saynes, V., Hidalgo, C., Etchvers, J., y Campo, J. (2005). Soil C and N dynamics in primary and secondary seasonally dry tropical forests in Mexico. **Applied Soil Ecology** 29(3), 282-289.
- Simón, M., Perelló, A., Cordo, C., y Struik, P. (2002). Influence of *Septoria tritici* on Yield, Yield Components, and Test Weight of Wheat under Two Nitrogen Fertilization Conditions. **Crop science**, Vol. 42, 1974-1981.
- Simón, M., Peralta, N., y Costa, J. (2013). Relación entre la conductividad eléctrica aparente con propiedades del suelo y nutrientes. *Ciencia del suelo*, 45-55.
- Singh, J., y Kashyap, A. (2006). Dynamics of viable nitrifer community N mineralization and nitrification in seasonally dry tropical forest and savanna. **Microbiological Research**, 161, 169-179.
- Strewe, R., Villa, C., Álzate, J., Beltrán, J., Moya, J., Navarro, C., y Utria, G. (2009). Las aves del campus de La Universidad del Magdalena, Santa Marta Colombia. **Intrópica**, 79-91.
- Ticona, C. (2018). Análisis comparativo de macronutrientes NPK y Materia orgánica en suelos. **Revista de la Carrera de Ingeniería Agronómica – UMSA**.
- Tiedje, J. (1982). **Denitrification, Soil analysis methods**. East leasing, Michigan.
- Ureta, A., y Nordlund, S. (2002). Evidence for Conformational Protection of Nitrogenase against oxygen in *Gluconacetobacter diazotrophicus* by a putative FeSII protein. **Journal of bacteriology**, 184 (20), 5805-5809.
- Vásquez, J., Baena, D., y Menjivar, J., (2010). Variabilidad espacial de propiedades físicas y químicas en suelos de la granja experimental de la Universidad del Magdalena (Santa Marta, Colombia). *Acta Agronómica Volumen* 59(4), 449-456.

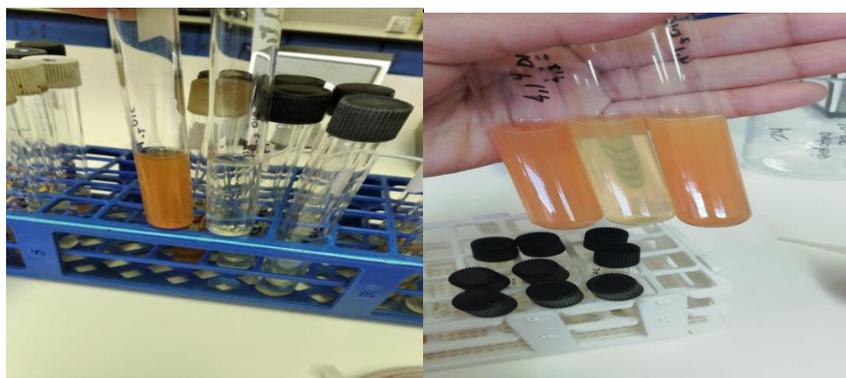
- Vincent, J. (1970). ***A manual for the practical study of root-nodule bacteria***. Oxford [Published for the] International Biological Programme [by] Blackwell Scientific, 1970.
- Vitousek, P., Cassman, K., Cleveland, C., Crews, t., Field, C., Grimm, N., Howat, R., Marino, R., Martinelli, L., Rastetter, E., y Sprent, J. (2002). ***Hacia una comprensión ecológica de la fijación biológica de nitrógeno***. En: Boyer EW, Howarth RW (eds) El ciclo del nitrógeno en escalas regionales a globales. Springer, Dordrecht, 1-45.
- Waring, B., Adams, R., Braco, S., y Powers, J. (2016). Scale-dependent variation in nitrogen cycling and soil fungal communities along gradients of forest composition and age in regenerating tropical dry forests. ***New phytologist*** (209), 845-854.
- Wen, C., Zhi, M., Jiao, Y., Min, L., Zhu, D., Mei, L., Tao, Y., y Bo, H. (2012). Changes in non-symbiotic nitrogen-fixing bacteria inhabiting rhizosphere soils of an invasive plant Ageratina. ***Applied Soil Ecology***, 54, 32-38.
- Yermakov, Z., & Rothstein, D. (2006). Changes in soil carbon and nitrogen cycling along a 72-year wildfire chronosequence in Michigan jack pine forests. ***Ecosistem ecology***, 690-700.
- Yuan, Z., Oehmen, A., Peng, Y., Ma, Y., Keller, j., (2008). Sludge population optimization in biological nutrient removal. ***Enviromental Scieinc Biotechnology, Technology*** 7 (3): 243-254.
- Zimmerman, M., Leidefld, J., y Fuhrer, J. (2007). Quantifying soil organic fractions by infrared-spectroscopy. ***Soil Biology y Biochemistry***, 39, 224-231.

Anexos

Anexo A. Crecimiento de bacterias fijadoras de nitrógeno en medio de cultivo ashby (1) (bacterias de vida libre) y agar Rojo Congo Manitol (2) (bacterias simbióticas).



Anexo B. Revelación de microorganismos amonizantes sembrados en caldo asparagina, la determinación del crecimiento se realiza a través de el reactivo de Nessler, la coloración naranja significa crecimiento positivo, mientras que los incoloros se toman como negativo para crecimiento microbiano.



Anexo C. Coeficientes canónicos del RDA

	RDA1	RDA2	RDA3	RDA4	RDA5
pH	0,621829145	-1,2683955	-1,31238877	1,41243183	0,391901296
Temp	-0,190963937	-0,21301516	-0,11717809	0,15435479	0,095049991
MO	-0,883001565	2,24400493	-0,6312706	2,77882546	0,09911084
CO	2,560512261	2,20352151	0,44637987	-2,00113402	-0,387399324
Por	-0,006304411	-0,01239186	-0,01215761	-0,02938284	0,000312034
CIC	0,551222348	1,7434053	0,10448075	-0,06227051	-0,267261512
NT	-1,238826632	-2,05933316	-10,99003262	0,3510348	23,68397133
FT	-0,090884933	0,26764502	-0,10587674	0,02055406	0,281413199
Hum	0,040208347	0,04757584	-0,05713668	-0,02386251	-0,028303745
Arena	-0,154871268	-0,15387267	0,15277502	0,11881944	0,260527403
Arcilla	-0,148822652	-0,22463049	0,12434389	0,11716171	0,248019167
Limo	-0,206050178	-0,24377163	0,17142	0,13497694	0,291384697

Anexo D. Triplot de RDA scaling 2 para los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno y los parámetros fisicoquímicos.

