

## Diversidad funcional de seis grupos de microorganismos del suelo en seis ecosistemas venezolanos\*

María Ofelia OROZCO\*, Marcia MEDINA\*, Margarita RUIZ\* y Ana VELAZCO\*†.

**ABSTRACT.** It was studied the functional diversity of six microbial physiological groups from the soil: heterotrophic bacteria; actinomyces; fungi; diazotrophic bacteria; inorganic phosphate solubilizing bacteria (PSB) and cellulolytic bacteria in six Venezuelan ecosystems: open savannah; cloudy forest (SN); cloudy grassland; Andean paramo and desert paramo. The altitudinal gradation was from 200 up to 4200 m asl. Samples were taken twice, during rainy season and less rainy season. In the desert paramo and savannahs the total heterotrophic bacteria countings were in  $10^5$  order. The microbial populations studied are present in acidic conditions (pH values less than 5). The best balance of the physiological groups was found during the less rainy season in the cloud montane forest fallow by its restore grassland. Along the altitudinal gradient did not show a single tendency for all microbial populations. PSB, cellulolytic bacteria and fungi, showed very low proportions in the desert paramo, it was not the same concerning the actinomyces and the diazotrophic bacteria. The percentage of PSB related to the total number of microorganisms was 9 and 34% for the less raining season and raining season respectively. Mostly the variation of the studied microorganisms was linked to the soil humidity relative content.

**KEY WORDS.** microbial functional diversity, microorganisms, altitudinal gradation, microbial ecology, Andes.

### INTRODUCCIÓN

Actualmente constituye una prioridad para los especialistas dedicados al estudio de la diversidad biológica, aquellas investigaciones que abordan la diversidad microbiana, sobre todo como herramienta para evaluar el funcionamiento de la comunidad microbiana en los más diversos ambientes (Bull *et al.*, 2000).

Existen numerosas relaciones, simbióticas ó antagónicas, entre los grupos de microorganismos: bacterias, actinomicetos y hongos; los cuales hacen del suelo una compleja red de interrelaciones biológicas (Fernández y Novo, 1988). El suelo es un medio altamente dinámico donde los nutrientes varían su disponibilidad para las plantas y estas fluctuaciones dependen de factores bióticos y abióticos. La microbiota microbiana juega un papel muy importante en la transformación de los elementos en el suelo y, como resultado de la expresión de su información genética, los microorganismos presentan variantes metabólicas que condicionan sus necesidades nutricionales y la capacidad de adaptación al medio.

La microbiota del suelo juega un papel importante con relación a la fertilidad del suelo y el crecimiento de las plantas, debido entre otras razones, a su participación en los ciclos de nutrientes (Alexander, 1967; Díaz-Raviña *et al.*, 1993). También las comunidades microbianas tienen una importante participación en la formación y estabilización de los agregados del suelo (Brussard y Kooistra, 1993; Orozco *et al.*, 2001).

Entre los microorganismos, las bacterias son las que poseen mayores capacidades enzimáticas, son nutricionalmente muy diversas y metabolizan gran variedad de sustratos. Su capacidad reproductiva y resistencia al ambiente les permite realizar distintas funciones en el suelo, como la fijación del nitrógeno atmosférico y la transformación de compuestos de azufre, de hierro y una gran cantidad de compuestos de carbono (Rodríguez *et al.*, 1989).

En Venezuela, el Grupo de Ecología Vegetal de la Universidad de Los Andes en el Estado de Mérida, desde

hace varios años se esta desarrollando un programa de investigaciones con el objetivo de encontrar una metodología que permita una interpretación integrada de los sistemas ecológicos y agroecológicos adaptada a la realidad de la alta montaña tropical (Ataroff, 1986).

Sin embargo a pesar de la valiosa información acumulada, no se ha abordado el estudio integral de las comunidades microbianas de estos suelos, por lo que no existe ninguna referencia previa sobre este tópico.

El presente trabajo tiene por objetivo investigar la diversidad funcional de algunos grupos fisiológicos de la microbiota microbiana del suelo, a través de un gradiente altitudinal y del contraste entre dos variantes estacionales y topográficas, en diferentes ecosistemas venezolanos.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Áreas de estudio.** Las áreas estudiadas se encuentran ubicadas en ecosistemas de páramo, selva nublada y sabana, cuyas características generales aparecen en la Tabla 1. El gradiente altitudinal abarcó desde 200 hasta 4200 m snm.

Cada una de las áreas fue muestreada en dos estaciones, lluviosa y menos lluviosa y en cada caso se tomaron las muestras considerando dos variantes topográficas determinadas por ambientes contrastantes en relación con la humedad del suelo (H). Es decir se seleccionaron sitios más expuestos a las radiaciones solares, con una topografía más convexa correspondiente a ambientes menos protegidos (definida como variante CXA) y cóncava correspondiente a ambientes más protegidos, menos expuestos a las radiaciones solares (definidas como variante CVA).

#### Breve descripción de las áreas:

**Páramo Desértico.** Las dos variantes topográficas seleccionadas convexa (PDCXA: con una pendiente de 25 a 35%) y cóncava (PDCVA: situada en un fondo de valle) se hallan situadas en el área de Mifafi ( $8^{\circ} 52' N$  y  $70^{\circ} 48' W$ ), en la ruta hacia Timotes, a 4 km. al norte de Pico El Águila, Sierra de La Culata, Estado de Mérida, Venezuela. Estos páramos

\*Manuscrito aprobado en Diciembre del 2006.

\*\*Instituto de Ecología y Sistemática, A. P. 8029, C. P. 10800, La Habana, Cuba.

desérticos se sitúan entre 4 200 y 4 000 m snm, con 2.8°C y 798 mm como media anual para la temperatura y precipitaciones respectivamente. Fluctuaciones extremas de las variables ambientales con relación al día y la noche son típicas de esta área (Monasterio, 1980). La vegetación es la típica de los páramos, caracterizada por la presencia de individuos de *Espeletia timotensis* Cuatr., siendo la densidad de la vegetación y número de especies considerablemente mayor en la variante cóncava, mientras que en la convexa los individuos de *E. timotensis* crecen aislados sin vegetación entre los mismos. El sustrato predominante está constituido por depósitos coluviales con gravas angulosas de 2 a 20 cm; se trata de suelos esqueléticos, y móviles en las superficies no cubiertas por la vegetación debido a los procesos criopedológicos (Monasterio, 1980).

**Páramo Andino.** Las dos variantes topográficas seleccionadas convexa (PACXA: con una pendiente menor de 25%, en una ladera con depósitos coluviales) y cóncava (PACVA: situada en un fondo de valle amplio sobre depósitos aluviales: terrazas y conos) se hallan situadas en el área de Mucubají (8° 48' N y 70° 49' W), en la ruta hacia Santo Domingo, Parque Nacional Sierra Nevada, Estado Mérida, Venezuela. El área de estudio se encuentra a 3 400 m snm, con 5.4°C y 968 mm como media anual para la temperatura y precipitaciones respectivamente. Las formaciones vegetales predominantes en el área son el rosetal-arbustal característico del piso andino (Monasterio, 1980), y el pastizal estacional paramero. La vegetación es reconocida como páramo andino típico, y se distribuye en general entre 3 000 y 3 800 m snm. Las áreas ocupadas por el rosetal-arbustal están dominadas por *Espeletia schultzei* Wedd. e *Hypericum laricifolium* Juss., mientras que en las zonas más bajas se establecen pastizales estacionalmente inundables compuestos principalmente por gramíneas y ciperáceas.

Los suelos de los páramos se consideran jóvenes con muy baja disponibilidad de nutrientes, lo cual constituye una limitación para el establecimiento de las plantas (Monasterio y Sarmiento, 1991). Estos suelos son de ácidos a muy ácidos, con niveles de fósforo disponible muy bajos (Malagón, 1982), clasificados como Inceptisoles, poco evolucionados y poco profundos con alto contenido de materia orgánica y pedregosidad elevada. Al igual que en el páramo desértico, fluctuaciones extremas de variables ambientales con relación al día y la noche son típicas de esta área (Monasterio, 1980).

**Selva Nublada.** Las dos variantes topográficas seleccionadas convexa (SNCXA) y cóncava (SNCVA) se hallan situadas en un área de monitoreo ecológico, dentro del sector denominado La Mucuy (8° 38' N y 71° 02' W), en el Parque Nacional de Sierra Nevada, a 12 km al este de la ciudad de Mérida por la carretera de Apartaderos. El área se sitúa entre 2 300-2 400 m snm, con temperatura de 14°C y entre 1 700-3 500 mm como media anual para la temperatura y precipitaciones respectivamente (Ataroff y Rada, 2000). El ambiente es muy húmedo con alta frecuencia de nubes bajas o neblinas. Las precipitaciones se distribuyen en un régimen tetraestacional o bimodal, presentando picos de precipitación para los meses de mayo y octubre, sin períodos climáticamente secos. La cobertura vegetal corresponde a la selva nublada montana alta andina (Ataroff, 2001),

caracterizada por una alta diversidad de especies vegetales con más de 50 especies arbóreas por hectárea, y árboles con alturas de 25 m entre los que se destacan: *Guettarda steyermarkii* Standley, *Clusia multiflora* H.B.H., *Oreopanax moritzii* Harms., *Sapium stylare* Muell. Arg., *Billia columbiana* Planch. et Linden, y *Laplacea fruticosa* (Schrad.) Kobuski. Además 20 spp. de trepadoras y 40 spp. de epífitas vasculares. Las pendientes se encuentran entre 40 y 80%, con posición de ladera orientada en sentido NW.

Los suelos pertenecen al orden de los Entisoles (*Psammets udipsammets*) y presentan 3 horizontes bien definidos, de textura franco arenosa, con un mayor contenido de materia orgánica en el horizonte A1 (W. Franco y L. Lugo, com. pers.)

**Pastizal de Reemplazo de Selva Nublada.** Las dos variantes topográficas seleccionadas convexa (PSNCXA) y cóncava (PSNCVA) al igual que en el caso anterior se hallan situadas en un área de monitoreo ecológico, dentro del sector denominado La Mucuy (8° 38' N y 71° 02' W), en el Parque Nacional de Sierra Nevada. Las dos parcelas del pastizal de reemplazo pertenecen a la finca nombrada Agropecuaria La Isla, (situadas muy cerca de las parcelas seleccionadas en la selva nublada) donde la vegetación está compuesta principalmente de *Pennisetum clandestinum* Hochst. ex Chiov. (yerba kukuyo). Las características climatológicas son similares a la selva nublada. Los suelos pertenecen al orden de los Entisoles (*Psammets udipsammets*) y presentan 2 horizontes bien definidos, de textura franco arenosa, sin la presencia del horizonte A1 que se observa en la parcela de selva (W. Franco y L. Lugo, com. pers.)

**Sabana Tropical Abierta.** Las dos variantes topográficas seleccionadas convexa (SACXA) y cóncava (SACVA) se encuentran en la sabana de Calabozo situada en los llanos altos de Venezuela, y forma parte de la sabana de *Trachypogon* sp. que cubre un cuarto de millón de hectáreas. En este caso las colectas fueron realizadas en áreas de sabana abierta de la Estación de Los Llanos, de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales (8° 56' N y 67° 25' W). El área se sitúa a 200 m snm con 28.5°C y 1 300 mm como media anual para la temperatura y precipitaciones respectivamente. El clima se define como típicamente bi-estacional de sabana Aw (de los 1 300 mm que se registran como media anual de precipitaciones, 1 200 mm caen entre mayo y octubre). Esta sabana presenta un continuo fisionómico que va desde sabanas pastizales sobre suelos superficiales esqueléticos, pasando por sabanas abiertas sobre suelos medianamente profundos, hasta sabanas arboladas sobre suelos profundos, en todos los casos hay un horizonte litoplántico (hardpan) a profundidad variable que aflora en los pastizales y puede llegar hasta más de 1m, en el último caso se presentan las sabanas dominantes cerradas.

El estrato herbáceo se caracteriza por las gramíneas *Trachypogon plumosus* (H. et B. ex Willd.) Nees, *T. vestitus* Anders., *Axonopus canescens* (Nees ex Trin.) Pilger, *Leptocoryphium lanatum* (H.B.K.) Nees, *Andropogon semiberbis* (Nees) Kunth y en los últimos 30 años ha sido invadida por la africana *Hyparrhenia rufa* (Nees) Stapf. Entre las Cyperaceae se encuentran *Bulbostylis capillaris* (L.) Kunth ex C. B. Clarke, *B. conifera* (Kunth) C. B. Clarke, y entre las

especies de Fabaceae: *Aeschynomene brasiliana* (Poir.) DC. y *Desmodium barbatum* (L.) Benth. El estrato arbóreo de la sabana abierta está constituido por *Curatella americana* L., *Byrsonima crassifolia* (L.) Kunth, *Bowdichia virgilioides* H.B.K., *Palicourea rigida* H.B.K. y *Cochlospermum vitifolium* (Willd.) Spreng. Los suelos son ferruginosos tropicales del orden Ultisoles.

**Sabana Tropical Cerrada:** Las dos variantes topográficas seleccionadas convexa (SCCXA) y cóncava (SCCVA) se encuentran en la sabana de Calabozo situada en los llanos altos de Venezuela. Tanto la localización de esta área, como las características del clima y el suelo corresponden a las descritas anteriormente para la Sabana Tropical Abierta. En cuanto a la vegetación, la sabana cerrada se caracteriza por

tener prácticamente el mismo estrato herbáceo con mayor cantidad de otras especies como: *Amasonia campestris* (Aubl.) Moldenke, *Diodia teres* Walt., *Paspalum multicaule* Poir., *P. plicatulum* Michx., *Hackelochloa granularis* Kuntze, *Mimosa debilis* Humb. et Bonpl. ex Willd. En la sabana cerrada, también pueden encontrarse las mismas especies arbóreas que en la abierta, pero con una mayor densidad, y estos constituyen el estrato leñoso conjuntamente con *Annona jahnii* Safford, *Godmania macrocarpa* (Benth.) Hemsl., *Jacaranda obtusifolia* Humb. et Bonpl., *Cassia moschata* Benth., *Erythroxylon havanense* A. Rich., *E. orinocense* H. B. K., *Casearia sylvestris* Sw., *Genipa caruto* H.B.K. y *Lonchocarpus ernestii* Harms.

Tabla 1. Características principales de los ecosistemas estudiados en Venezuela. Temperat.-Temperatura; Precip.-Precipitación.

Ecosistemas	Localidad	Altitud (m snm)	Especies dominantes	Tipo de suelo	Temperat. media anual (°C)	Precip. media anual (mm)
Páramo desértico (PD)	Mifafí, S. La Culata, Mérida	4300	<i>Espeletia timotensis</i>	Depósitos coluviales con gravas	2.8	798
Páramo andino (PA)	Mucubají, Sierra Nevada, Mérida	3400	<i>Espeletia schultzii</i> <i>Hypericum laricifolium</i>	Inceptisoles	5.4	968
Selva nublada (SN)	La Mucuy, Sierra Nevada, Mérida	2300	<i>Guettarda steyermarkii</i> <i>Clusia multiflora</i> <i>Oreopanax moritzii</i>	Entisoles	14	2800-3300
Pastizal de reemplazo (PS)	La Mucuy, Sierra Nevada, Mérida	2300	<i>Pennisetum clandestinum</i>	Entisoles	14	2800-3300
Sabana tropical abierta (SA)	Calabozo, Llanos centrales, VZ	200	<i>Trachypogon plumosus</i> <i>Axonopus canescens</i> <i>Leptocoryphium lanatum</i>	Ferruginosos tropicales (Ultisoles)	28.5	1300
Sabana tropical cerrada (SC)	Calabozo, Llanos centrales, VZ	200	<i>Paspalum plicatulum</i> <i>Annona jahnii</i> <i>Jacaranda obtusifolia</i>	Ferruginosos tropicales (Ultisoles)	28.5	1300

**Características de la toma de las muestras de suelo.** El estudio se realizó en noviembre del 2000 (periodo lluvioso), y en febrero del 2001 (periodo menos lluvioso). En el primer caso no se consideró la selva nublada y su pastizal de reemplazo.

En cada área se tomaron muestras en las dos variantes topográficas ya descritas.

Debido a la consideración de las dos variantes topográficas (CVA y CXA), dentro de cada una de las seis áreas estudiadas, se muestreó en 12 sitios en el período menos lluvioso y en 8 sitios en el período lluvioso, ya que en este último caso, dos de las áreas de estudio no fueron consideradas.

En cada uno de los 20 sitios de muestreo se trazaron 3 transectos perpendiculares a la dirección de la pendiente y separados entre sí por no menos de 15 m. De cada transecto se colectaron 5 submuestras del suelo, tomadas todas de 0 a 15 cm de profundidad, para completar, tras su homogenización, una muestra réplica por cada transecto que en todos los casos fue de aproximadamente 1 kg. De esta forma se obtuvieron tres muestras réplicas por cada uno de los 20 sitios de

muestreo, para un total de 60 muestras.

Las submuestras de cada transecto fueron tomadas por el sistema de números aleatorios (en metros), tratando siempre de que en todos los casos, las muestras fueran representativas en cuanto al funcionamiento de los sistemas radicales y simbióticos.

En el laboratorio se tomó 50 g de cada muestra réplica los cuales fueron guardados a temperatura de 4°C para los análisis microbiológicos. El resto de las muestras de suelo se secaron a temperatura ambiente, se tamizaron por malla de 1 mm y se les determinaron: pH (H<sub>2</sub>O): por potenciometría; CO, carbono orgánico: por oxidación con ácido sulfúrico y dicromato de potasio (Jackson, 1982); MO, materia orgánica: por Walkey & Blakey; N: por microKjeldahl; P: por Olsen; K, Mg, Na y Ca: por extracción con acetato de amonio y determinación con absorción atómica (Tabla 2). Además se determinaron algunas variables físicas del suelo: porcentaje de arena, limo y arcilla mediante análisis granulométrico con pirofosfato de sodio y el contenido relativo de humedad del suelo (CRH) determinado por método gravimétrico (Tabla 3).

Tabla 2. Características químicas de los suelos en los ecosistemas estudiados en Venezuela.

Ecosistemas	Topografía	pH (H <sub>2</sub> O)	C.O. (%)	M.O. (%)	N (%)	C/N	P µg.g <sup>-1</sup>	K	Mg	Na	Ca
								cmol/kg <sup>-1</sup>			
PD	CXA	4.7 (0.01)	2.24 (0.20)	3.86 (0.34)	0.11 (0.01)	20.3 (0.61)	14 (1.33)	0.09 (0.004)	0.11 (0.01)	0.16 (0.01)	0.30 (0.01)
	CVA	4.70 (0.02)	4.74 (0.26)	8.17 (0.45)	0.27 (0.02)	17.5 (0.42)	23 (1.92)	0.19 (0.02)	0.32 (0.03)	0.19 (0.002)	0.51 (0.08)
PA	CXA	4.7 (0.02)	8.64 (0.16)	14.89 (0.28)	0.47 (0.02)	18.3 (0.33)	13 (2.52)	0.16 (0.01)	0.22 (0.01)	0.17 (0.01)	0.50 (0.03)
	CVA	4.6 (0.06)	15.63 (1.29)	26.95 (2.23)	0.74 (0.08)	21.1 (0.33)	25 (4.01)	0.20 (0.007)	0.53 (0.11)	0.21 (0.01)	0.49 (0.03)
SN	CXA	4.3 (0.4)	10.30 (0.09)	17.76 (0.15)	0.72 (0.05)	14.3 (1.13)	18 (0.77)	0.20 (0.02)	0.63 (0.12)	0.22 (0.01)	0.19 (0.07)
	CVA	4.2 (0.02)	17.23 (2.30)	29.71 (3.97)	0.81 (0.06)	21.2 (1.65)	30 (3.36)	0.34 (0.06)	1.23 (0.08)	0.39 (0.03)	0.55 (0.02)
PSN	CXA	4.9 (0.01)	3.99 (0.29)	6.88 (0.51)	0.22 (0.01)	18.1 (0.26)	9 (0.38)	0.28 (0.06)	0.77 (0.13)	0.25 (0.03)	0.43 (0.06)
	CVA	4.9 (0.04)	8.71 (0.20)	15.02 (0.35)	0.51 (0.01)	17.1 (0.24)	24 (6.16)	0.23 (0.01)	0.57 (0.07)	0.18 (0.01)	0.52 (0.13)
SA	CXA	4.9 (0.03)	1.75 (0.04)	3.03 (0.07)	0.04 (0.002)	43.7 (2.41)	trazas	0.15 (0.05)	0.58 (0.14)	0.21 (0.01)	0.65 (0.23)
	CVA	4.8 (0.05)	1.33 (0.04)	2.30 (0.07)	0.05 (0.01)	26.6 (3.23)	trazas	0.05 (0.002)	0.31 (0.07)	0.21 (0.003)	0.15 (0.02)
SC	CXA	5.0 (0.02)	1.80 (0.05)	3.10 (0.08)	0.13 (0.05)	13.8 (4.05)	trazas	0.10 (0.02)	0.56 (0.03)	0.24 (0.01)	0.29 (0.01)
	CVA	4.9 (0.03)	1.35 (0.01)	2.33 (0.02)	0.07 (0.01)	19.2 (2.64)	trazas	0.06 (0.005)	0.31 (0.04)	0.23 (0.01)	0.19 (0.02)

pH (H<sub>2</sub>O): por potenciometría; C.O., carbono orgánico: por oxidación con ácido sulfúrico y dicromato de potasio (Jackson, 1982); M.O., materia orgánica: por Walkey & Blakey; C/N, relación carbono nitrógeno; N: por microKjeldahl; P: por Olsen; K, Ca, Na y Ca: por extracción con acetato de amonio y determinación con absorción atómica. Los valores son media de 3 réplicas. El E.E. aparece entre paréntesis. Abreviaturas de ecosistemas en Tabla 1. CVA variante topográfica cóncava (menos expuesta y con mayor humedad); CXA variante topográfica convexa (más expuesta y con menor humedad).

Tabla 3. Características texturales y contenidos relativos de humedad (CRH) de los suelos en los ecosistemas estudiados en Venezuela. Ecosist.-Ecosistemas; Topog.-Topografía; P. mas Lluv.-Período más Lluvioso; P. menos Lluv.-Período menos Lluvioso.

Ecosist.	Topog.	Textura			CT	CRH (%)	
		Arena (%)	Limo (%)	Arcilla (%)		P. mas Lluv. (nov. 2000)	P. menos Lluv. (feb. 2001)
PD	CXA	76.6 (1.17)	18.9 (0.55)	4.1 (2.0)	Fa	15.98 (0.15)	6.68 (0.38)
	CVA	73 (0.67)	24 (0.77)	2.7 (0.38)	Fa	30.68 (2.24)	33.55 (1.90)
PA	CXA	57.8 (0.86)	37.3 (0.86)	4.5 (0.02)	Fa	44.41 (0.58)	15.33 (0.30)
	CVA	70.4 (1.02)	27.9 (0.85)	1.4 (0.35)	Fa	73.30 (4.16)	43.02 (3.62)
SN	CXA	70 (1.58)	23.6 (0.84)	5.9 (0.77)	Fa	104.73 (2.77)	104.95 (2.56)
	CVA	69.9 (2.34)	21.9 (2.00)	7.4 (0.38)	Fa	145.40 (4.45)	140.91 (4.30)
PSN	CXA	68.3 (1.90)	27.1 (1.53)	4 (0.38)	Fa	31.53 (0.87)	30.86 (0.69)
	CVA	70.5 (0.03)	24.1 (0.15)	5.1 (0.15)	Fa	55.54 (0.61)	54.47 (0.55)
SA	CXA	52.8 (0.67)	29.5 (0.34)	17.6 (0.86)	Fa	11.20 (0.26)	1.20 (0.03)
	CVA	61.5 (0.38)	27.7 (0.38)	10.7 (0.67)	Fa	11.10 (0.05)	1.09 (0.11)
SC	CXA	50.3 (0.51)	29.1 (0.19)	20.5 (0.58)	Fa	10.63 (0.12)	1.12 (0.04)
	CVA	59.3 (0.38)	27.4 (0.33)	13.3 (0.19)	Fa	11.97 (0.04)	2.11 (0.05)

Los valores de arena, limo y arcilla son media de 3 réplicas. Los valores de CRH son medias de 6 réplicas. El E.E. aparece entre paréntesis. CT= Clase textural. Abreviaturas de ecosistemas en Tabla 1. Abreviaturas de topografía en Tabla 2.

**Análisis microbiológico.** Se estudiaron seis grupos fisiológicos microbianos: bacterias heterótrofas totales; fueron cultivadas en medio Agar Nutriente a pH 7.0 por 48 h; actinomicetos totales fueron cultivados en Medio Agar-Caseína-Almidón (Pochón y Tardieux, 1962) a pH 7.0 por 72 h; hongos totales, cultivados en Agar Rosa de Bengala (Girard y Rougieux, 1964) a pH 5.5 por 72 horas; diazótrofos totales, cultivados en Medio Watanabe (Watanabe y Barraquio, 1979) a pH ente 6.8-7.2, incubados de 96 a 240 horas; solubilizadores de fósforo inorgánico se cultivaron en Medio Ramos – Callao (Ramos y Callao, 1967) a pH 7.0, y se incubaron por 72 horas; celulolíticos aerobios totales se cultivaron en Medio de celulolíticos (Pochón y Tardieux, 1962) a pH 6.5 y se incubaron de 96 a 240 horas. Los dos últimos grupos microbianos se incubaron a temperatura de 30°C, y los restantes a 37°C.

Se realizó la técnica de las diluciones seriadas cuantitativas de cada muestra suspendiendo 10 g de suelo en 90 mL de agua destilada estéril (diluyendo 10 veces) en frascos erlenmeyers de 250 mL.

Se inoculó a profundidad de 1 mL y 0.3 mL para los medios sólidos y semisólido respectivamente, realizando tres réplicas en todos los casos. La cuantificación de microorganismos se realizó en los medios sólidos utilizando el método del conteo de viables según lo descrito por Harrigan y Mc Cance (1968) y para los semisólidos (conteo de diazótrofos totales) la cuantificación se realizó por el Método del Número más Probable (Frobisher, 1969), y se leyó según la tabla de Mc Grady (1918).

Las técnicas de cultivo empleadas en esta investigación han sido consideradas como indicadores adecuados para medir la potencialidad bioquímica y la viabilidad de la microbiota edáfica en términos de cuantificar grandes cambios en sus poblaciones (Acea y Carballos, 1999).

**Procesamiento de los datos.** Las comparaciones correspondientes a las áreas estudiadas (6 ecosistemas X 2 contrastes de humedad X 2 estaciones) se realizaron mediante análisis de la varianza factorial de clasificación triple y doble, con comparaciones de medias *a posteriori* basadas en la Prueba de Tukey ( $p < 0.05$ ). También se emplearon los llamados “t-intervalos de confianza múltiples *a posteriori*” (Wonnacott y Wonnacott, 1988) para las comparaciones entre períodos (más lluvioso y menos lluvioso) y topografías (cóncavo y convexo). En todos los casos se empleó el paquete estadístico SPSS versión 11.0.

**Abreviaturas empleadas.** PDCXA (Páramo Desértico Convexa); PDCVA (Páramo Desértico Cóncava); PACXA (Páramo Andino Convexa); PACVA (Páramo Andino Cóncava); SNCXA (Selva Nublada Convexa); SNCVA (Selva Nublada Cóncava); PSNCXA (Pastizal de Selva Nublada Convexa); PSNCVA (Pastizal de Selva Nublada Cóncava); SCCXA (Sabana Cerrada Convexa), SCCVA (Sabana Cerrada Cóncava); SACXA (Sabana Abierta Convexa); SACVA (Sabana Abierta Cóncava).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

**Bacterias heterótrofas totales.** En la Tabla 4 se indican los resultados de las poblaciones de bacterias heterótrofas totales obtenidos a través de la toposecuencia para todos los

ecosistemas analizados. Se observan los mayores valores para el páramo andino durante el período más lluvioso en las dos variantes topográficas consideradas, aunque dentro de la variante CVA la diferencia entre los ecosistemas no es significativa, con la excepción de la SA cuyo valor, mínimo para la variante, si fue significativamente inferior. El valor más bajo se obtuvo en el PDCXA lo cual es congruente con las extremas condiciones ambientales de ese ecosistema. En este período no se observó una marcada tendencia hacia el aumento de estas poblaciones microbianas en la variante CVA (más húmeda) con respecto a la variante CXA (menos húmeda). Este comportamiento se ha observado en otros estudios en los que se concluye que en el período lluvioso la humedad homogeneiza las condiciones del suelo (Rodríguez *et al.*, 2000); ello parece haber influido en la no preponderancia de ninguna de las variantes topográficas respecto al crecimiento bacteriano. Sin embargo, en el período menos lluvioso si se observa un predominio del crecimiento de las bacterias heterótrofas totales en la variante CVA donde el crecimiento fue mayor y significativamente diferente con respecto a la variante CXA en 4 de los 6 ecosistemas estudiados.

Se observó una marcada influencia del período lluvioso, sobre el aumento de las poblaciones de bacterias heterótrofas totales, ya que los valores fueron superiores y significativamente diferentes al comparar éste con el período menos lluvioso. Esto es correspondiente con la marcada diferencia del CRH del suelo entre ambos períodos (Tabla 3).

Al comparar los resultados del presente trabajo con los obtenidos por Medina *et al.* (2004), para el período menos lluvioso, en un bosque siempreverde y su pastizal de reemplazo en Sierra del Rosario, Cuba; puede observarse que en este último estudio, la variante CVA no influyó en el crecimiento de los heterótrofos totales que se mantuvo en el orden de  $10^5$  en todos los casos, mientras en los ecosistemas andinos llegó a ser de un orden superior en dos ecosistemas: PD y SN.

Las bacterias son el grupo que presenta mayor versatilidad metabólica entre los microorganismos del suelo. Las bacterias heterótrofas, requieren de compuestos orgánicos muy disímiles como azúcares, alcoholes, hidrocarburos, entre otros; esta característica hace que un grupo bacteriano específico pueda estar en menor o mayor cantidad, pero la población total sólo se incrementa significativamente cuando las variaciones de algún grupo en particular son drásticas. Los resultados de la Tabla 4 muestran una gran plasticidad ecológica para las bacterias heterótrofas totales, incluso en condiciones tan extremas como las del páramo desértico. En este ecosistema se alcanzaron valores del orden de  $10^6$  en el período lluvioso, con una temperatura promedio de 2.8°C (Tabla 1), resultados comparables con los de Higashida y Takao (1985) ( $1.5 \times 10^7$  UFC/g de suelo) obtenidos en condiciones invernales (noviembre) en pastizales de China donde la temperatura promedio alcanza valores de 2.2°C.

En general, se encontró que los valores mayores para las bacterias heterótrofas totales coincidieron con los ecosistemas de valores mayores para los porcentajes de M.O. y N, así como valores altos de la relación C/N (Tabla 2). Se sabe que la materia orgánica es uno de los factores que más influye en la distribución de las bacterias heterótrofas (Frioni, 1990).

Tabla 4. Valores para los heterótrofos totales, (UFC x g<sup>-1</sup> de suelo seco x 10<sup>5</sup>), en seis ecosistemas durante los periodos mas lluvioso y menos lluvioso. En cada ecosistema se consideraron dos áreas contrastantes por su topografía: Superficie convexa, mas expuesta y superficie cóncava, mas resguardada. Aparecen los T-intervalos de confianza múltiples resultado de 16 comparaciones entre las medias de las diferentes áreas contrastantes considerando los dos periodos en ecosistemas de Venezuela.

Ecosistema	Periodo mas lluvioso (nov. 2000)		T-Intervalos	Periodo menos lluvioso (feb. 2001).		T-intervalos	Convexa		Concava	
	Convexa	Cóncava		Convexa	Cóncava		+lluv	-lluv	+lluv	-lluv
PD	19.60 c (1.9)	82.00 a (11.80)	-62.64 , -62.16 *	0.026 e (0.0036)	0.95 e (0.11)	-1.16 , -0.68 *	19.33 , 19.81 *		80.81 , 81.29 *	
PA	760.34 a (200.65)	100.72 a (7.04)	659.38 , 659.86 *	4.23 cd (0.53)	5.59 cd (0.53)	-1.60 , -1.12 *	755.87 , 756.35 *		94.89 , 95.37 *	
SN	ND	ND	ND	6.24 bc (0.21)	19.77 a (1.51)	-13.71 , -13.35 *	ND		ND	
PSN	ND	ND	ND	11.22 a (0.52)	10.82 b (0.56)	0.22 , 0.58 *	ND		ND	
SA	51.09 b (6.50)	31.69 b (3.20)	19.16 , 19.64 *	3.73 d (0.21)	3.96 d (0.14)	-0.47 , 0.01 n.s.	47.12 , 47.60 *		27.49 , 27.97 *	
SC	64.81 b (9.42)	69.84 a (6.26)	-5.27 , -4.79 *	7.43 b (0.95)	7.27 bc (0.95)	-0.08 , 0.40 n.s.	57.14 , 57.62 *		62.33 , 62.81 *	

Letras diferentes en cada columna implican diferencias significativas según Prueba de Tukey (p≤0.05). Cada valor es media de 9 réplicas. El E.E. aparece entre paréntesis. ND: No determinado. Significación de los T-intervalos con asteriscos. Abreviaturas de ecosistemas en Tabla 1.

Son escasos los estudios de conteos microbianos a través de un gradiente altitudinal, y mas aún en alturas superiores a 3 500 m de altitud. Los resultados de Couteaux *et.al* (2000) acerca del estudio de la descomposición de la materia orgánica del suelo a través de una toposecuencia en la región andina en Venezuela, desde una altitud de 65 m correspondiente al bosque tropical hasta 3 968 m en vegetación natural de páramo, expresan una clara disminución de la descomposición de la materia orgánica con el incremento de la altura. Con la altitud hay una disminución considerable de la temperatura lo cual también disminuye la descomposición de la materia orgánica. Todo ello sugiere una disminución, a través del gradiente altitudinal, de la actividad de la microbiota involucrada en este proceso por la asociación que se sabe existe en general, entre la descomposición de la MO y la actividad microbiana. En nuestro estudio no se observa una disminución de las poblaciones microbianas proporcional al incremento de la altitud y al correspondiente descenso de las temperaturas (Tabla 1), sino que el crecimiento microbiano parece estar más relacionado con otros factores como, por ejemplo, la humedad del suelo. En todo caso el desarrollo de los diferentes grupos fisiológicos microbianos se observa más vinculado a las características de cada ecosistema en particular.

**Actinomicetos totales.** En la Tabla 5 aparecen los resultados del conteo de actinomicetos totales. Los mayores valores correspondieron al páramo andino en el período más lluvioso significativamente diferente al resto de los ecosistemas para las dos variantes consideradas: CXA y CVA. En el período menos lluvioso los mayores valores correspondieron al páramo desértico, significativamente diferente al resto de los ecosistemas para las variantes CXA y CVA. En la Tabla 2 se observa que al PD correspondieron a valores relativamente bajos del contenido de humedad del suelo.

Los actinomicetos constituyen un grupo fisiológico de más lento crecimiento, pero sobretodo con alta capacidad de resistencia en condiciones desfavorables. En este sentido la tolerancia a bajos contenidos de humedad del suelo

(Fernández y Novo, 1989) pudo favorecer el incremento de este grupo microbiano en el páramo desértico en el período menos lluvioso (Tabla 2).

Según Frioni (1990), los actinomicetos son grandes antagonistas tanto por su elevada capacidad para la producción de antibióticos (del 50 al 75% de las cepas aisladas producen importantes antibióticos) como enzimas (quinasas, celulasas e hidrolasas) responsables de la lisis de las paredes de hongos y bacterias. Ambas características justifican su éxito funcional y competitivo, y los convierte en un grupo fisiológico muy importante en el mantenimiento del balance ecológico de la actividad microbiana en el suelo.

Para este grupo microbiano se observaron valores mayores para el conteo realizado en el período más lluvioso, aunque en general, no se observó un incremento de los conteos en la variante topográfica correspondiente a ambientes más húmedos (CVA). Al parecer se homogeniza el comportamiento por la disponibilidad mayor de nutrientes en estas condiciones.

Los actinomicetos pueden alcanzar proporciones con un amplio rango de variación desde el 10 al 70% dentro de la comunidad microbiana del suelo (Fernández y Novo, 1989). En nuestro caso, se obtuvieron valores comparables a los órdenes más comunes (10<sup>5</sup>-10<sup>8</sup> UFC/g suelo), lo cual ha sido indicado por Frioni (1990).

Según Xu *et al* (1996), en un amplio estudio realizado sobre la diversidad de este grupo microbiano en la región de Yunnan, en China, el límite superior para la existencia de actinomicetos termófilos es 3 500 m, alcanzando valores de 1.5 x10<sup>5</sup> (UFC/ g suelo) a estas altitudes. Estos mismos autores plantean que a partir de esta altitud podría establecerse el límite para la aparición de las cepas psicrófilas, capaces de desarrollarse a temperaturas por debajo de 20°C. Los resultados del presente trabajo muestran valores elevados para este grupo fisiológico en general (Tabla 5) en el intervalo desde 10<sup>5</sup> para el período menos lluvioso en las sabanas, hasta valores de 10<sup>8</sup> y 10<sup>7</sup> para los ecosistemas de páramo andino y páramo desértico respectivamente en el período más lluvioso.

Tabla 5. Valores para los actinomicetos, (UFC x g<sup>-1</sup> de suelo seco x 10<sup>6</sup>), en cinco ecosistemas durante los periodos mas lluvioso y menos lluvioso. En cada ecosistema se consideraron dos áreas contrastantes por su topografía: Superficies convexas, mas expuestas y superficies cóncavas, mas resguardadas. Aparecen los T-intervalos de confianza múltiples resultado de 16 comparaciones entre las medias de las diferentes áreas contrastantes considerando los dos periodos en ecosistemas de Venezuela.

Ecosistema	Periodo mas lluvioso (nov. 2000)		T-Intervalos	Periodo menos lluvioso (feb. 2001).		T-intervalos	Convexa		Concava	
	Convexa	Cóncava		Convexa	Cóncava		+lluv	-lluv	+lluv	-lluv
PD	10.50 b (0.31)	8.44 b (0.77)	1.88 , 2.24 *	6.21 a (1.03)	8.58 a (0.88)	-2.55 , -2.19 *	4.11 , 4.47 *	-0.32 , 0.04 n.s.		
PA	108.00 a (7.39)	116.20 a (13.43)	-8.38 , -8.02 *	2.78 b (0.57)	0.27 d (0.01)	2.33 , 2.69 *	105.04 , 105.40 *	115.75 , 116.11 *		
SN	ND	ND	ND	1.37 bc (0.29)	1.00 bc (0.05)	0.23 , 0.51 *	ND	ND		
PSN	ND	ND	ND	0.88 c (0.11)	1.17 b (0.08)	-0.43 , -0.15 *	ND	ND		
SA	4.90 c (0.56)	4.10 c (0.41)	0.62 , 0.98 *	0.45 c (0.06)	0.22 d (0.02)	0.05 , 0.41 *	4.27 , 4.63 *	3.70 , 4.06 *		
SC	5.24 c (0.91)	9.50 b (0.46)	-4.44 , -4.08 *	0.63 c (0.09)	0.72 c (0.09)	-0.27 , 0.09 n.s.	4.43 , 4.79 *	8.60 , 8.96 *		

Letras diferentes en cada columna implican diferencias significativas según Prueba de Tukey (p≤0.05). Cada valor es media de 9 réplicas. El E.E. aparece entre paréntesis. ND: No determinado. Significación de los T-intervalos con asteriscos. Abreviaturas de ecosistemas en Tabla 1.

**Hongos totales.** En la Tabla 6 aparecen los valores correspondientes a los conteos de los hongos totales del suelo. En el período más lluvioso en la topografía CXA, los valores mayores significativamente diferentes se encontraron en los conteos correspondientes a la sabana abierta. Para la variante CVA los valores mayores correspondieron a las sabanas, no encontrándose diferencias significativas entre las mismas. Estos valores se comportaron, en general, en un orden por encima (10<sup>5</sup>) al compararlos con el resto de los conteos realizados para este grupo fisiológico en los otros sitios estudiados (Tabla 6).

En el período menos lluvioso para la topografía CXA, los mayores valores correspondieron a los conteos realizados en la selva nublada, presentando diferencias significativas al

compararlos con los otros ecosistemas. En esta área se encontró el valor menor de pH (Tabla 2), lo que favoreció el desarrollo de este grupo fisiológico. Para la topografía CVA los resultados fueron muy similares a través de la toposecuencia, con la excepción de los páramos. Los valores obtenidos, en general, alcanzan un orden de 10<sup>4</sup>, inferiores a los que se han encontrado para otras áreas de bosque en el orden de 10<sup>6</sup> UFC/g suelo (Vazquez *et al.*, 1993). Sin embargo, nuestros resultados, para ambas variantes topográficas son un orden superior a los obtenidos en un bosque siempreverde de Sierra del Rosario, Cuba (datos no publicados) de 3.9 x 10<sup>4</sup> y 4.5 x 10<sup>3</sup> para las variantes CXA y CVA respectivamente.

Tabla 6. Valores para los hongos, (UFC x g<sup>-1</sup> de suelo seco x 10<sup>4</sup>), en cinco ecosistemas durante los periodos mas lluvioso y menos lluvioso. En cada ecosistema se consideraron dos áreas contrastantes por su topografía: Superficie convexa, mas expuesta y superficie cóncava, mas resguardada. Aparecen los T-intervalos de confianza múltiples resultado de 18 comparaciones entre las medias de las diferentes áreas contrastantes considerando los dos periodos en ecosistemas de Venezuela.

Ecosistema	Periodo mas lluvioso (nov. 2000)		T-Intervalos	Periodo menos lluvioso (feb. 2001).		T-intervalos	Convexa		Concava	
	Convexa	Cóncava		Convexa	Cóncava		+lluv	-lluv	+lluv	-lluv
PD	0 d	0 c	n.s.	0 e	0 c	n.s.	n.s.	n.s.		
PA	7.72 b (1.50)	6.80 b (1.27)	0.15 , 0.69 *	1.08 d (0.03)	0.97 b (0.08)	-0.16 , 0.38 n.s.	5.87 , 6.41 *	5.56 , 6.10 *		
SN	ND	ND	ND	19.78 a (0.48)	7.55 a (0.33)	11.98 , 12.48 *	ND	ND		
PSN	ND	ND	ND	4.93 b (0.82)	7.59 a (1.35)	-2.91 , -2.41 *	ND	ND		
SA	29.89 a (5.61)	41.01 a (7.42)	-11.39 , -10.85 *	3.04 bc (0.35)	1.41 b (0.18)	1.36 , 1.90 *	26.58 , 27.12 *	39.33 , 39.87 *		
SC	0.93 c (0.05)	66.99 a (12.59)	-66.33 , -65.79 *	2.34 cd (0.54)	5.54 a (0.28)	-3.47 , -2.93 *	-1.68 , -1.14 *	61.18 , 61.72 *		

Letras diferentes en cada columna implican diferencias significativas según Prueba de Tukey (p≤0.05). Cada valor es media de 9 réplicas. El E.E. aparece entre paréntesis. ND: No determinado. Significación de los T-intervalos con asteriscos. Abreviaturas de ecosistemas en Tabla 1.

En los pastizales de reemplazo la cantidad de hongos está en el orden  $10^4$ , un orden menor que los encontrados por Higashida y Takao (1985), ( $4.3 \times 10^5$ ) en parcelas experimentales de pastizales en Hokkaido, Japón.

En general, no se observó una marcada diferencia de los conteos realizados de la topografía CVA expresada en la obtención de mayores valores para este grupo fisiológico, aunque si se encontraron mayores valores, significativamente diferentes, para los conteos realizados en el periodo más lluvioso al compararlo con el menos lluvioso (con la excepción de SCCXA).

Se observa que este grupo fisiológico no fue detectado en el ecosistema de páramo desértico en ninguno de los dos periodos estudiados. Los hongos no se favorecieron en estas condiciones a pesar de la acidez del suelo (Tabla 2), o el medio de cultivo empleado no pudo satisfacer los requerimientos nutricionales de las especies de hongos adaptados a este ecosistema. Es importante destacar los resultados de Furrázola (2003) en relación a hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA), que como se sabe son simbioses obligados y su presencia no puede ser detectada en los medios de cultivos utilizados para los conteos de hongos del suelo.

Según Furrázola (2003) en resultados obtenidos en estas áreas, el mayor porcentaje de colonización micorrízica (77%) correspondió a las muestras de raicillas procedentes del páramo desértico. En este ecosistema la simbiosis micorrízica juega un papel importante en la captación de los escasos nutrientes disponibles, como demuestran los trabajos de Barnola y Montilla (1997).

**Diazótrofos totales.** Los resultados correspondientes al conteo de los diazótrofos totales aparecen en la Tabla 7. Se observan poblaciones elevadas de diazótrofos encontradas en la cúspide del gradiente altitudinal lo que podría estar relacionado con las bajas tensiones de  $O_2$  que prevalecen a alturas mayores, pues como se sabe la actividad de la nitrogenasa (complejo enzimático responsable de la fijación biológica del nitrógeno) es óptima en condiciones de microaerofilia (Pan y Vessey, 2001).

Los valores registrados para la selva nublada en el orden de  $10^4$ , son comparables a los obtenidos por Medina (2004) ( $4.3 \times 10^4$  y  $4.9 \times 10^5$ ) para las variantes CXA y CVA respectivamente en un bosque siempreverde en Sierra del Rosario, Cuba. De igual forma esta autora obtiene valores del orden de  $10^5$  para las dos variantes topográficas consideradas en el pastizal de reemplazo para esta misma localidad.

En 4 de los 6 ecosistemas estudiados en Venezuela se obtuvieron mayores valores en los conteos de diazótrofos para la variante CVA, donde los contenidos relativos de humedad del suelo fueron mayores en todos los casos excepto para la sabana abierta (Tabla 2).

En el caso de la sabana cerrada, se obtuvieron valores elevados para los diazótrofos totales, más acentuadamente en la variante CVA. En general, se sabe que en áreas pobladas de gramíneas, así como en pastizales naturales existe alta población de diazótrofos libres y facultativos, así como en su sistema radical endófitos obligados (Reis, 2000).

Sin embargo, la actividad de este grupo fisiológico concretamente para el caso de los microorganismos de vida libre (incluso para los definidos como asociativos: *Azospirillum* y *Acetobacter*) ha sido cuestionada ya que su eficiencia para la fijación biológica del nitrógeno no es muy alta (Puppi et al., 1989).

En la Tabla 7 se observa que, en general, los menores valores obtenidos para los diazótrofos totales se encontraron para el páramo andino y la selva nublada en la variante CXA, y en la Selva nublada y su pastizal de reemplazo en la variante CVA, donde precisamente se registraron valores elevados para el contenido de nitrógeno, la materia orgánica y la relación C/N (Tabla 2), lo que pudiera estar relacionado con la menor población de diazótrofos y su actividad nitrificadora, ya que la nitrogenasa se inhibe al aumentar las concentraciones de nitrógeno del suelo (Martínez, 1986).

Los valores del conteo de diazótrofos totales para los páramos y la sabana cerrada no se ven reflejados en el contenido de nitrógeno total (Tabla 2), aunque el nitrógeno total no es un buen estimador del nitrógeno asimilable del suelo.

Tabla 7. Valores para los diazotrofos ( $UFC \times g^{-1}$  de suelo seco  $\times 10^5$ ) en cinco ecosistemas durante el periodo menos lluvioso. En cada ecosistema se consideraron dos áreas contrastantes por su topografía: Superficie convexa, mas expuesta y superficie cóncava, mas resguardada. Aparecen los T-intervalos de confianza múltiples resultado de 6 comparaciones entre las medias de las diferentes áreas contrastantes de acuerdo a la topografía en el periodo menos lluvioso en ecosistemas de Venezuela.

Ecosistema	Periodo mas lluvioso (nov. 2000)		T-Intervalos	Periodo menos lluvioso (feb. 2001).		T-intervalos	Convexa		Concava	
	Convexa	Cóncava		Convexa	Cóncava		+lluv	-lluv	+lluv	-lluv
PD	ND	ND	ND	143.7 a (61.6)	194.0 a (31.4)	-50.69 , -49.91 *	ND		ND	
PA	ND	ND	ND	10.96 b (1.36)	159.5 a (11.5)	-48.93 , -148.15 *	ND		ND	
SN	ND	ND	ND	0.33 e (0.10)	0.64 c (0.09)	-0.70 , 0.08 n.s.	ND		ND	
PSN	ND	ND	ND	2.78 cd (0.73)	0.27 c (0.08)	2.12 , 2.90 *	ND		ND	
SA	ND	ND	ND	7.54 bc (0.03)	2.53 b (0.29)	4.62 , 5.40 *	ND		ND	
SC	ND	ND	ND	1.59 d (0.24)	125.0 a (16.2)	-123.80 , -123.02 *	ND		ND	

Letras diferentes en cada columna implican diferencias significativas según Prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Cada valor es media de 3 réplicas. El E.E. aparece entre paréntesis. ND: No determinado. Significación de los T-intervalos con asteriscos. Abreviaturas de ecosistemas en Tabla 1.



**Solubilizadores de fósforo inorgánico.** En la Tabla 8 aparecen los valores registrados para el conteo de solubilizadores de fósforo inorgánico totales (SP). Se observa que en el período más lluvioso en la variante CVA se alcanzaron los valores mayores para el páramo andino, seguido por la sabana abierta, aunque no hay diferencia significativa entre los valores registrados en estos ecosistemas. En el caso de la variante CXA se obtuvieron los valores mayores para la sabana abierta significativamente diferentes del resto de los ecosistemas.

En el caso de la sabana abierta durante el período más lluvioso, Furrzola (2003) registró los valores mayores para el micelio externo de las micorrizas arbusculares ( $135 \text{ mg. dm}^{-3}$ ), valor 1.8 veces mayor que el promedio encontrado para los 8 ecosistemas estudiados por este investigador ( $74 \text{ mg. dm}^{-3}$ ). En estas sabanas sólo se detectaron trazas de P lo que indica la necesidad de la existencia de mecanismos de alta eficiencia para la captación de los nutrientes, como es el caso de la traslocación del fósforo a través del micelio externo de las micorrizas.

Se sabe que las sabanas y los pastizales de los trópicos son ecosistemas pobres nutrimentalmente (Herrera et al., 1984). Especialmente el P es bajo porque se fija al Fe y Al en los suelos tropicales. En este contexto la presencia elevada de los SP, microorganismos involucrados en el ciclo del fósforo, y funcionalmente relacionados con los hongos de las micorrizas arbusculares, podría justificarse como parte de las estrategias de estos ecosistemas para favorecer tanto las poblaciones microbianas relacionadas con la solubilización del fósforo como las estructuras de captación del mismo (e.g. micelio externo de las MA). Para satisfacer las demandas de fósforo en el ecosistema, este tiene que ser rápidamente captado

mediante mecanismos de alta eficiencia y reciclado, en condiciones de bajo P asimilable (Tabla 2).

Es interesante señalar la drástica disminución de los valores registrados para los solubilizadores de P entre período más lluvioso y menos lluvioso en el ecosistema de SA., lo cual al parecer pudiera estar relacionado con una marcada estacionalidad de la biomasa subterránea; esto es congruente con el marcado descenso del CRH del suelo para este ecosistema en el período menos lluvioso (Tabla 3).

En este período en la variante CVA los valores mayores para los solubilizadores de fósforo se registraron para el PA significativamente diferente de los otros ecosistemas estudiados. En la variante CXA los valores mayores se registraron para el PSN, muy similares al páramo andino y la sabana cerrada.

En el páramo desértico se reportaron, en general, los valores menores significativamente diferentes al compararlos con todas las variantes estudiadas.

Se observó, en general, una influencia de la humedad del suelo en el incremento de los conteos para este grupo fisiológico, tanto al comparar la variante CVA con CXA dentro de cada período, como al comparar los valores mayores de los conteos obtenidos en el período más lluvioso con los alcanzados en el menos lluvioso.

Este grupo fisiológico tiene una gran importancia en los ecosistemas estudiados, donde predominan en todos los casos condiciones de acidez en el suelo (Tabla 2) ya que en estas condiciones el fósforo se fija al hierro y al aluminio, por tanto la participación de los microorganismos involucrados en el ciclo del P es la vía fundamental para lograr la solubilización del P de forma tal que pueda ser disponible para las plantas.

Tabla 8. Valores para los solubilizadores de P, ( $\text{UFC} \times \text{g}^{-1}$  de suelo seco  $\times 10^4$ ), en cinco ecosistemas durante los periodos mas lluvioso y menos lluvioso. En cada ecosistema se consideraron dos áreas contrastantes por su topografía: Superficie convexa, mas expuesta y superficie cóncava, mas resguardada. Aparecen los T-intervalos de confianza múltiples resultado de 16 comparaciones entre las medias de las diferentes áreas contrastantes considerando los dos periodos en ecosistemas de Venezuela.

Ecosistema	Periodo mas lluvioso (nov. 2000)		T-Intervalos	Periodo menos lluvioso (feb. 2001).		T-intervalos	Convexa		Concava	
	Convexa	Cóncava		Convexa	Cóncava		+lluv	-lluv	+lluv	-lluv
PD	0.82 c (0.06)	0.59 c (0.04)	0.03 , 0.43 *	0.85 d (0.05)	8.07 e (0.74)	-7.42 , -7.02 *	-0.23 , 0.17 n.s.	-7.68 , -7.28 *		
PA	80.07 b (13.31)	6201.11 a (319.31)	-6121.24,-6120.84 *	48.11 a (2.69)	709.22 a (111.91)	-661.31,-660.91 *	31.76 , 32.16 *	5491.69,5492.09 *		
SN	ND	ND	ND	11.89 b (1.11)	18.89 c (1.15)	-7.15 , -6.85 *	ND	ND		
PSN	ND	ND	ND	67.67 a (5.98)	12.78 d (1.16)	54.74 , 55.04 *	ND	ND		
SA	5210.90 a (737.03)	5492.0 ab (420.73)	-281.30 , -280.90 *	5.38 c (0.95)	5.89 f (0.63)	-0.71 , -0.31 *	5205.32,5205.72 *	5986.91,5486.31 *		
SC	56.71 b (4.85)	4300.67 b (701.05)	-4243.49,-4243.09 *	55.11 a (4.37)	72.33 b (6.80)	-67.42 , -67.02 *	51.40 , 51.80 *	4227.47,4227.87 *		

Letras diferentes en cada columna implican diferencias significativas según Prueba de Tukey ( $p \leq 0.05$ ). Cada valor es media de 9 réplicas. El E.E. aparece entre paréntesis. ND: No determinado. Significación de los T-intervalos con asteriscos. Abreviaturas de ecosistemas en Tabla 1.

**Celulolíticos totales.** En la Tabla 9 aparecen los valores registrados para el conteo de celulolíticos totales. En el período más lluvioso se alcanzaron los mayores valores para la sabana abierta en ambas variantes (CXA y CVA). En este

ecosistema el estrato herbáceo se caracteriza por una gran cantidad de gramíneas donde la proporción de celulosa representa 15% del peso seco de la planta, por tanto la composición química de la flora podría favorecer el desarrollo

de los celulolíticos totales. Los menores valores para este grupo fisiológico se encontraron en el páramo desértico en correspondencia con la baja productividad de la vegetación de este ecosistema.

En el caso del período menos lluvioso en la variante CXA, los valores mayores (significativamente diferente del resto de los ecosistemas estudiados) para los celulolíticos totales se registraron para el pastizal de reemplazo de SN, compuesto fundamentalmente por gramíneas por lo que la composición vegetal potencia el desarrollo de la actividad celulolítica. Cuando se comparan estos resultados con los obtenidos para la SN, se ve una disminución drástica de los celulolíticos en el segundo caso. Al parecer los valores elevados del contenido de humedad del suelo en la SN (Tabla 3), no favorecen el desarrollo de la actividad celulolítica aerobia.

Los mayores contenidos de agua en el suelo de la selva nublada se asocian a la saturación hídrica en estos ecosistemas debidos a la lluvia horizontal permanente y a las relativamente temperaturas bajas que mantienen un contenido alto de materia orgánica en forma de humus bruto. El humus es capaz de retener grandes cantidades de agua superiores a su propio peso, como puede observarse en los valores de humedad relativa del suelo (Tabla 3).

Además, en las sabanas en el período menos lluvioso se registraron los valores más bajos, en estas áreas encontramos los valores menores de humedad del suelo (Tabla 3) y del

contenido de carbono del suelo (Tabla 2), condiciones que no favorecen el proceso de celulolisis.

No se observó, en general, una marcada influencia de la humedad del suelo en el incremento de los conteos para este grupo fisiológico, al comparar la variante CVA con CXA dentro de cada período, pero sí al comparar ambos períodos donde en general aparecen los mayores valores para el período más lluvioso.

La relación C/N (Tabla 2) para todos los ecosistemas fue alta (varió entre 13.8 y 43.7) cuando comparamos con los datos de la literatura (Ortega, 1982; Rodríguez et al., 1986; Hernández, 1999; Medina, 2004) lo que indica en estos ecosistemas una estabilidad alta de los compuestos orgánicos y la tendencia a la acumulación del carbono. La relación C/N es una medida del grado de descomposición de la materia orgánica, valores elevados indican que el proceso de descomposición de la materia orgánica transcurre lentamente. Sin embargo, los valores obtenidos para los conteos microbianos en el período más lluvioso son dos y un orden superior para la SA y SC respectivamente (en ambas variantes topográficas) al compararlos con los valores de 10<sup>4</sup> obtenidos en un pastizal de *Panicum maximum* Jacq. en Cuba (Orozco et al., 1986).

Los conteos registrados para los celulolíticos totales en la SN en las variantes CXA y CVA son comparables a los resultados encontrados en un bosque siempreverde en Cuba (Orozco et al., 1985).

Tabla 9. Valores para los celulolíticos, (UFC x g<sup>-1</sup> de suelo seco x 10<sup>4</sup>), en cinco ecosistemas durante los periodos mas lluvioso y menos lluvioso. En cada ecosistema se consideraron dos áreas contrastantes por su topografía: Superficies convexas, mas expuestas y superficies cóncavas, mas resguardadas. Aparecen los T-intervalos de confianza múltiples resultado de 18 comparaciones entre las medias de las diferentes áreas contrastantes considerando los dos periodos en ecosistemas de Venezuela.

Ecosistema	Periodo mas lluvioso (nov. 2000)		T-Intervalos	Periodo menos lluvioso (feb. 2001).		T-intervalos	Convexa		Concava	
	Convexa	Cóncava		Convexa	Cóncava		+lluv	-lluv	+lluv	-lluv
PD	13.13 c (1.93)	5.93 c (1.56)	6.98 , 7.42 *	9.27 c (0.96)	1.74 c (0.19)	7.31 , 7.75 *	3.64 , 4.08 *		3.97 , 4.41 *	
PA	24.36 b (1.16)	14.03 b (0.45)	10.11 , 10.55 *	21.33 b (0.65)	16.67 a (1.50)	4.44 , 4.88 *	2.81 , 3.25 *		-2.86 , -2.42 *	
SN	ND	ND	ND	2.46 d (0.25)	4.26 b (0.28)	-1.97 , -1.63 *	ND		ND	
PSN	ND	ND	ND	125.57 a (15.26)	27.93 a (1.26)	97.47 , 97.81 *	ND		ND	
SA	105.36 a (14.85)	106.54 a (9.91)	-1.40 , -0.96 *	1.62 e (0.16)	1.23 c (0.19)	0.17 , 0.61 *	103.52 , 103.96 *		105.09 , 105.53 *	
SC	16.85 bc (1.32)	94.25 a (5.59)	-77.62 , -77.18 *	0.82 f (0.05)	1.06 c (0.12)	-0.46 , -0.02 *	15.81 , 16.25 *		92.97 , 93.41	

Letras diferentes en cada columna implican diferencias significativas según Prueba de Tukey (p≤0.05). Cada valor es media de 9 réplicas. El E.E. aparece entre paréntesis. ND: No determinado. Significación de los T-intervalos con asteriscos. Abreviaturas de ecosistemas en Tabla 1.

**Balance de los seis grupos fisiológicos microbianos.** En la Tabla 10 aparecen las proporciones en porcentajes como indicadores de la diversidad funcional para los grupos fisiológicos, en los ecosistemas y en todas las variantes. Se observa que el conteo de heterótrofos totales está por debajo de los valores teóricos esperados. Es de suponer que los ecotipos microbianos adaptados a condiciones oligotróficas (en páramos y sabanas), con pH por debajo de cinco en todos los casos, excepto en la SC variante CXA (Tabla 2), no

podieron expresarse en un medio enriquecido como es el caso de agar nutriente, ya que son bastante más selectivos y específicos en cuanto a los requerimientos nutricionales. Se ha reportado que los medios de cultivo pueden no reflejar las condiciones naturales de los ambientes donde se desarrollan las poblaciones microbianas, pues en ellos pudieran estar favorecidos los procariotas de rápido crecimiento y mejor adaptados a las condiciones de los mismos (Bull et al., 2000).

En general, se acepta que valores de pH neutro y alcalino favorecen el desarrollo de las comunidades bacterianas del suelo. Martínez-Cruz *et al.* (2002), a lo largo de una toposecuencia desde 2 700 a 2 900m en el Parque Nacional, La Malinche (México) encuentran un incremento de las enzimas deshidrogenasas (miden la actividad biológica total del suelo) en condiciones de pH por encima de seis. Sin embargo, como se ha expresado anteriormente las poblaciones microbianas de los ecosistemas estudiados en Venezuela habitan en condiciones de pH ácido donde se registraron valores, en general, elevados para los porcentajes de materia orgánica y los contenidos de nitrógeno del suelo (Tabla 2), (con la excepción del páramo desértico y las sabanas), lo que hace suponer la existencia de una microflora nativa con capacidad oxidativa alta adaptada a estas condiciones de acidez.

La selva nublada en el período menos lluvioso mostró, en general, el mejor balance de los grupos fisiológicos de acuerdo a los criterios establecidos en la literatura consultada (Rodríguez *et al.*, 1989; Acea, 1993; Velazco, 2001), seguida del pastizal de reemplazo, aunque en el último los actinomicetos alcanzan proporción mayor. Sin embargo, en los ecosistemas estudiados donde no tenemos antecedentes de estudios microbiológicos del suelo es posible que los balances

entre los grupos fisiológicos estudiados no coincidan con los establecidos por la bibliografía.

Los resultados, del presente trabajo, no muestran una tendencia única para todas las poblaciones microbianas a través de la toposecuencia desde las menores hasta las mayores alturas. Grupos como los hongos (excluyendo los formadores de MA), los solubilizadores de fósforo y los celulolíticos, alcanzaron proporciones muy bajas en el páramo desértico pero no ocurrió así para los actinomicetos y los diazotrofos.

La proporción absoluta de SP con relación al total de microorganismos (considerando las variantes CXA y CVA en su conjunto), fue 9 y 34% para el período menos y más lluvioso respectivamente. En el último caso esta proporción coincide con los estimados reportados por Azcón *et al.* (1976), para este grupo fisiológico.

En cuanto a las variaciones estacionales existió una tendencia hacia el incremento de los conteos en el período más lluvioso (Tabla 10), mientras que la respuesta a la variante topográfica, se observó dentro del período menos lluvioso, en que en general se obtuvieron los valores mayores en la variante CVA para los heterótrofos totales (en PD, SN, PSN, y SA), solubilizadores de fósforo (en PD, PA, SN y SA) y diazotrofos (en PD, PA, SN y SC).

Tabla 10. Proporción en porcentajes de los grupos fisiológicos respecto al total de las poblaciones microbianas en cada ecosistema y en ambos períodos en ecosistemas de Venezuela.

Período mas lluvioso												
	Het.tot.		Actinomicetos		Hongos		Solb.de P		Celulolíticos		Diazotrofos	
	CXA	CVA	CXA	CVA	CXA	CVA	CXA	CVA	CXA	CVA	CXA	CVA
<b>Páramo Desértico</b>	15.56	49.09	83.34	50.52	0.00	0.00	0.07	0.04	1.04	0.35	N.D.	N.D.
<b>Páramo Andino</b>	41.06	5.34	58.33	61.65	0.04	0.04	0.43	32.90	0.13	0.07	N.D.	N.D.
<b>Sabana Abierta</b>	8.04	4.96	7.72	6.44	0.47	0.64	82.11	86.28	1.66	1.67	N.D.	N.D.
<b>Sabana Cerrada</b>	51.99	11.43	42.04	15.55	0.07	1.10	4.55	70.39	1.35	1.54	N.D.	N.D.
Período menos lluvioso												
	Het.tot.		Actinomicetos		Hongos		Solb.de P		Celulolíticos		Diazotrofos	
	CXA	CVA	CXA	CVA	CXA	CVA	CXA	CVA	CXA	CVA	CXA	CVA
<b>Páramo Desértico</b>	0.03	0.34	80.12	30.48	0.00	0.00	0.11	0.29	1.20	0.06	18.54	68.83
<b>Páramo Andino</b>	8.44	2.32	55.64	1.12	0.22	0.04	9.59	29.49	4.25	0.69	21.86	66.33
<b>Selva Nublada</b>	26.24	59.06	58.02	29.86	8.32	2.25	5.00	5.64	1.03	1.27	1.39	1.91
<b>Pastizal de SN</b>	26.16	39.26	20.70	42.45	1.16	2.75	15.92	4.42	29.52	10.13	6.54	0.98
<b>Sabana Abierta</b>	22.24	41.37	26.83	23.10	1.81	1.48	3.21	6.19	0.97	1.29	44.95	26.57
<b>Sabana Cerrada</b>	35.14	4.94	29.79	4.89	1.11	0.38	26.06	4.91	0.39	0.07	7.52	84.82

Abreviaturas de topografía en Tabla 2.

### CONCLUSIONES

- ♦ La variabilidad de los grupos microbianos se vincula con el contenido relativo de humedad del suelo y con las condiciones ecológicas de los ecosistemas: sabanas abierta y cerrada; selva nublada y su pastizal de reemplazo y páramos andino y desértico.
- ♦ No existe relación directa y proporcional entre la disminución de la diversidad microbiana y el aumento de la altitud.
- ♦ La estacionalidad climática influye en las poblaciones de los grupos microbianos.

- ♦ El período menos lluvioso influye en general en las poblaciones de diazotrofos, heterótrofos totales y solubilizadores de fósforo en relación con las características topográficas a favor de la variante cóncava.

**Agradecimientos.** Al Dr. Juan Silva Jefe del proyecto asociado al CNR de la IAI: "Estudio comparativo de los efectos de cambios globales sobre la vegetación de dos ecosistemas: alta montaña y savana tropical (RICAS). Los fondos recibidos de este proyecto hicieron posible la realización de este trabajo en el contexto del proyecto PESCA: "Efectos de cambios globales sobre la diversidad de

la vegetación y la microbiota edáfica de ecosistemas tropicales insulares y continentales". A todos los profesores y técnicos del Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas de la ULA, Mérida, Venezuela. A los especialistas del Instituto de Ecología y Sistemática, La Habana Cuba: MCs Guillermina Hernández por la meticulosa revisión del documento y oportunas sugerencias realizadas; Dra. María Rodríguez Pérez por sus valiosas observaciones y a la Dra. Nancy Ricardo por la exhaustiva revisión de este manuscrito.

## REFERENCIAS

- Acea, M. J. y T. Carballas, 1999. Microbial fluctuations after soil heating and organic amendment. *Bioresource Technology* (67): 65-71.
- Alexander, M. 1977. *Introduction to Soil Microbiology*. Wiley, NewYork.
- Ataroff, M. 2001. *Bosques Nublados del Geotrópico*. En: M. Kapelle y A.D. Brown (eds.). Editorial INBIO, Costa Rica. pp. 397-442
- Ataroff M. y F. Rada. 2000. Deforestation Impact on water dynamics in a Venezuelan Andean Cloud Forest. *Ambio*. 29 (7): 440-444.
- Ataroff, M. y M. Monasterio. 1986. Ecología y desarrollo en Los Andes Tropicales: pisos de vegetación y asentamientos humanos. *Anales del IV Congreso Latinoamericano de Botánica*, 29 de junio-5 de julio, Medellín, Colombia. pp 65-81.
- Azcón R., J. M. Barea y D. S. Hayman .1976. Utilization of rock phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria. *Soil. Biol. Biochem.* (8): 135-138.
- Barnola, L y M. Montilla. 1997. Vertical distribution of mycorrhizal colonization, root hairs, and belowground biomass in three contrasting sites from the Tropical High Mountain (Mérida, Venezuela). *Artic and Alpine Research*. (29): 206-214.
- Bull, A.T., A. C. Ward y M. Goodfellow. 2000. Search and discovery strategies for biotechnology: the paradigm shift. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 64: 573-606.
- Couteaux, M. M., L. Sarmiento, P. Bottner, D. Acevedo y J. M. Thiéry. 2000. Decomposition of standard plant material along an altitudinal transect (100 to 4200m) in the tropical Andes (en prensa).
- Díaz-Raviña, M., M. J. Acea y T. Carballas. 1993. Microbial biomass and its contribution to nutrient concentrations in forest soils. *Soil. Biol. Biochem.* (25): 25-31.
- Fernández, C. y R. Novo. 1988. El suelo como sustrato para la vida microbiana En: C. Fernández y R. Novo (eds.). *Vida microbiana en el suelo*. 1: 7-49. Editorial Pueblo y Educación, La Habana, Cuba.
- Frioni L. 1990. *Ecología microbiana del Suelo*. En: Colección Reencuentro/8. (eds.) Universidad de la República. Montevideo, Uruguay.
- Frobisher, M. 1969. *Microbiología*. En: Academia León (ed.) España.
- Furrazola E. 2003. Tendencias funcionales de las micorrizas arbusculares en ecosistemas naturales y de reemplazo en Venezuela y Cuba. [inédito]. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología y Sistemática. Cuba
- Girard H. y R. Rougieux. 1964. Técnicas de microbiología Agrícola. Editorial Acribia, Zaragoza, España, [www.lyesa.com/consultas/consultas/Acribia/Sublistas/Acribia2.html](http://www.lyesa.com/consultas/consultas/Acribia/Sublistas/Acribia2.html).
- Harrigan W.F. y M.E. Mc Cance. 1968. *Métodos de laboratorio en Microbiología*. Editorial Academia, León, España. [www.ciencias.uma.es / webeees / gd / cordoba / coexpmicro.doc](http://www.ciencias.uma.es/webeees/gd/cordoba/coexpmicro.doc)
- Hernández G. 1999. Influencia de la materia orgánica sobre algunas características del suelo en bosques de la Sierra del Rosario. [inédito]. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología y Sistemática. Cuba
- Higashida, S. y K. Takao. 1985. Seasonal fluctuation patterns of microbial numbers in the surface soil of a grassland. *Soil Science Plant Nutrition* (31) 113-120.
- Malagón, D. 1982. *Evolución de suelos en el páramo Andino*. CIDIAT, Mérida, Venezuela, 87pp.
- Martínez-Cruz, A, M.G. Carcaño-Montiel y L. López-Reyes. 2002. Actividad biológica en un transecto altitudinal de suelos de La Malinche, Tlaxcala. *Terra* (20): 141-146.
- Martínez-Viera, R. 1986. *Ciclo biológico del nitrógeno en el suelo*. 1ra edición. La Habana, Cuba, 167pp
- Mc Grady, M. H. 1918. Tables for rapid interpretation of fermentation tubes results. *Can. Pub. Health. J.* (9): 275-286.
- Medina M. E. 2004. Grupos funcionales microbianos en ecosistemas de Bosque y Pastizal de Cuba y Venezuela [inédito]. Tesis de Maestría. Instituto de Ecología y Sistemática. Cuba
- Metzger, W. C., D. A. Klein y E. F. Redente. 1986. Bacterial physiological diversity in the rhizosphere of range plants in response to retorted shale stress. *Applied and Environmental Microbiology*. (52): 765-770.
- Monasterio, M. 1980. Las formaciones vegetales de los páramos de Venezuela. En: M. Monasterio (ed.) *Estudios ecológicos en los páramos andinos*. Ediciones de la Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela, 93-159 pp.
- Monasterio, M. y G. Sarmiento. 1991. Adaptative radiation of *Espeletia* in the cold Andean tropics. *Tree* (12): 387-391.
- Nioh, I. 1977. Characteristics of bacteria in the forest soils under natural vegetation. *Soil Sci. Plant Nutr.* 23 (4): 523-529.
- Orozco, M.O., R.A.Herrera, E.Furrazola, y R. Ferrer. 2001. *Influencia del micelio externo de las micorrizas arbusculares en la formación de macroagregados del suelo*. XV Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo. Varadero del 11 al 16 de noviembre. CD ROM.
- Orozco, MO., M .E. Rodríguez, R.A. Herrera y R.L. Ferrer. 1986. Micorrizas VA, micelio extramático y otras poblaciones microbianas asociadas a troncos en descomposición en un bosque tropical. En: Informe provisional No. 18. *Ciclo lectivo sobre técnicas de investigación en micorrizas*, IFS. Estocolmo, Suecia, 251-270.
- Orozco MO, M.A. Martínez y E. Collazo 1985. Estudio de la velocidad de descomposición de la hojarasca en un pastizal de *Panicum maximum* Jacq. Memorias del Primer Simposio Cubano de Botánica. 2-5 de julio, La Habana, Cuba. 485-502.

- Ortega, F. 1982. Transformaciones de los restos orgánicos en el suelo. En: Editorial Academia (eds.) *La materia orgánica de los suelos y el humus de los suelos de Cuba*. 1: 53-56. Academia de Ciencia de Cuba.
- Pan, B. y J. K. Vessey. 2001. Response of the endophytic diazotroph *Gluconacetobacter diazotrophicus* on solid media to changes in atmospheric partial O<sub>2</sub> pressure. *Applied and Environmental Microbiology* 67 (10): 4694-4700.
- Petersen, O. S, P.S. Frohne y A. C. Kennedy. 2002. Dynamics of a soil microbial community under spring wheat. *Soil Science Society of American Journal* 66: 836-833.
- Pochon, J. y P.Tardeaux. 1962. Techniques en microbiologie du sol. En: *Tourelle* (ed.). Saint-Mandé, 102pp.
- Reis V. 2000. Endophytic diazotrophic bacteria in the gramineae family. Conferencia magistral, Anales Científicos de la XX RELAR, pp.121- 125.
- Rodríguez, M., M. A. Martínez y M. O. Orozco. 1989. Descomponedores. En: Herrera R. A., L. Menéndez, M. E. Rodríguez, y E. Gracia (eds.) *Ecología de los Bosques Siempreverdes de la Sierra del Rosario*, Cuba Proyecto MAB N 1, 1974.1987. pp. 773-796.
- Rodríguez, M., M. O. Orozco, C. Alonso y M. Lescaille. 1986. Variaciones de algunos factores edáficos en relación con afectaciones de la vegetación en un área de la Estación Ecológica de Sierra del Rosario. I. Humedad, materia orgánica, fósforo, nitrógeno, relación C/N y pH. *Reporte de investigación*. Academia de Ciencias de Cuba. (15): 1-23.
- Rodríguez, M.R; M.O. Orozco, y J..M. Pajón 2000. Importancia de los procesos biológicos la corrosión kárstica de tipo "tinajitas" en el Pan de Guajabón, Cordillera de Guaniguanico, Pinar del Río, Cuba. *Acta Botánica Cubana*. No. 143-149. pp. 1-7.
- Velazco, A. 2001. Utilización de *Azospirillum brasilense* en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.) sobre un suelo hidromórfico gley de la provincia de Pinar del Río. Tesis presentada en opción al título de Dr. en Ciencias Agrícolas. San José. Prov. La Habana. Cuba.
- Watanabe, I. y W. L. Barraquio. 1979. Low levels of fixed nitrogen required for isolation of free living organism from rice roots. *Nature* (227): 565-566
- Wonnacott, T.H. y R..J. Wonnacott,. 1988. Introducción a la Estadística . Tercera reimpresión. México D.F., México.
- Xu, L. H., Q. Ren Li y Ch. L. Jiang. 1996. Diversity of soil actinomycetes in Yunnan, China. *Applied and Environmental Microbiology* (62): 244-248.