

**EFFECTO DE DOS TIPOS DE RESTAURACIÓN SOBRE DOS GRUPOS FUNCIONALES
MICROBIANOS EDÁFICOS (PNN LOS NEVADOS, PEREIRA, RISARALDA)**



**DIANA CAMILA DELGADO ÁNGEL
GRACE STEPHANI MORENO URREA**

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ, D.C
MAYO DE 2010**

**EFFECTO DE DOS TIPOS DE RESTAURACIÓN SOBRE DOS GRUPOS FUNCIONALES
MICROBIANOS EDÁFICOS (PNN LOS NEVADOS, PEREIRA, RISARALDA)**

**DIANA CAMILA DELGADO ÁNGEL
GRACE STEPHANI MORENO URREA**

TRABAJO DE GRADO
Presentado como requisito parcial para optar el título de
MICROBIÓLOGA INDUSTRIAL

AMANDA VARELA RAMÍREZ, Ph. D.
Directora

PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ, D.C.
MAYO DE 2010

NOTA DE ADVERTENCIA

Artículo 23 de la Resolución N° 13 de Julio de 1946.

“La Universidad no se hace responsable por los conceptos emitidos por sus alumnos en sus trabajos de tesis. Solo velará porque no se publique nada contrario al dogma y a la moral católica y por que las tesis no contengan ataques personales contra persona alguna, antes bien se vea en ellas el anhelo de buscar la verdad y la justicia”.

**EFFECTO DE DOS TIPOS DE RESTAURACIÓN SOBRE DOS GRUPOS FUNCIONALES
MICROBIANOS EDÁFICOS (PNN LOS NEVADOS, PEREIRA, RISARALDA)**

**DIANA CAMILA DELGADO ÁNGEL
GRACE STEPHANI MORENO URREA**

APROBADO

AMANDA VARELA RAMÍREZ, Ph.D.
Directora

ADRIANA MATIZ VILLAMIL
Bacterióloga, M. Sc.
Jurado

**EFFECTO DE DOS TIPOS DE RESTAURACIÓN SOBRE DOS GRUPOS FUNCIONALES
MICROBIANOS EDÁFICOS (PNN LOS NEVADOS, PEREIRA, RISARALDA)**

**DIANA CAMILA DELGADO ÁNGEL
GRACE STEPHANI MORENO URREA**

APROBADO

INGRID SCHULER, Ph. D.
Decana Académica

JANETH ARIAS PALACIOS, M.Sc.
Directora Carrera de
Microbiología Industrial

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD JAVERIANA
FACULTAD DE CIENCIAS
CARRERA DE MICROBIOLOGÍA INDUSTRIAL
BOGOTÁ, D.C
MAYO DE 2010**

AGRADECIMIENTOS

A Dios por ser mi guía y mi protección. Porque nunca me desampara y me da las fuerzas para seguir adelante cada día. A mis papás, Hector y Janeth por darme todo su amor y brindarme su ejemplo y enseñanzas para ser mejor persona hoy y en el futuro y por permitirme culminar mis estudios satisfactoriamente. A mi hermana Paola por brindarme su confianza y por apoyarme en todos los momentos de mi vida. A Grace Moreno, mi compañera en este trabajo de grado, porque sin su colaboración, lealtad y comprensión no hubiera logrado sacar adelante este proyecto, gracias por creer en mí, por estar ahí siempre y por brindarme tu amistad sincera e incondicional. Y a mis demás amigas, amigos y familiares por compartir conmigo cada uno de los momentos vividos, por su apoyo, paciencia y generosidad que fueron fundamentales para el cumplimiento de esta meta.

Diana Camila Delgado Ángel

A Dios por guiarme, darme la sabiduría y la seguridad para culminar esta etapa tan importante en mi vida. A mis padres por la confianza que han puesto en mí, por su apoyo, amor y comprensión. Finalmente quiero agradecer a todos mis amigos por su compañía durante la carrera en especial a Camila Delgado quien ha sido un apoyo incondicional e indispensable en el cumplimiento de esta meta.

Grace Stephani Moreno Urrea

A la Pontificia Universidad Javeriana y a la Universidad Tecnológica de Pereira por brindarnos la contribución financiera para realizar el estudio.

A la Dra. Amanda Varela Ph.D. nuestra directora, por su orientación, apoyo y colaboración para llevar a cabo con éxito este estudio.

Al Laboratorio de Ecología de Suelos y Hongos Tropicales (LESYHT) y el Departamento de Química (PUJ), por proveernos las herramientas necesarias durante el desarrollo del estudio.

Diana Camila Delgado Ángel y Grace Stephani Moreno Urrea

RESUMEN

Se estableció tanto el efecto de la restauración activa y pasiva como el de la época climática sobre la densidad y actividad de los grupos funcionales bacterianos fijadores de nitrógeno (BFN) y proteolíticos (BP) en suelos del Parque Nacional Natural Los Nevados (Pereira, Risaralda) y la influencia de propiedades fisicoquímicas del suelo sobre estos grupos funcionales. Se realizaron análisis microbiológicos y fisicoquímicos como pH, conductividad eléctrica, textura, porcentaje de humedad, porcentaje de materia orgánica y distribución de agregados. Los resultados mostraron que el tipo de restauración influyó sobre la densidad y actividad de los dos grupos funcionales evaluados siendo éstos mayores en la restauración activa. Sin embargo aunque se encontraron diferencias estadísticamente significativas, las diferencias a nivel biológico son pequeñas y por tanto las implicaciones de estos grupos funcionales sobre los procesos edáficos como descomposición y flujo de nutrientes no generarían ningún tipo de repercusión positiva - negativa. Igualmente se determinó que el tipo de restauración tiene un efecto sobre algunas propiedades fisicoquímicas del suelo como es el caso de la conductividad eléctrica y el porcentaje de humedad evidenciándose los valores más bajos en la restauración pasiva. Por otro lado, la época climática tuvo en efecto sobre la mayoría de las propiedades fisicoquímicas del suelo (materia orgánica, distribución de agregados, conductividad, pH), encontrándose los mayores valores en la época seca. Así mismo se estableció que existe un efecto de las propiedades fisicoquímicas tales como el porcentaje de materia orgánica, el porcentaje de humedad, distribución de agregados y conductividad eléctrica sobre la densidad y actividad de BP y BFN, concluyendo que los cambios en las propiedades fisicoquímicas evaluadas en los dos tipos de restauración y el control se relacionan con el comportamiento de los grupos funcionales evaluados. Para estudios posteriores es de gran importancia evaluar los mismos parámetros en un periodo más largo de tiempo después de implementados los diferentes tipos de restauración con el fin de establecer si los grupos funcionales evaluados se comportarán de la misma manera o de lo contrario se observarán cambios más marcados sobre estos.

ABSTRACT

The effect of the passive and active restoration was established as well as the effect of the climatic season on the density and the activity of the functional groups such as the nitrogen fixing bacteria (NFB) and proteolytic bacteria (PB) in the soil of the "Parque Nacional Natural Los Nevados (Pereira, Risaralda)" and the influence of the physicochemical properties of the soil on these functional groups. Microbiological analysis and physicochemical analysis such as pH, electric conductivity, texture, percentage of humidity, percentage of organic matter and aggregates distribution were carried out. The results showed up that the kind of restoration had an influence on the density and activity on both functional groups evaluated, having more influence the active restoration. Although, there were found differences statistically significant, the differences were few at biological level, as a consequence, the influence of these two functional groups on the edaphic process such as decomposition and flux of nutrients will not generate any positive-negative repercussion. It was found out that the kind of restoration has an effect on some physicochemical properties, for instance, electric conductivity and percentage of humidity, getting lowest values in the passive restoration. On the other hand, it was established that the climatic season had an effect on most the physicochemical properties of the soil (organic matter, conductivity, pH, aggregates distribution), finding the highest values in dry season. In addition, there was found an influence of the physicochemical properties of the soil, electric conductivity, percentage of humidity, percentage of organic matter and aggregates distribution on the activity and density of NFB and PB. Concluding that the changes in the physicochemical properties evaluated in both kinds of restoration and the control are related to the behavior of the functional groups studied. In posterior studies, it is important to evaluate the same parameters in a longer period of time after the restoration was done with the aim of establishing if the functional groups evaluated will behave in the same way or on the contrary there will be considerable changes on these.

INTRODUCCIÓN

Los páramos son ecosistemas que cumplen un papel importante como generadores, reguladores, y almacenadores de recursos hídricos, riqueza paisajística y además albergan diversidad de fauna y flora, así como de microorganismos que son la base del sustento para el desarrollo de comunidades vegetales (Moratto *et al.* 2005). Sin embargo la conformación estructural de estos ecosistemas hace que sean vulnerables a desequilibrios ecológicos como los incendios; uno de estos eventos ocurrió en el parque Nacional Natural los Nevados en el año 2006. Un año después se implementó un programa de restauración activa y pasiva que incluyó la siembra de especies de hierbas, arbustos, semillas y frailejones, para el primer caso, y el seguimiento detallado de un área delimitada sin realizarle ningún tipo de tratamiento, para el caso de la restauración pasiva. Esto con el fin de establecer cuál de estos dos tipos de restauración es la que favorece la proliferación microbiana (Rondón *et al.* 2002, Brown *et al.* 2003).

Estos disturbios ecológicos como lo son los incendios no sólo afectan la vegetación sino también microorganismos que cumplen un papel importante en la estabilidad del suelo, ya que están implicados en la disponibilidad de nutrientes que son indispensables para el desarrollo de la biomasa vegetal, por lo que toman importancia como indicadores en el suelo. Esto se debe a que dicha disponibilidad puede verse afectada por acción de los microorganismos, lo que hace que se puedan reflejar con mayor eficiencia los cambios en el funcionamiento dentro de un ecosistema (Moratto *et al.* 2005, Blaya y Garcia 2003). Existen grupos funcionales como las fijadoras de nitrógeno libres y las bacterias proteolíticas cuya función en el suelo es fundamental para plantas que no pueden acceder al nitrógeno orgánico que se encuentra en los suelos, donde, en el caso de los páramos al ecosistemas con pH muy ácidos y humedades altas se convierte en un proceso difícil para la vegetación que habita allí. En este sentido los microorganismos se ven implicados en la restauración ya que la composición de las poblaciones microbianas ha sido usada para ver los cambios en la biota en respuesta al uso del suelo y, por tanto, son indicadores de su estado biológico (Pankhurst y Doube 1997).

Es por esto que el objetivo de este estudio fue llevar a cabo un análisis comparativo para determinar el efecto de la restauración activa y pasiva sobre grupos funcionales fijadores de nitrógeno libre y proteolíticas, así como sobre las propiedades fisicoquímicas del suelo del PNN Nevados (Pereira, Risaralda).

MARCO TEÓRICO

El suelo alberga una enorme diversidad de microorganismos que juegan un papel fundamental en la regulación de los flujos globales de materia y energía. Un suelo naturalmente fértil es aquel en el que los organismos edáficos van liberando nutrientes inorgánicos, a partir de las reservas orgánicas, con velocidad suficiente para mantener un crecimiento rápido de las plantas. La actividad biológica de los suelos es la resultante de las funciones fisiológicas de los organismos y proporciona a las plantas superiores un medio ambiente adecuado para su desarrollo (Julca *et al.* 2006; Buscot y Varma 2005).

El suelo es un medio complejo donde ocurren diversas interacciones que afectan los microorganismos que lo habitan y, sus características fisicoquímicas pueden influir directa o indirectamente sobre las poblaciones microbianas (Gliessman 2002, Terron 2003). Uno de estos factores es la humedad ya que afectan la disponibilidad del agua y las relaciones osmóticas de las células, llegando a causar por su exceso una disminución en la concentración de oxígeno, impidiendo que microorganismos aerobios estrictos puedan habitar allí (Heras 2003). Otro de los factores claves es el pH, pues este influye en la actividad de los microorganismos de tal modo que la materia orgánica se descompone más lentamente y disminuye el aporte de nutrientes en ella retenidos por su baja velocidad de mineralización, por lo que un pH neutro y ligeramente alcalino

permite que las bacterias se desarrollen mucho mejor (Mataix 1999; Julca *et al.* 2006). De igual manera la temperatura cumple un papel fundamental en el desarrollo de los microorganismos, ya que la actividad metabólica de los microorganismos se inicia cuando se supera un determinado umbral térmico. Cuando la temperatura no es adecuada los microorganismos que se encuentran allí deben generar mecanismos de resistencia o permanecer en estados de latencia, lo cual impide que estos lleven adecuadamente sus funciones en el suelo, como por ejemplo la transformación de nutrientes (Thompson y Troeh 1988; Julca *et al.* 2006; Abadín 2008).

Por otro lado la materia orgánica también tiene un papel fundamental tanto en el suelo como en los microorganismos, pues favorece los procesos de mineralización y el desarrollo de la cobertura vegetal; además sirve de alimento a una multitud de microorganismos y también estimula el crecimiento de la planta en un sistema ecológico equilibrado (Coyne 2004). Algunas bacterias heterótrofas se ven afectadas negativamente cuando el contenido de materia orgánica está en bajas cantidades debido a que éstas oxidan la materia orgánica para obtener energía. La materia orgánica también tiene efectos sobre las propiedades físicas del suelo, formando agregados y dando estabilidad estructural, uniéndose a arcillas y formando un complejo, favoreciendo la penetración del agua y su retención, y disminuyendo la erosión (Wild *et al.* 1992). De manera similar a las características químicas, las propiedades físicas también afectan la supervivencia de los microorganismos, ya que la textura independientemente de los horizontes del suelo, contienen proporciones variables de arcilla, limo y arena (Osorio & Zapata 2001, Rucks *et al.* 2004) y, la proporción de estas partículas de diferente tamaño constituyen el área de superficie disponible como hábitat para el crecimiento de los microorganismos que cumplen un papel fundamental en la fertilidad del suelo (Atlas & Bartha 2002, Coyne 2004).

Se dice que los microorganismos del suelo están directamente relacionados con la fertilidad del mismo, la cual se define como la capacidad para proporcionar a las plantas un medio físico, que permita su establecimiento y desarrollo y suministre, en cantidad y forma adecuada, los nutrimentos que necesitan para satisfacer sus necesidades durante toda su existencia (Porta 2003, Wild 1992). Un grupo funcional corresponde a un conjunto de organismos que se relacionan morfológica y fisiológicamente con el tipo de ecosistema en el que se encuentren interactuando (Díaz y Cabido 2001). A nivel microbiológico la función de los microorganismos en el suelo, especialmente la de algunos grupos está dada por la relación metabólica existente entre éstos y se clasifican dependiendo del papel que cumplan en determinado hábitat en el suelo, por ejemplo aquellas bacterias involucradas en la transformación de las proteínas son conocidas como bacterias proteolíticas dando lugar a un grupo funcional con una función específica (Díaz y Cabido 2001). La interacción en los procesos fisiológicos entre determinados grupos funcionales conducen a la formación de comunidades microbianas, las cuales juegan un papel preponderante como indicadores de calidad y salud de los suelos (Acuña *et al.* 2006, Torres y Lizarazo 2006, Lizarazo 2001).

La calidad y salud de los suelos también se ve reflejada en la disponibilidad de diferentes nutrientes que necesitan las plantas. El nitrógeno por su parte es un macronutriente esencial para estas, ya que la falta o baja disponibilidad de este se convierte en un factor limitante del crecimiento vegetal. Gran parte del nitrógeno del suelo sufre grandes transformaciones al ser utilizado por las plantas superiores. Las proteínas son degradadas originando productos de descomposición más sencillos y finalmente parte del nitrógeno aparece en forma de nitratos, el cual es aprovechado tanto para los microorganismos como para las plantas superiores para construir sus estructuras proteicas (Blaya y Garcia 2003). Cabe resaltar que los microorganismos tienen una relación directa con las plantas, pues están involucrados en los procesos de transformación de la materia orgánica y fijación de nitrógeno, los cuales proveen a la planta las formas solubles de nitrógeno. Aquellos que intervienen en la mineralización de la materia orgánica son las bacterias proteolíticas, las cuales se encargan de hidrolizar las proteínas y aminoácidos que son mineralizadas hasta amoníaco, el cual por procesos de nitrificación es convertido a nitratos, a su vez las bacterias fijadoras de nitrógeno toman el nitrógeno molecular presente en la atmósfera a partir de una enzima llamada nitrogenasa, convirtiéndolo en amoníaco que de igual

manera sufrirá procesos de nitrificación y será utilizado por las plantas (Atlas y Bartha 2005, Sánchez 2007).

Por otra parte la capacidad de transformación de nutrientes así como la densidad y actividad de los microorganismos está dada tanto por el tipo de suelo como del ecosistema en el que se encuentren. Los ecosistemas de alta montaña generalmente presentan un alto endemismo, lo que ha llevado a estimarlos como los más biodiversos que los ecosistemas de la selva húmeda tropical. Esta diversidad y endemismo se aprecian en todas las escalas de la cadena trófica desde los microorganismos hasta mamíferos (Moratto *et al.* 2005). Sin embargo estos ecosistemas se consideran ambientes extremos para diversos microorganismos y es muy posible que existan microorganismos que hayan generado distintos mecanismos de resistencia para subsistir allí. Es el caso de bacterias fijadoras de nitrógeno libre donde se han encontrado diversos géneros de microorganismos que utilizan los polihidroxicarbonatos (PHB_s) como mecanismo de subsistencia a las condiciones en las que normalmente se encuentra el páramo. Géneros como *Azospirillum*, *Derxia* y *Pseudomonas* se han asilado de páramos como el de Guerrero y Granizo que presentan pH muy ácidos, humedades relativamente altas y bajas cantidades de materia orgánica (Valencia *et al.* 2007). También se han encontrado géneros como *Sthapylococcus*, *Bacillus* y *Micrococcus* para el caso de bacterias proteolíticas (Bernal *et al.* 2006). Los páramos son extensas regiones desarboladas que coronan las cordilleras por encima del bosque andino, con altitudes que van desde los 3.200 m, y se caracterizan por presentar un clima frío y una vegetación compuesta por musgos, pajonales o gramíneas, árboles y arbustos (Bernal *et al.* 2005, Benavides y Silva 2008). En Colombia abarcan aproximadamente el 1,3% de la extensión continental del país, alcanzando su máxima representatividad en el departamento de Boyacá. Albergan una rica flora endémica y prestan múltiples servicios ambientales principalmente como cuencas abastecedoras de agua para consumo, actividades productivas e hidroenergéticas, así como áreas de influencia de los principales embalses, represas y estrellas hidrográficas (Ministerio del Medio Ambiente 2002). Estos ecosistemas son muy vulnerables al desequilibrio ecológico ocasionado por factores naturales como los cambios climáticos de la atmósfera y por factores humanos como los incendios, provocando erosión acelerada de los suelos, desprendimiento de tierras, pérdida de diversidad biológica y degradación de cuencas hidrográficas (Ministerio del Medio Ambiente 2002, Reyes *et al.* 1995, Bernal *et al.* 2005).

Cuando el desequilibrio ecológico se da por un incendio, este puede causar la desaparición de la cubierta vegetal o una alteración grave en la sucesión y organización de las comunidades vegetales, modificando las condiciones físicas del medio, provocando que existan cambios en la presencia, distribución y densidad de especies vegetales. También puede ejercer un efecto sobre los microorganismos que en un principio puede ser letal, viéndose reducida la biomasa microbiana (Mataix 1999, Torres *et al.* 2004). Sin embargo se sabe que al poco tiempo por cambios abióticos que se pueden presentar en el lugar se suelen producir incrementos notables de bacterias, en momentos en los que la humedad es alta, motivado por un aporte de nutrientes por parte de las cenizas, aumento del pH y la acumulación de cenizas. Cuando se produce un aumento en los microorganismos pueden favorecerse más unos que otros, este es el caso de bacterias amonificantes, mientras que se reducen los celulolíticos y los nitrificantes. Otros efectos que pueden darse son la modificación del microclima, la pérdida de materia orgánica, efectos sobre la estructura y propiedades fisicoquímicas del suelo (Mataix 1999, Torres *et al.* 2004, Mabuhay *et al.* 2006).

Debido a las transformaciones que pueden ocurrir en el suelo tanto para la vegetación, como para las propiedades de suelo y para los microorganismos, la restauración ecológica es primordial para la recuperación del suelo, pues una disciplina que busca llevar un ecosistema alterado o degradado a su estado original (Ramírez *et al.* 2007). No obstante este proceso toma tiempo y en las primeras etapas es necesario empezar por recuperar algunos atributos estructurales del ecosistema como la cobertura vegetal, y, funcionales como el aumento de nutrientes en el suelo, la reducción en la pérdida de agua en el suelo, el aumento de propágulos de vegetación nativa entre otras. Este proceso implica realizar acciones que buscan llevar al ecosistema hasta un estado en el

cual sea autosostenible estructural y funcionalmente, teniendo en cuenta las condiciones iniciales y su historia de uso y procesos (Ramírez *et al.* 2007).

Existen dos tipos de restauración dependiendo del escenario de restauración, la pasiva es entendida como la regeneración natural del suelo donde el hombre no interviene sino el suelo es capaz de recuperar sus condiciones iniciales de manera autónoma, por otro lado la activa implica que se establezcan programas de restauración en los cuales puede ocurrir que la vegetación original no se utilice sino que un tipo de vegetación nueva ocupe ahora el sitio (Ramírez *et al.* 2007, Brown *et al.* 2003).

Para la recuperación y consecuente aumento de la biomasa microbiana, sería posible utilizar los aportes vegetales del suelo, producto del desarrollo de la vegetación, siendo este aporte el motor energético para el crecimiento de la comunidad microbiana (Llambí y Sarmiento 1998). Se sabe que en el suelo los microorganismos desarrollan una amplia gama de acciones que inciden en el desarrollo y nutrición vegetal. Cuando se introducen plantas en el sistema, la situación de los microorganismos cambia drásticamente, ya que las plantas son las principales suministradoras de sustratos energéticos al suelo, de los que los microorganismos se aprovechan cuando se encuentran en la zona próxima a la raíz y proliferan en ella; en contraste puede ocurrir que las áreas en las que no se practique restauración puedan tener niveles significativamente mayores de microorganismos y puedan mostrar mayores niveles de materia orgánica (Ramírez *et al.* 2007, Llambí y Sarmiento, 1998).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los páramos colombianos vienen sufriendo serios procesos de transformación y degradación, debidos principalmente al cambio de uso del suelo, al desarrollarse actividades sectoriales y agropecuarias inadecuadas que pueden causar disturbios como los incendios. Este tipo de disturbio se convirtió en una de las principales amenazas de El Parque Nacional Natural los Nevados presentándose un incendio que involucró sectores como La Laguna del Otún, La Alsacia, El Silencio, Loma Bonita, Bagaseca y Laguna La Leona, en el Departamento de Risaralda, afectando un área del orden de 2374 ha. Esto generó la pérdida de fauna y flora y muy posiblemente transformaciones de las propiedades del suelo, como en las poblaciones microbianas. Dichos impactos ecológicos requirieron de una restauración, ya que esta se convierte en una manera efectiva de llevar un ecosistema alterado o degradado a su estado original. Al utilizar diferentes estrategias de restauración sea pasiva o activa pueden haber efectos en la densidad y actividad microbiana, pero esto se desconoce, pues no existen estudios al respecto. Por lo tanto al identificar qué tipo de restauración permitirá que los microorganismos se encuentren en mayor proporción y cumplan sus funciones adecuadamente beneficiará la vegetación existente como la que sigue en crecimiento. Entre los diferentes microorganismos capaces de aumentar la disponibilidad de minerales para las plantas se encuentran las bacterias fijadoras de nitrógeno y proteolíticas, que se encargan de mejorar la disponibilidad de nitrógeno necesario para la supervivencia de las plantas, ya que este mineral es esencial en sus estructuras proteicas. De manera recíproca la planta le provee a los microorganismos todas las condiciones necesarias para que estos puedan sobrevivir en la rizosfera como factores de crecimiento o metabolitos secundarios.

JUSTIFICACIÓN

El Parque Nacional Natural Los Nevados se encuentra localizado en la Cordillera Central, de Colombia, vertientes oriental y occidental, con altitudes entre los 2.600 y 5.321 msnm, comprendiendo un área aproximada de 58.300 ha. Es una de las principales áreas protegidas de carácter nacional que hace parte de los procesos de ordenamiento ambiental del territorio, en donde se producen y regulan múltiples bienes y servicios ambientales para la región. El agua que nace y se regula en este Parque y su zona de influencia abastece las necesidades de más de dos millones de personas. Su protección y conservación se convierte en elemento clave para el

desarrollo socio ambiental y eje articulador de las iniciativas de conservación regional. Los problemas que se presentan en la zona están relacionados con la falta de un programa de capacitación permanente en temas referentes a la biología de la conservación, educación ambiental, control y monitoreo dirigido a la comunidad en general. A causa de esto se originan desastres naturales que generan un alto impacto en esta área como los incendios forestales, los cuales se han convertido en una de las principales causas de deterioro y pérdida de la flora y fauna del país, contaminación de aire y agua y pérdida de suelos. Estos incendios se generan principalmente en el páramo el cual es el ecosistema más representativo dentro del Parque; de allí que la implementación de estrategias de restauración tanto activa como pasiva sea la forma más factible para regresar este ecosistema a su estado original. Así mismo, producto del manejo inadecuado que se le da a este tipo de disturbios se derivan alteraciones en los procesos edáficos ecológicos y biológicos como la descomposición de la materia orgánica y los ciclos biogeoquímicos, en los cuales participan principalmente grupos funcionales microbianos, esenciales para el buen funcionamiento de los ecosistemas. Grupos funcionales como las bacterias fijadoras de nitrógeno libres y las proteolíticas cumplen un papel importante en el ciclo del nitrógeno que es un elemento primordial en la nutrición vegetal y por tanto en la fertilidad de los suelos, razón por la cual se hace importante el estudio del comportamiento de estos grupos funcionales en este tipo de ecosistema como lo es el páramo.

OBJETIVOS

GENERAL

Determinar el efecto de la restauración activa y pasiva sobre la densidad y actividad de bacterias proteolíticas y fijadoras de nitrógeno en los suelos de la Laguna de Otún, Parque Nacional Natural los Nevados.

ESPECÍFICOS

1. Cuantificar y comparar la densidad y actividad de los grupos funcionales evaluados entre los suelos con restauración activa, pasiva y control.
2. Identificar cambios en las características de los suelos con restauración activa y pasiva como del suelo control mediante parámetros fisicoquímicos como pH, textura, humedad, distribución de agregados, conductividad y porcentaje de materia orgánica.
3. Determinar si existe un efecto de la densidad y actividad de los microorganismos fijadores de nitrógeno y proteolíticos sobre las propiedades fisicoquímicas a partir de los resultados obtenidos en los suelos con restauración activa y pasiva como en los suelos control.
4. Determinar la influencia de la época climática sobre la densidad y actividad de bacterias proteolíticas y fijadoras de nitrógeno, y, las variables fisicoquímicas de los diferentes tipos de restauración y el control.

MATERIALES Y MÉTODOS

DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El área de muestreo se ubicó al lado de la Laguna de Otún en el parque Nacional Natural los Nevados (Pereira, Risaralda). El evento objeto de estudio es la restauración ecológica que se enfoca en un área de 2374 ha afectada por un incendio ocurrido en Julio de 2006 que afectó específicamente un área que se circunscribe en su totalidad en el Departamento de Risaralda. Ésta fue implementada en marzo de 2007 (Ramírez *et al.* 2007, Ortíz y Vargas 2007). Un año después

del proceso de restauración se realizaron dos muestreos, uno que correspondió a época de lluvias (mayo) y el otro a época seca (agosto). Se seleccionaron seis áreas tres con restauración activa de la vegetación y tres con restauración pasiva. Adicionalmente se tomaron muestras de un área control (no afectadas por el incendio ni restauradas). En las muestras de suelo analizadas se evaluaron los parámetros de densidad y actividad microbiana de las poblaciones de bacterias fijadoras de nitrógeno y proteolíticas, en un suelo con restauración activa y pasiva como también en los suelos control. Adicionalmente se realizaron pruebas fisicoquímicas a cada una de las muestras de suelo correspondientes a pH, textura, humedad, distribución de agregados, conductividad y porcentaje de materia orgánica. La muestra de estudio fueron las bacterias fijadoras de nitrógeno y proteolíticas, de las muestras de suelo analizadas.

DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO: Se encuentra ubicada en el Parque Nacional Natural Los Nevados, localizado geográficamente en la Cordillera Central de Colombia, con altitudes comprendidas entre los 2.600 y 5.321 m. Comprende un área aproximada de 58.300 ha. La zona posee en régimen tetra estacional bimodal con dos períodos de lluvias (abril-mayo y octubre-noviembre), y dos períodos de época seca (diciembre-febrero y junio-agosto). La precipitación media anual se estima en 1096,2 mm, una temperatura media de 7,0, mínima de -1,5 y máxima de 14,8 °C. La humedad relativa se estima en promedio 82 % (Ramírez *et al.* 2007).

Toma de las muestras: Se seleccionaron cuatro sitios que respondían a los sectores de La Alsacia, Bocatoma, Bosque El Edén y La Teta. Los dos primeros correspondían a los lugares en los cuales se implementó la restauración tanto activa como pasiva. Los dos restantes correspondían al control al cual no se le implementó ningún tipo de restauración. Para cada uno de los sitios seleccionados en las diferentes restauraciones y del control, de forma aleatoria, se escogieron tres parcelas de 10 m x 5 m con una distancia entre ellas de 70 m; en cada parcela se tomaron muestras compuestas por 5 submuestras tomadas en forma de zig – zag y con la ayuda de un barreno a una profundidad de 25 cm, obteniéndose 6 muestras por cada tipo de restauración y 6 muestras del control para un total de 18 muestras de suelo. Estas fueron llevadas al laboratorio, a 4°C y se almacenaron a esta temperatura hasta su procesamiento.

Procesamiento de muestras: Se procedió a hacer un análisis microbiológico de cada muestra. Para esto se tomó la cantidad de suelo correspondientes a 10 g de peso seco de la muestra; se suspendieron en 90 ml de solución salina al 0,85 % (peso/volumen) correspondiente a la dilución 10^{-1} . Luego se realizaron diluciones seriadas de 10^{-2} a 10^{-4} y posteriormente una siembra en profundidad de la dilución 10^{-4} , por triplicado, en los medios selectivos NFMM modificado (para bacterias fijadoras de nitrógeno) (Gothwal *et al.* 2006) y Agar leche descremada (para proteolíticas) (Pedroza *et al.* 2007). Las cajas sembradas fueron llevadas a incubar a una temperatura de 15°C por 8 días. Pasado el tiempo de incubación se realizó el recuento de la densidad de bacterias fijadoras de nitrógeno viables por cada caja, considerando recuentos que presentaron entre 30 y 300 UFC/g de suelo.

Para ello se midió el diámetro de los halos de hidrólisis formados por el rompimiento de las cadenas proteicas presentes y encontradas alrededor de las colonias de BP. Utilizando el método citado por Priest (1994), en el cual se mide el halo en mm desde el centro de la colonia hasta el extremo del halo, calculando posteriormente el diámetro del halo así:

$$A - B = C$$

siendo

A= Diámetro del halo de hidrólisis (mm)

B= Diámetro de la colonia (mm)

C= Diámetro real del halo de hidrólisis

Adicionalmente se tomó una fracción de cada muestra de suelo para medir el pH suspendiéndola en agua desmineralizada con una relación 1:1 (peso/volumen) y tomando el dato con ayuda de un potenciómetro (Andrades 1996; EPA 1999). También se determinó el porcentaje de humedad del suelo pesando 5 g de cada muestra de suelo y depositándolo en una bolsa de papel debidamente pesada para luego colocar en horno de secado a 80°C de temperatura durante 48 h, luego de las cuales se volvió a pesar para conocer el porcentaje de humedad a partir de la fórmula descrita por Andrades (1996):

$$H = 1 - \frac{P_s}{P_f} * 100$$

donde:

H= Humedad (%)
P_s = Peso seco (g)
P_f = Peso fresco (g)

Adicionalmente se determinó la cantidad de materia orgánica de cada muestra de suelo en la cual se tomó una fracción de la muestra molida y seca y, se calcinó a 550°C durante 2 h. Se dejó enfriar por una hora y luego se calculó el porcentaje de pérdida de peso por ignición a partir de la fórmula descritas por Faithfull (2005):

$$M = 1 - \left(\frac{P_f}{P_s} \right) 100$$

donde:

M = materia orgánica (%)
P_f = Peso final del suelo calcinado (g)
P_s = Peso inicial (g)

También se estimó la distribución de tamaño de agregados del suelo en el que se tomó una muestra de suelo y se dejó secar a 22±2°C durante 48 h, para luego ser colocada en la parte superior de la torre de tamices en los que pasados 5 minutos se tomó la fracción de suelo encontrada en cada uno de estos, cada uno con tamaño de poro distinto (1,18 µm, 600 µm, 300 µm, 54 µm y <54 µm) Cavazos (1992). Adicionalmente se tomó una fracción de cada muestra de suelo para medir la conductividad eléctrica de cada una de las muestras suspendiéndolas en agua destilada, agregando el peso equivalente a un volumen de 30 ml a un frasco de 100 ml para luego tomar el dato con ayuda de un conductímetro (Andrades 1996; USDA 1999). Finalmente se determinó la textura de cada muestra por el método de Bouyoucos descrito por Cooper (1982) y Norambuena et al. (2002), el que se tomaron 25 g de la muestra y se dejaron secar a 28° C durante 24 horas, luego se suspendieron en 5 ml de solución dispersante y 60 ml de agua destilada dejando reposar la mezcla durante 24 h. Luego se realizó la lectura de densidad con el hidrómetro correspondiente a la lectura # 1 y luego de transcurrida 1 h se tomará una segunda lectura donde luego se determinaron los porcentajes de arena, limo y arcilla en cada una de las muestras, y una vez obtenidos se ubicaron en el triángulo de textura para la determinación de la clase textural de cada una de las muestras analizadas.

Análisis estadístico: Para determinar si los datos presentaban una distribución normal se utilizó el contraste de normalidad de Shapiro-Wilks y la prueba de homogeneidad de varianzas de Levene (Castilla y Cravioto 1991). Se utilizó un ANOVA con el fin de establecer si existían diferencias significativas entre las propiedades fisicoquímicas y la densidad y actividad de bacterias fijadoras de nitrógeno y bacterias proteolíticas entre los suelos evaluados con los dos tipos de restauración y

los suelos tomados como control. Adicionalmente se realizó la prueba de comparación de medias de Tukey para establecer cuál de las variables era la que se comportaba diferente de las demás. Adicionalmente se usó la prueba de correlación de Pearson, para determinar la relación entre la densidad y actividad de las bacterias fijadoras de nitrógeno y proteolíticas, y las características fisicoquímicas del suelo (Zar 1996). Finalmente para establecer si existía una relación de dependencia entre los parámetros microbiológicos y las pruebas fisicoquímicas se llevó a cabo una regresión lineal por pasos hacia atrás (Wayne 2006). Para todas las pruebas se utilizó un nivel de significancia de 0,05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se determinó que el tipo de restauración tuvo un efecto sobre la densidad y actividad de los dos grupos funcionales y de igual manera sobre algunas propiedades fisicoquímicas. Los resultados indicaron que la mayor densidad de BFN libres y tanto la densidad como la actividad de BP se encontraron en restauración activa ($P < 0,05$).

En el caso de BFN libres la densidad se encontró en el orden de $3,13 \times 10^4$ UFC/g para restauración activa, $2,31 \times 10^4$ UFC/g en restauración pasiva y $1,04 \times 10^4$ UFC/g para el control (Figura 1). Con respecto a la densidad de BP ésta estuvo en un orden de $1,20 \times 10^4$ UFC/g, para restauración activa, $1,05 \times 10^4$ UFC/g para restauración pasiva y $9,91 \times 10^2$ UFC/g para el control (Figura 2a) y para la actividad de BP los rangos fueron de 5,08 mm para restauración activa, 5,01 mm en pasiva y 4,58 mm en el control (Figura 2b). Sin embargo es importante resaltar que aunque se presentaron diferencias estadísticas entre los tipos de restauración y el control respecto a la densidad de BFN ($F = 27,74$; $P < 0,05$); y densidad de BP ($F = 104,03$; $P < 0,05$); el orden de magnitud entre ellos es mínimo, razón por la cual podría decirse que las diferencias biológicas son pequeñas y por tanto las implicaciones de estos grupos funcionales sobre los procesos edáficos como descomposición y flujo de nutrientes no generaría ningún tipo de repercusión positiva – negativa.

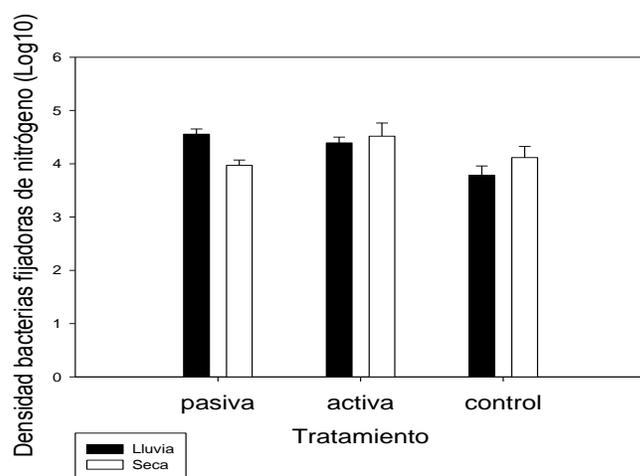


Figura 1. Promedio \pm desviación estándar de densidad de bacterias fijadoras de nitrógeno Libres (BFN) en los diferentes tipos de restauración.

Aunque estas diferencias no sean de importancia a nivel biológico, al parecer la restauración activa influye sobre la densidad y actividad de BFN y de BP ya que las plantas pueden generar efectos positivos tanto en el suelo como en los microorganismos, aumentando la densidad como la actividad metabólica que realizan estos pues las plantas son la fuente principal de materia orgánica que se incorpora en el suelo. En estudios como el de Xue-Mei *et al.* (2007) donde se utilizaron diversas plantas para observar un efecto sobre microorganismos fijadores de nitrógeno donde se

obtuvieron recuentos hasta de $3,75 \times 10^6$ UFC/g utilizando plantaciones de frijol, mientras que con arbustos artificiales fue de $0,94 \times 10^6$ UFC/g. De estos resultados se estableció que la proporción de nutrientes que proveen las plantas a los microorganismos varía con respecto al tipo de vegetación que se utilice por lo que estos pueden responder de manera diferente. A pesar de que esta interacción entre las plantas y microorganismos es poco estudiada de acuerdo a los resultados de Xue-Mei *et al.* (2007), se podría decir que los microorganismos pueden aumentar su actividad en el suelo de manera significativa cuando se utilizan plantas como objetivo de restauración, pues un alto número de especies vegetales produce diversidad de hojarasca causando la formación de una comunidad microbiana rica en especies. Para el caso de plantas exclusivas del páramo se conocen especies como *Lupinus* sp. que son poco exigentes en cuanto a la fertilidad del suelo, pueden crecer en suelos ácidos y pobres en nutrientes, además, se caracterizan por ser una de las leguminosas de mayor tasa de fijación de nitrógeno (Felipe 2004). Es muy probable que la razón de la mayor densidad de y actividad bacterias BFN y BP se haya dado precisamente por el uso de especies de *Lupinus* en este tipo de restauración).

En contraste a lo anterior la restauración activa también puede tener efectos negativos, pues se han reportado estudios donde al utilizar plantas de pino se encontró que estas poseen una relación muy baja de C/N y además del alto contenido de polifenoles en sus hojas producen menor cantidad de materia orgánica, haciendo que la descomposición de la hojarasca sea más lenta limitando el crecimiento de los microorganismos y de otras especies vegetales (Estupiñán 2002).

Por otro lado se dice que un ecosistema de páramo presenta bajas tasas de regeneración autónoma después de que se ha visto sometido a disturbios como el fuego (Otero 2001). Esto se evidencia en estudios como el de Sivila de Cary y Angulo (2006) donde se necesitaron largos periodos de tiempo para la recuperación de la fertilidad del suelo obteniéndose recuentos de BP de $54,1 \times 10^6$ UFC/g, a partir de un período de descanso agrícola de 10 años. A pesar de que esto implica la evaluación por largos períodos de tiempo se concluyó que estos microorganismos pueden encontrarse ecológicamente más estabilizados durante los tiempos de descanso más largos, ya que con los años de descanso va creciendo la contribución de residuos para la biodegradación proteolítica en compuestos ricos en proteínas provenientes tanto de la microfauna como microbiota. De allí que se pueda afirmar que el tiempo entre el momento en que se realizó la restauración y el momento en el que se tomaron las muestras podría ser muy corto y por consiguiente sería necesario realizar evaluaciones en períodos posteriores para poder establecer qué tipo de restauración favorece la densidad y actividad microbiana, en particular de los grupos funcionales evaluados.

Asimismo como se evaluaron las respuestas de las BP y BFN a los tipos de restauración sobre los microorganismos también se observó el de la época climática sobre estos grupos funcionales (Figura 2.b). Se encontraron diferencias estadísticamente significativas sobre la actividad de BP ($F= 24,82$; $P < 0,05$) donde la mayor actividad proteolítica se dio en época seca. Esto pudo darse ya que cuando el contenido de agua es mayor en el suelo producto de las lluvias, causa la separación de agregados sellando los poros del suelo, de manera que se disminuye la concentración de oxígeno, la cantidad de materia orgánica y por consiguiente los nutrientes que se encuentran en ella, razón por la cual la actividad de estos microorganismos haya disminuido en época de lluvia (Gamboa 1998).

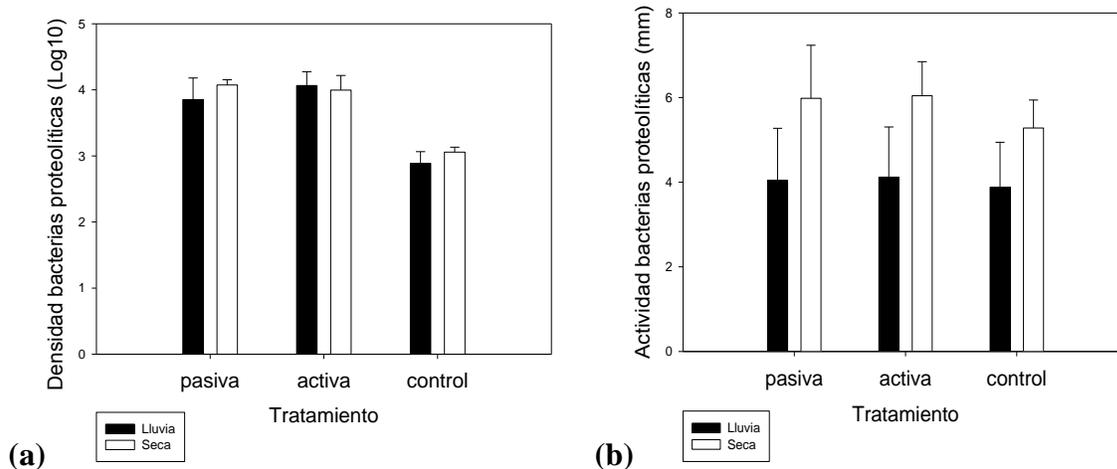


Figura 2. Promedio \pm desviación estándar de densidad de bacterias proteolíticas (BP) en los diferentes tipos de restauración y el control. (a) Densidad de BP (b) Actividad de BP.

En cuanto a las propiedades fisicoquímicas de este suelo se determinó que este es un suelo moderadamente ácido y no salino de acuerdo a la clasificación de USDA (1999); presenta un alto contenido de materia orgánica según (Fassbender y Bornemisza 1987); una humedad intermedia con base en Buenaventura (1990) y textura franco arenosa.

En el caso del pH se presentaron valores de 4,7-6,2 en época de lluvia y en seca de 4,5-5,9; en conductividad 0,01 ds/m - 0,09 ds/m en época de lluvia, y, para época seca 0,02 ds/m - 0,1 ds/m; y el porcentaje de materia orgánica del 12-18% para las dos épocas. Estas propiedades presentaron diferencias estadísticamente significativas en su mayoría dadas por la época y no por el tipo de restauración excepto en el porcentaje de humedad y la conductividad,

Se sabe que la materia orgánica es una de las propiedades físicas más importantes en el suelo debido a que está relacionada con la formación de agregados, la estabilidad y estructura, la proporción de nutrientes, estabilización del pH, como otras funciones en el suelo (Fassbender y Bornemisza 1987). Se determinó el mayor porcentaje de ésta en época seca (16,03%) (Figura 3b), así como para los agregados del suelo que presentaron también mayores porcentajes en esta época (Ver figura 4. c y d). Esta relación puede ser debida a que la formación y estabilidad de los agregados del suelo está fuertemente influenciada por los enlaces que se forman con la materia orgánica y ésta a su vez por el contenido de agua (Díaz 2008). La disminución del porcentaje de materia orgánica y agregados en época de lluvia (Figura 4. a y b) pudo darse debido a que bajo estas condiciones los agregados tienden a disociarse sellando los poros del suelo impidiendo la infiltración del agua, la cual escurre rápidamente por la superficie y se pierde hasta en un 73% (Gamboa 1998). Este movimiento rápido del agua lleva consigo el arrastre del mismo suelo y de la materia orgánica perdiéndose por lixiviación. (Gamboa 1998).

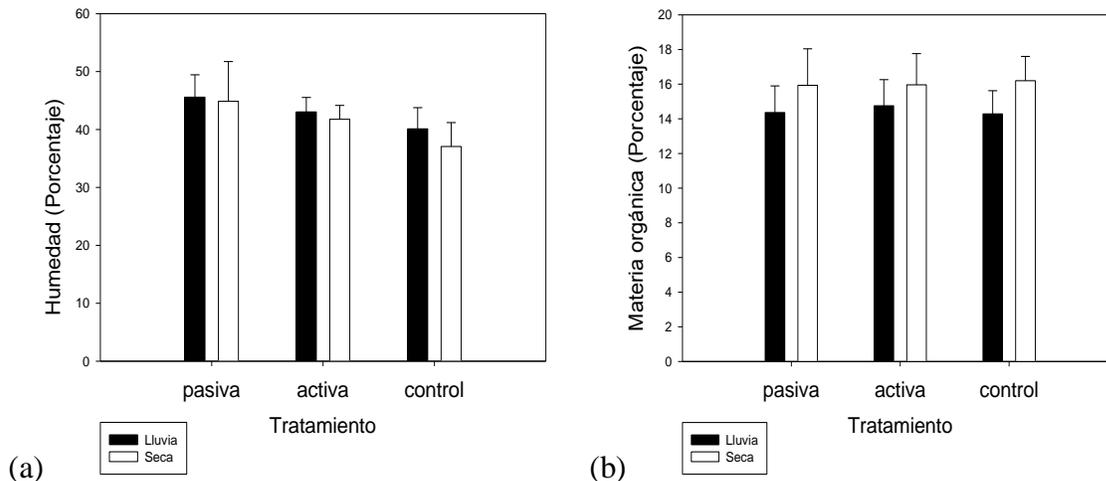
Cuando ocurren procesos de lixiviación por efecto de las lluvias también pueden verse afectadas otras propiedades como la conductividad donde se evidenciaron los valores más bajos en la época de lluvia ($P < 0,05$) (Millán 2001). Esto concuerda con lo reportado por Rodríguez *et al.* 2006, donde se evidenció un descenso significativo de la conductividad eléctrica de 1,57 ds/m a 0,77 ds/m,

causado principalmente por la lixiviación de las sales debida a la cantidad de lluvia caída en la zona de estudio.

La conductividad eléctrica también presentó diferencias estadísticamente significativas en el tipo de restauración ($P < 0,05$) encontrándose los valores más bajos en restauración activa con respecto al control y a la restauración pasiva (Figura 3d). Esto pudo ser producto de la utilización de minerales por las plantas y de actividades microbianas (Millán 2001). Dado que la conductividad eléctrica es usada como una medida de la presencia de nutrientes solubles en el suelo (Doran y Jones 1996) se encuentra estrechamente relacionada con el pH debido a que estos nutrientes se encuentran unidos a las sales del suelo dependiendo del rango en el que se encuentren, por ejemplo, cuando el pH del suelo es ácido los minerales se encuentran unidos a sales como el calcio y el magnesio.

La función del pH en el suelo está dada por la vegetación, material parental, topografía y época climática, entre otros (Doran y Jones 1996). Para el caso de este estudio se presentaron diferencias estadísticamente significativas ($F = 10,56$; $P < 0,05$) en la época seca presentando los valores más bajos de pH (5,12). Esta acidez puede ser causada por la cantidad de materia orgánica presente durante la época seca (Figura 3b), ya que se sabe que ésta contiene grupos carboxilos y fenólicos activos que se disocian liberando iones H^+ a la solución del suelo. Además su mineralización produce NH_4^+ como producto final que contribuye a la acidificación del suelo (Santos 2007). Sin embargo se han reportado estudios en el paramo altoandino donde no se han encontrado diferencias estadísticas entre las épocas húmedas y seca (Sturm y Mora 1995).

La alta cantidad de materia orgánica también está relacionada con la humedad ya que ésta puede retener hasta veinte veces su peso en agua impidiendo que se pierda por infiltración (Gamboa 1998, Jiménez y Robledo 2004, Apestegia y Sereno 2002). Esto puede explicar las diferencias estadísticas ($F = 8,14$; $P < 0,05$) obtenidas en la restauración activa (42,39%) y pasiva (45,22%) siendo mayor el porcentaje de humedad en estas con respecto al control. Es posible que el porcentaje de humedad en el control haya disminuido ya que las plantas suelen tomar gran cantidad del agua disponible en el suelo para sus procesos metabólicos, siendo absorbida por las raíces de las plantas y conducida por su sistema vascular hasta las hojas (Noguera 2002).



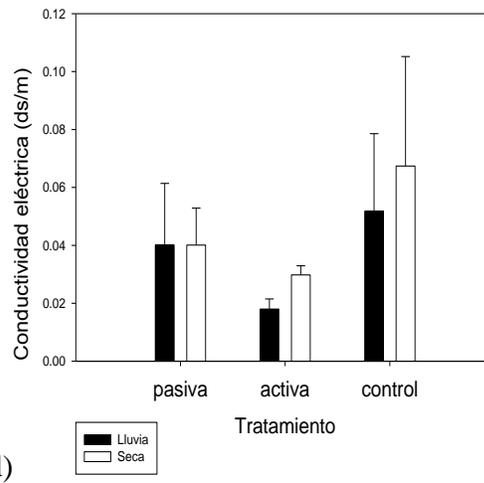
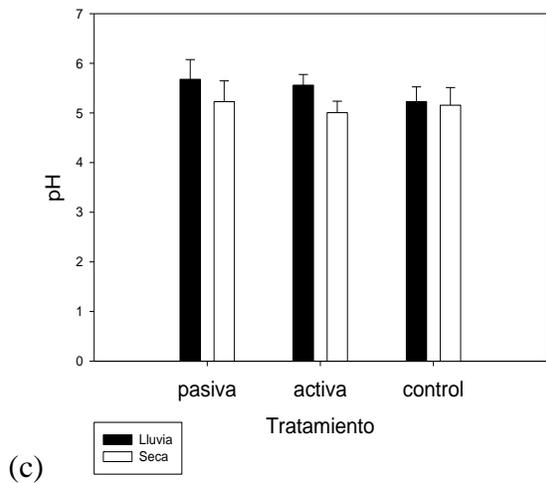
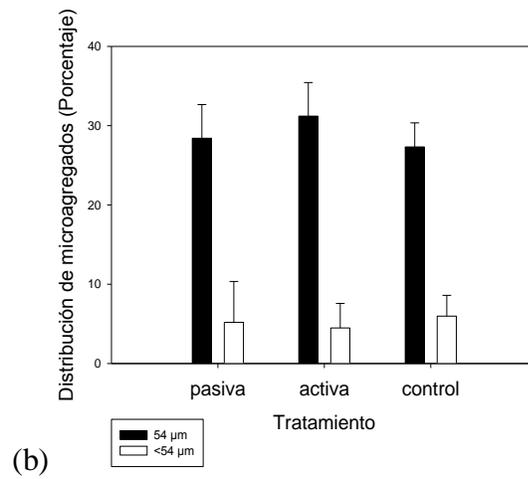
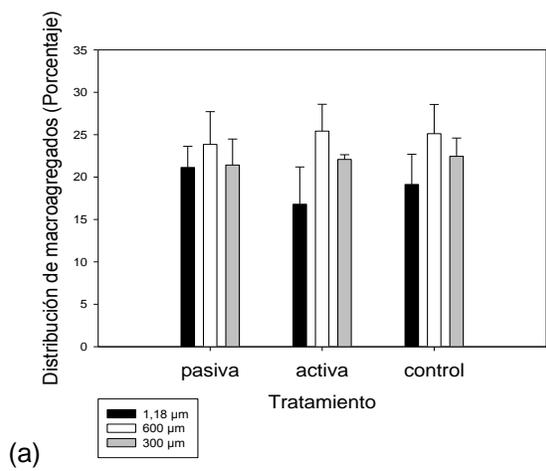


Figura 3. Promedio \pm desviación estándar de las pruebas fisicoquímicas en los diferentes tipos de restauración y el control. (a) Porcentaje de humedad (b) Porcentaje de materia orgánica (c) pH (d) Conductividad eléctrica (ds/m)



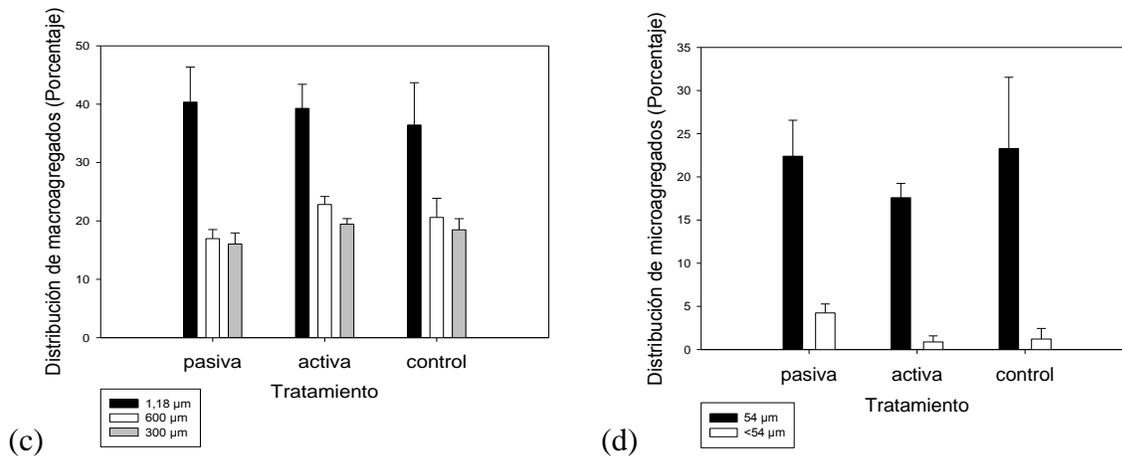


Figura 4. Promedio \pm desviación estándar de la proporción de agregados. (a) macroagregados época de lluvia, (b) microagregados época de lluvia, (c) macroagregados época seca (d) microagregados época seca.

En el suelo ocurren diversas interacciones entre los microorganismos y las propiedades fisicoquímicas, para corroborar esto se realizó una regresión lineal por pasos con el fin de identificar cuáles de estas propiedades tenían un efecto significativo sobre los microorganismos. En la tabla 1, 2, 3 se puede observar que los modelos tienen un valor de explicación alto encontrándose un efecto de la conductividad eléctrica y el porcentaje de limo sobre la densidad de bacterias fijadoras de nitrógeno ($R^2 = 0,9861$; $n = 18$; $P < 0,05$) (Tabla 1). De otro lado se determinó un efecto del porcentaje de humedad, la conductividad eléctrica y macroagregados de 600 μm sobre la densidad de BP ($R^2 = 0,9891$; $n = 18$; $P < 0,05$) (Tabla 2). Finalmente se estableció un efecto del porcentaje de materia orgánica y macroagregados de 1,18 micrómetros (μm) sobre la actividad de BP ($R^2 = 0,9653$; $n = 18$; $P < 0,05$) (Tabla 3).

De acuerdo a los resultados obtenidos, para el crecimiento de las bacterias BFN la conductividad y el porcentaje de limo tuvieron un efecto significativo sobre estas, esto puede deberse a que el limo puede retener agua como nutrientes que permiten que los microorganismos puedan utilizarlos para su supervivencia a su misma vez a partir de sus procesos metabólicos estos consumen las sales que se encuentran en el suelo. Esto es debido a que la concentración de sales tiene pronunciados efectos en procesos microbianos tales como la respiración, degradación de compuestos orgánicos, amonificación, nitrificación y procesos químicos como la volatilización del amoníaco; dichos procesos se pueden ver aumentados con el incremento de la salinidad en el suelo la cual puede variar como resultado de los procesos de descomposición de compuestos orgánicos presentes en éste por acción de los microorganismos (Doran y Jones 1996).

Tabla 1. Resultados regresión lineal por pasos para la densidad de BFN

Parámetros fisicoquímicos	β_1	β_2
Porcentaje de limo (X_1)	0,07244	-
Conductividad (X_2)	-	-1,88989
Ecuación: $Y = \beta_1 x_1 + \beta_2 x_2$ $R^2 = 0,9861$, $p < 2,2 \times 10^{-16}$ $F = 1205$		

Por otro lado las variables que explican la densidad de BP son el porcentaje de macroagregados (600 μ m), la conductividad y el porcentaje de humedad. Parte de la razón de que esto sea así, reside en que la superficie de los agregados puede ser punto de colonización y actividad microbiana, además es presumible que al aumentar la humedad la proporción de agregados en el suelo tienda a desintegrarse y perderse por acción del agua al igual que las sales que se encuentran contenidas en la solución del suelo y en la materia orgánica. También estas sales pueden verse disminuidas por los procesos metabólicos como degradación de compuestos orgánicos que realizan las bacterias proteolíticas (Rucks *et al.* 2004, Wild 1992).

Tabla 2. Resultados de la regresión lineal por pasos para densidad de BP.

Parámetros fisicoquímicos	β_1	β_2	β_3
Porcentaje de humedad(X_1)	1,8549	-	-
Conductividad eléctrica(X_2)	-	- 1,1688	-
600 μ m(X_3)	-	-	- 0,0465
Ecuación: $Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3$ $P = < 2,2 \times 10^{-16}$; $R^2 = 0,9891$; $F = 1003$			

Tabla 3. Resultados de la regresión lineal por pasos para la actividad de BP.

Parámetros fisicoquímicos	β_1	β_2
Porcentaje de materia orgánica (X_1)	0,20993	-
1,18 μ m (X_2)	-	0,05895
Ecuación: $Y = \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2$ $P = < 2,2 \times 10^{-16}$; $R^2 = 0,9653$; $F = 473$		

Finalmente en el caso de la actividad proteolítica los porcentajes de materia orgánica y macroagregados (1,18 micrómetros) tuvieron un efecto significativo sobre esta. Esto puede ocurrir ya que cuando la materia orgánica en el suelo se encuentra en buenas proporciones los microorganismos pueden aprovecharla en mayor medida ya que se sabe que la actividad proteasa del suelo es la responsable de la descomposición progresiva del N contenido en las proteínas (Alvear *et al.* 2006). Esta acción por parte de microorganismos proteolíticos permite que se formen los agregados del suelo a través de compuestos producto de la descomposición de la materia orgánica como el humus, el cual se une a arcillas contribuyendo a la formación de macroagregados (Gavande 1991, Julca *et al.* 2006).

CONCLUSIONES

Se encontró que con la restauración activa aumenta la densidad y actividad de bacterias proteolíticas y fijadoras de nitrógeno en los suelos del PNN Los Nevados. Sin embargo las diferencias fueron mínimas como para afirmar que estos microorganismos sean indicadores de los procesos de restauración ecológica.

La época climática no tuvo ningún efecto sobre la densidad de microorganismos BFN Y BP pero si sobre la actividad de BP.

Se estableció que el tipo de restauración y la época climática producen cambios sobre algunas propiedades fisicoquímicas del suelo como el porcentaje de materia orgánica.

Se concluye que las propiedades fisicoquímicas como el porcentaje de materia orgánica, el porcentaje de humedad, la conductividad y la distribución de agregados son las variables que explican sobre la densidad y actividad de los dos grupos funcionales evaluados.

RECOMENDACIONES

Es importante realizar este mismo estudio evaluando un periodo más largo de tiempo después de implementados los diferentes tipos de restauración para determinar si el patrón de comportamiento sobre los microorganismos como en las propiedades del suelo es el mismo, o por el contrario se generan cambios más drásticos en ellos.

Es pertinente para efectos de este estudio cuantificar el contenido de N en el suelo para establecer si este tiene un efecto sobre los microorganismos.

Es aconsejable que se realicen otros estudios en diferentes tipos de ecosistemas como en páramos con el fin de obtener información más amplia acerca de los efectos de los procesos de restauración sobre los microorganismos ya que no se les ha dado la importancia que poseen a nivel biológico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abadín, J. (2008). Agricultura sostenible en áreas de montaña. Importancia de la materia orgánica en la conservación de la fertilidad del suelo. Ed. Universidad de Santiago de Compostela. Galicia, España. 155 p.
2. Acuña, O. Peña, W. Serrano, E. Pocasangre, L. Rosales, F. Delgado, E. Trejos, J. Segura, A. (2006). La importancia de los microorganismos en la calidad y salud de los suelos. Universidad de Costa Rica. Laboratorio de Bioquímica, Centro de Investigaciones Agronómicas. San José, Costa Rica. 222- 233 p.
3. Aguilera, MP, Vélez, PE. (2001). Aproximación al estudio de la cobertura vegetal sobre los grupos bacterianos proteolíticos y celulolíticos en el departamento del Quindío. Tesis de Pregrado en Microbiología Agrícola y Veterinaria. Departamento de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Bogotá, 98 p.
4. Alvear, M. Pino, M. Castillo, C. Trasar – Cepeda, C. Gil, F. (2006). Efecto de la cero labranza sobre algunas actividades biológicas en un alfisol del sur de Chile. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*, **6**, (2): 38-53 p.
5. Anderson, D.R. (2001). Estadística para administración y economía. Séptima edición. Internacional Thomson editors. México D.F., México. 581 p.
6. Andrades, M. (1996). Prácticas de Edafología y Climatología. Universidad de la Rioja. Servicio de Publicaciones. Logroño, España. 80 p.
7. Atlas, R. y Bartha, R. (2005). Ecología Microbiana y Microbiología Ambiental. Quinta Edición. Pearson Education, S. A. Madrid, España. 620 p.

- 8.** Benavides, G.D. y Hermida, A. Aislamiento e identificación de flora bacteriana nativa del suelo de los páramos Cruz verde y Guasca (Cundinamarca). 2008. Trabajo de Grado. Microbiología Industrial. Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, 86 p.
- 9.** Bernal, E. Celis, S. Galíndez, X. Moratto, C. Sanchez, J. Garcia, D. (2006) Microflora cultivable y endomicorrizas obtenidas en hojarasca de bosque (páramo guerrero -finca puente de tierra) Zipaquirá, Colombia. Departamento de Biología, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá. Colombia.
- 10.** Blaya, S. García, G. (2003). Química agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. Segunda Edición. Ed. Mundi Prensa Libros. Madrid, España. 487 p.
- 11.** Brown, R. Agee, J. Franklin, J.(2003) Forest restoration and fire. Principles in the context place. Universidad de Washington, Seattle.
- 12.** Buenaventura, M.(1990). Los páramos de los Andes. Ed. Montoya y Araujo Ltda. Bogotá, Colombia. 314 p.
- 13.** Buscot, F. y Varma, A. (2005) Microorganisms in soils: Roles in Genesis and Functions. Springer-Verlag Berlin, Alemania. 419 p.
- 14.** Castilla, L. y Cravioto, J. (1991). Estadística simplificada para la investigación en ciencias de la salud. Editorial Trillas. México, México D.F. 438 p.
- 15.** Cavazos, T. (1992). Manual de prácticas de física de suelos. Editorial Trillas. México D.F., México. 63-65 p.
- 16.** Coyne, M. (2004). Microbiología del Suelo: un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo. Madrid, España. 128-140 p.
- 17.** Cooper, T. (1982). Learning center laboratory manual for soil science. University of Minnesota. Minnessota, United States of America. 10-17 p.
- 18.** Dean, W.E. (1974). Determination of carbonate and organic matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by los son ignition: comparison with other methods. *Journal of Sedimentary Petroleum* **44**, 249-253 p.
- 19.** Díaz, E. Distribución del contenido de carbono orgánico en agregados de diferentes tamaños, procedentes de varios sistemas de uso y altitudes en suelos de la cuenca del río Cauca, Colombia. 2008. Trabajo de Maestría. Ciencias agrarias con énfasis en suelos. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, 74 p.
- 20.** Díaz, S y Cabido. M. (2001). Vive la différence: plant functional diversity matters to ecosystem processes. *Trends in Ecology & Evolution*, **16**: 646 – 655.
- 21.** Doran, J. y Jones, A. (1996). Methods for assessing soil quality. Soil Science Society of America. Madison, Wisconsin. USA. 410 p.
- 22.** Estupiñan-Bravo, L. H. (2002). Impacto causado en el suelo por las plantaciones de pino en el páramo de Gachaneca en la región de Samacá (Boyacá). En: Colombia. 2002. Evento: Congreso Mundial de Páramos.
- 23.** Faithfull, N.T. (2005). Métodos análisis químico agrícola. Manual Práctico. Editorial Acribia. Madrid, España.

24. Fassbender, H. y Bornemisza, E. (1987). Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina. Segunda Edición. Ed. IICA. 420 p.
25. Felipe, M. R. (2004). Interacciones microorganismos- suelo- planta en la preservación del medio ambiente y la salud. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*; **70**: 743-777 p.
26. Gamboa, P. (1998). La sequia: sus efectos, causas y posible solución. Reunion Nacional de Sistemas de captación de agua.
27. Gavande, S. (1991). Física de los suelos. Editorial Limusa, México, México D.F.
28. Gliessman, S. (2002). Agroecología: procesos ecológicos en agricultura sostenible. Catie. 359 p
Terron, P. (2003). Tratado de fitotecnia general. Ed. Mundi-Prensa Libros, 895 p.
29. Gothwal, R. K. Nigam, V. K. Mohan, M. K. Sasmal, D. Ghosh, P. (2006). Screening of nitrogen fixers from rhizospheric bacterial isolates associated with important desert plants. *Applied ecology and environmental research* **6** (2): 101-109 p.
30. Heras, J. Fabeiro, C. Meco, R. (2003). Fundamentos de agricultura ecológica: realidad actual y perspectivas. Universidad de Castilla La Mancha. 374 p.
31. Hofstede, R. (1997). La Importancia Hídrica del Páramo y Aspectos de su Manejo
32. Jaimes, V. Sarmiento, L. (2002). Regeneración de la vegetación de Páramo después de un disturbio agrícola en la cordillera oriental de Colombia.
33. Julca, A. Meneses, L. Sevillano, R. y Amez, S.B. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. *Idesia*, **24**, 49 – 61 p.
34. Lizarazo, L.M. (2001). Grupos funcionales de microorganismos del suelo: ciclos del carbono, nitrógeno, fósforo y azufre. *Revista Suelos Ecuatoriales* **35**(1): 59-65 p.
35. Llambí, L. y Sarmiento, L. (1998) Biomasa microbiana y otros parámetros edáficos en una sucesión secundaria de los páramos venezolanos. *Ecotrópicos Revista de la sociedad Venezolana de ecología*; **11**, 1-14 p.
36. Llambí, L. y Sarmiento, L. (1998) La agricultura con descansos en los páramos de Venezuela: sustentabilidad ecológica y dinámica de regeneración. Instituto de Ciencias Ambientales y Ecológicas. Facultad de Ciencias. Universidad de los Andes. Mérida, Venezuela.
37. Mabuhay, J.A, Isagi, A. y Nakagoshi, N. (2006). Wildfire effects on microbial biomass and diversity in pine forests at three topographic positions. *Ecological Research* **21**, 54–63 p.
38. Mataix – Solera, J. Alteraciones físicas, químicas y biológicas en suelos afectados por incendios forestales. Contribución a su conservación y regeneración. 1999 Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Alicante, España. 330 p.
39. Millán, A. (2001). Historia de La minería del oro en Chile. Editorial Universitaria. Santiago, Chile. 231 p.
40. Ministerio del Medio Ambiente. (2002). Programa Nacional para el manejo sostenible y restauración de ecosistemas de la alta montaña colombiana: páramos. Bogotá, D.C, Colombia.

41. Moratto, C. Martínez, L. Valencia, H. Sánchez, J. (2005) Efecto del uso del suelo sobre hongos solubilizadores de fosfato y bacterias diazotróficas en el páramo de Guerrero (Cundinamarca)
42. Navarro, S. y Navarro, G. (2003). Química Agrícola: el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal. Segunda Edición. Ed. Mundi-Prensa Libros. España, Madrid. 487 p.
43. Noguera, F. (2002). Historia Natural de Chamela. Ed. UNAM. Jalisco, México. 568 p.
44. Norambuena, P. Luzio, W. Vera, W. (2002). Comparación entre los métodos de la pipeta y Bouyoucos y su relación con la retención de agua en ocho suelos de la zona altiplánica de la provincia de parinacota, Chile. *Agricultura técnica* **62**, 150-157 p.
45. Ordoñez, L. Bermúdez, N. Comparación de la densidad y actividad de dos grupos funcionales bacterianos entre tres usos de suelo (Cuenca La Vieja, Quindío). 2009. Tesis de pregrado en Microbiología Industrial. Departamento de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Bogotá, 64 p.
46. Ortíz, L. Vargas, W. (2007). Plan ajustado de restauración del área incendiada en julio de 2006 en el parque Nacional Natural los Nevados. Pereira, Risaralda. 29 p.
47. Osorio, D. Zapata, R. (2001). Pasado y futuro de la química y fertilidad del suelo. *Suelos Ecuatoriales* **35** (1):103-117 p.
48. Otero, E. Álvarez, L. Mosquera, A. Silva, G. Castro, J. Guzmán. (2001). Páramo.
49. Pankhurst, C. y Doube. B.M. (1997). Biological indicators of soil health. CAB International, Washington. 451 p.
50. Pedroza, A. Quevedo, B. y Matiz, A. (2007). Manual de laboratorio de procesos biotecnológicos. Ed. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 91 p.
51. Pikul, J. and Howell, T. (2003). Marcel Dekker. Soil water gravimetric measurement of soil water. In Stewart, Encyclopedia of water Science. New York, United States. 879-881 p.
52. Porta, J. Lopez, M. (2003). Edafología para la Agricultura y el medio ambiente. Ed. Mundi-Prensa Libros, Tercera edición. 929 p.
53. Priest, F. Ramos, A. (1994). Tindall. FEMS Symposium. Bacterial diversity and statics. Plenum Press. New York, U.S.A 75: 179-187.
54. Ramirez, J. Mora, P. Pardo, M. Pulido, L. (2007). Recuperar el paramo. Restauración Ecológica en la laguna de Otún Parque Nacional Natural Los Nevados. Editorial Andina Manizales. Pereira, Risaralda. Colombia. 250 p.
55. Reyes, P. Molano, J. González, F. Cortés, A. Rangel, O. Flórez, A. Iriarte, P. y Kraus, E. (1995) El páramo: Un ecosistema de alta montaña. Ed. Codice Ltda. Bogotá, Colombia. 168 p.
56. Rodríguez, R. Moreno, J. Díaz, J. Larreal, M. (2006). Comportamiento de la conductividad eléctrica en dos series de suelo del sector Caño San Miguel, municipio Mara, estado Zulia durante un período de dos años. *Revista de la facultad de agronomía*; **23**, 395- 406 p.
57. Rondón, Marco. Amézquita, E. Díaz, E. Chávez, L. Paz, L. Chávez, J. (2002). Efecto de cambios en el uso del suelo sobre los almacenamientos de carbono y flujos de gases de efecto invernadero en áreas del páramo de las ánimas, Cauca, Colombia.

58. Rucks, L., García, F., Kaplan, A., Ponce de León, J., Hill, M. (2004). Propiedades físicas del suelo. Facultad de Agronomía. Universidad de la República. Departamento de suelos y aguas. Montevideo, Uruguay. 32 p.
59. Sánchez, J. (2007). Potencial biotecnológico de microorganismos en ecosistemas naturales y agrosistemas. Ed. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia. 433 p.
60. Santos, D. (2007). Comparación de la abundancia de dos grupos funcionales bacterianos edáficos entre sistemas de cultivo cafeteros de la Cuenca La Vieja (Departamento del Quindío). Tesis de Pregrado en Microbiología Industrial. Departamento de Microbiología. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias. Bogotá, 80 p.
61. Sivila de Cary, R. y Angulo, W. (2006). Efecto del descanso agrícola sobre la microbiota del suelo (Patarani – Altiplano Central Boliviano). *Ecología en Biología* 41 (3):103-115 p.
62. Thompson, L.M. y Troeh, F.R. (1998). Los suelos y su fertilidad. Cuarta edición. Ed. Reverte. Barcelona, España. 649 p.
63. Torres, D L. Quiroz, R. y Juscamaita, J. (2004). Efecto de una quema controlada sobre la población microbiana en suelos con pasturas en la SAIS Tupac Amaru - Junín, Perú. *Journal of applied ecology.*, 3,139-147 p.
64. Torres, M. Lizarazo, L. (2006). Evaluación de grupos funcionales (ciclo del C, N, P) y actividad de la fosfatasa ácida en dos suelos agrícolas del departamento de Boyacá, Colombia. *Agronomía Colombiana*, 24 (2), 317-325 p.
65. USDA. (1999). Guía para la Evaluación de la Calidad y Salud del Suelo. Natural Resources Conservation Service, Soil Science Society of America. United States. 82 p.
66. Valencia, H. Sanchez, J. Vera, D. Valero, N. Cepeda, M. Gamboa, A. Guerra, E. Bohorquez, P. Useche Y, Moratto, C. Vargas, L. (2007). Microorganismos solubilizadores de fosfatos y bacterias fijadoras de nitrógeno en paramos y región calidad tropical (Colombia). Universidad Nacional Nacional de Colombia, Sede de Bogotá.
67. Wayne, D. Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. (2006). Ed. Limusa. México, México. 755 p.
68. Wild, A. y Russell, E.J. (1992). Condiciones del suelo y desarrollo de las plantas según Russell. Ed. Mundi Prensa Libros. Madrid, España. 1045 p.
69. Xue-mei, Ren-qing, W. Jian, L. Meng-cheng, W. Juan, Z. H. Wei-hua, G. (2007) Effects of vegetation type on soil microbial community structure and catabolic diversity assessed by polyphasic methods in North China. Shandong University, Jinan 250100, China.
70. Zar, J. (1996). Biostatistical Analysis. Third edition. Prentice Hall, New Jersey. 662p.

