



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

Caracterización de comunidades microbianas asociadas a prácticas agrícolas y usos del suelo de la vereda El Bosque - Parque Nacional Natural de los Nevados

Lizeth Manuela Avellaneda-Torres

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias Agrarias
Doctorado en Agroecología
Bogotá, Colombia
2014

Caracterización de comunidades microbianas asociadas a prácticas agrícolas y usos del suelo de la vereda El Bosque - Parque Nacional Natural de los Nevados

Lizeth Manuela Avellaneda-Torres

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctora en Agroecología

Directora:

Esperanza Torres Rojas, Ph.D.,

Codirector:

Tomás Enrique León Sicard, Ph.D.,

Asesor Externo

Howard Junca, Ph.D.,

Línea de Investigación:

Agroecología y Ambiente

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Ciencias Agrarias

Doctorado en Agroecología

Bogotá, Colombia

2014

A todos aquellos que han creído y construido procesos de equidad, en armonía con la naturaleza, los seres humanos (como parte de ella) y el cosmos.

Agradecimientos

A los campesinos de la vereda El Bosque por permitirme realizar la presente investigación, por su valioso tiempo y hospitalidad brindados en las diferentes fases de este proyecto. A todos ellos muchas gracias.

A la profesora Esperanza Torres por las gestiones para la realización de la presente investigación, por sus aportes como directora y por su compañía y amistad durante estos años.

Al profesor Tomás León Sicard por su grande y valiosa amistad, por sus enseñanzas, por sus aportes como director de esta tesis y por el permanente apoyo desde el inicio hasta la culminación de la presente investigación.

A Rosita Mejía Calderón por ser mi gran compañera y colaboradora del trabajo de laboratorio y de los diferentes procesos del presente trabajo.

A Howard Junca por sus aportes a la presente investigación como parte del comité tutorial de la tesis.

Al Dr Edlin Guerra Castro por sus valiosos aportes en el análisis estadístico de los resultados.

A Juliana Cepeda por su permanente apoyo, su gran amistad y su compañía durante este recorrido agroecológico.

Al Programa de Becas de Estudiantes Sobresalientes de Posgrado de la Vicerrectoría de la Universidad Nacional de Colombia.

Al Centro Colombiano de Genómica y Bioinformática en Ambientes Extremos (GEBIX) por la financiación e infraestructura para el desarrollo de esta tesis doctoral, muy especialmente a su directora María Mercedes Zambrano Eder.

A COLCIENCIAS (Contrato 246-2011), a la Universidad Nacional de Colombia y a la Facultad de Agronomía por la financiación del presente trabajo.

Al Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial por el permiso de acceso a recursos genéticos (Contrato No 15 de 2008).

A la Unidad Administrativa Especial de Parques Nacionales Naturales (UAESPNN DTNO-N-20/2007) por el permiso de investigación.

A los funcionarios del Programa Parque Nacional Natural de Los Nevados, especialmente a Jorge Lotero y Oscar Castellanos.

A Luz Andrea Gordillo por su amistad y apoyo para el análisis estadístico de los datos.

A Yilson Javier Beltrán por sus enseñanzas y acompañamiento.

A los integrantes de Corpogen por su apoyo en infraestructura y soporte investigativo. Muy especialmente a Eric Galvez y Cesar Osorio.

A los gestores del Doctorado en Agroecología, Dr. Tomás León Sicard, Dra. Clara Nicholls, Dr. Miguel Ángel Altieri. A mis compañeros de doctorado por el transcurrir en este tiempo juntos.

Al Dr Isidro Rolando Acuña y la Dra Mariol Morejon, a la Universidad de Pinar del Río “Hermano Saíz Montes de Oca”

A Guillermo Cañon Cortazar, Oscar Munar, Luis Miguel Alvarez, Dahiana Correa, Katerynne López y Cristian Damian Castillo por sus aportes.

Al profesor Ivan Montoya y Giovanni Muñoz Puerta.

A mi familia por su incondicional compañía, apoyo y paciencia durante este tiempo.

A todos aquellos que de una u otra manera me han apoyado para llevar a término esta investigación.

Resumen

La presente investigación evaluó los cambios de las comunidades microbianas asociados al cultivo de papa y la ganadería en suelos de páramo de la vereda El Bosque del Parque Nacional Natural de Los Nevados (PNN Los Nevados). La evaluación se realizó bajo un enfoque agroecológico en donde no solo se realizó la caracterización de los microorganismos del suelo sino también se llevaron a cabo estudios sobre los conflictos entre las comunidades del páramo y las autoridades ambientales, así como la caracterización socioeconómica y agropecuaria de la zona. Para esto, se elaboraron siete capítulos, escritos a manera de artículos, en donde el primero se presenta bajo la forma de artículo de reflexión, en el cual se ilustran las alternativas ante el conflicto entre autoridades ambientales y comunidades que habitan al interior de los páramos en Colombia. En el segundo, se caracterizan las condiciones socioeconómicas y prácticas agropecuarias asociadas al cultivo de papa y la ganadería desarrolladas en la zona y se relacionaron aspectos del primer capítulo con la situación específica del PNN Los Nevados. En el tercer capítulo y como parte del análisis a nivel de procesos del suelo, se evaluaron los parámetros físico-químicos y las actividades enzimáticas de diferentes ciclos biogeoquímicos en los suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo en conservación. Este capítulo también reporta, la clasificación taxonómica de los suelos de estudio. Posteriormente, y como parte de la caracterización a nivel de diversidad funcional de la comunidad microbiana mediante métodos de cultivo dependientes, se elaboraron los artículos cuarto y quinto. El cuarto se presenta bajo la forma de *Artículo de Datos ó DataPaper* en el cual se reportaron los registros biológicos de los microorganismos aislados e identificados con base en la determinación de grupos funcionales. En el quinto, se reportan los resultados y análisis de riqueza, abundancia y composición de los microorganismos cultivables asociados a los grupos funcionales del ciclo del nitrógeno (fijadores de nitrógeno), fósforo (solubilizadores de fosfato) y carbono (celulolíticos). Adicional a estos dos capítulos se evaluó la abundancia de microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno tales como amonificantes, denitrificantes, oxidantes de amonio, oxidantes de nitrito y proteolíticos en los mismos suelos mediante la técnica del Número Más Probable (Anexo A). En el sexto capítulo, se presenta el análisis de la diversidad microbiana del suelo mediante el uso de técnicas independientes de cultivo, específicamente se reporta el uso de la región V5-V6 del gen 16S rRNA y pirosecuenciación. Finalmente, en el séptimo artículo se realizó un análisis integrado de las diferentes estrategias empleadas para la evaluación de las comunidades microbianas en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo.

Palabras clave: Páramo, cultivo de papa, ganadería, diversidad microbiana del suelo, áreas protegidas, conflictos de uso del suelo.

Abstract

This thesis evaluated possible changes on soil microbial communities in soils with three uses: potato crop, livestock and páramo (low intervention zones) in the Nevados National Natural Park, Colombia. The assessment is developed under an agroecological approach where not only the characterization of soil microorganisms was performed but also has conducted a research on conflicts between communities and environmental authorities, as well as, a the socioeconomic and agricultural characterization. The thesis is divided in seven chapters that were written as papers. The first chapter is focused in the conflict between environmental authorities and communities that are living in the páramos in Colombia. The second chapter presents a characterization of the agricultural practices of potato crop and livestock in this area. The third chapter, it was evaluated the physicochemical parameters and enzymatic activities of different biogeochemical cycles belong to soils under potato crop, livestock and paramo. The fourth paper was conducted in the form of *DataPaper* in which biological records of microorganisms were isolated, purified and identified according to functional groups related with phosphorus (P), nitrogen (N) and carbon (C). The fifth article shows the results and analysis of richness, abundance and functional composition of nitrogen fixers, phosphate solubilizers, and cellulolytic soil microorganisms. In addition to these two papers, it is presented a scientific published paper, in which it was estimated the abundance of amonifier, denitrifying, ammonium oxidizing, nitrite oxidizing and proteolytic microorganisms in the same soils (Annex A). The sixth chapter is focused in the culture-independent techniques analysis in which the soil microbial diversity was characterized using the V5-V6 region 16S rRNA gene and pyrosequencing. Finally, the seventh chapter shows an integrated analysis of the diferent strategies that was performed for evaluating microbial communities in soils with potato crop, livestock and páramo uses.

Keywords: paramo, potato crop, livestock, microbial diversity of soil, protected areas, land use conflicts.

Contenido

	Pág.
Resumen	I
Lista de figuras	XV
Lista de tablas	XVII
Lista de Publicaciones	XVIII
Introducción	1
1. Capítulo 1. Alternativas ante el conflicto entre autoridades ambientales y habitantes de áreas protegidas en páramos colombianos	9
1.1 Resumen	9
1.2 Introducción	9
1.3 Primera alternativa “Administración eficiente de las áreas protegidas”	14
1.3.1 Concesión de servicios ecoturísticos en Parques Nacionales Naturales	14
1.3.2 Compra de tierras por parte de sociedades de economía mixta	15
1.4 Segunda alternativa “Protección de la naturaleza exigiendo el cumplimiento de la norma”	17
1.4.1 Limitantes de las zonas de reserva como estrategia para la conservación	18
1.4.2 Conflictos de la naturaleza prístina.....	19
1.5 Tercera alternativa “Soluciones integrales ante un conflicto complejo”	20
1.5.1 Planes de manejo comunitario	20
1.5.2 Implementación de modelos agroecológicos y rescate de la memoria biocultural.....	22
1.5.3 Cambios en estructura agraria	23
1.6 Bibliografía.....	24
2. Capítulo 2. Agricultura y vida en el páramo: una mirada desde la vereda El Bosque (Parque Nacional Natural de Los Nevados)	29
2.1 Resumen	29
2.2 Introducción	30
2.3 Metodología.....	31
2.4 Resultados y discusión	32
2.4.1 Características socioeconómicas	32
2.4.2 Componente agropecuario y conocimiento de la biodiversidad	37

2.4.3	Percepciones frente a la problemática socioambiental.....	40
2.4.4	Análisis contextual	42
2.5	Conclusiones.....	43
2.6	Bibliografía	43
3.	Capítulo 3. Parámetros taxonómicos, fisicoquímicos y actividades enzimáticas de suelos asociados a cultivo de papa, ganadería y páramo del Parque Nacional Natural de los Nevados, Colombia	47
3.1	Resumen.....	47
3.2	Introducción.....	48
3.3	Materiales y métodos	49
3.3.1	Descripción del lugar de estudio	49
3.3.2	Caracterización taxonómica de suelos de la vereda El Bosque	49
3.3.3	Muestreo de suelos	50
3.3.4	Parámetros fisicoquímicos del suelo.....	50
3.3.5	Actividades enzimáticas del suelo.....	50
3.3.6	Análisis estadístico	51
3.4	Resultados y Discusión	51
3.4.1	Caracterización taxonómica suelos.....	51
3.4.2	Parámetros fisicoquímicos del suelo.....	52
3.4.3	Actividades enzimáticas.....	56
3.4.4	Relaciones entre parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas.....	61
3.5	Conclusiones.....	63
3.6	Bibliografía	63
4.	Capítulo 4. Biodiversidad de grupos funcionales de microorganismos asociados a suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo en el Parque Nacional Natural de Los Nevados, Colombia	69
4.1	Resumen.....	69
4.2	Introducción.....	70
4.3	Datos del proyecto	70
4.4	Descripción del proyecto	71
4.5	Cobertura taxonómica 1	71
4.6	Cobertura taxonómica 2	71
4.7	Cobertura geográfica.....	72
4.8	Cobertura temporal	73
4.9	Materiales y métodos	73
4.10	Resultados	74
4.11	Discusión.....	75
4.12	Bibliografía	79
5.	Capítulo 5. Grupos funcionales de microorganismos en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo del Parque Nacional Natural de los Nevados, Colombia	81
5.1	Resumen.....	81
5.2	Introducción.....	82
5.3	Materiales y métodos	83
5.3.1	Descripción de la zona de estudio	83
5.3.2	Diseño de muestreo.....	84
5.3.3	Aislamiento, cultivo y determinación de abundancia de microorganismos cultivables pertenecientes a grupos funcionales del suelo	84
5.3.4	Identificación taxonómica de los microorganismos aislados.....	85

5.3.5	Análisis de diversidad y estadístico	85
5.4	Resultados.....	86
5.4.1	Riqueza microbiana	86
5.4.2	Estructura microbiana	87
5.5	Análisis	95
5.6	Conclusiones	101
5.7	Bibliografía.....	101
6.	Capítulo 6. Análisis de diversidad de la comunidad microbiana (región V5-V6 16S rRNA) presente en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo en el Parque Nacional Natural los Nevados, Colombia.	109
6.1	Resumen	109
6.2	Introducción	110
6.3	Materiales y métodos.....	111
6.3.1	Descripción del lugar de estudio	111
6.3.2	Muestreo de suelos.....	111
6.3.3	Extracción ADN del suelo.....	111
6.3.4	Amplificación región hipervariable V5-V6 y pirosecuenciación	112
6.3.5	Análisis de secuencias.....	112
6.4	Resultados.....	113
6.5	Discusión	122
6.6	Conclusiones	125
6.7	Bibliografía.....	125
7.	Capítulo 7. Comunidades microbianas en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo de la vereda El Bosque del Parque Nacional Natural los Nevados, Colombia	131
7.1	Resumen	131
7.2	Introducción	132
7.3	Materiales y métodos.....	133
7.3.1	Descripción del lugar de estudio	133
7.3.2	Diseño de muestreo	134
7.3.3	Estrategia metodológica para el análisis de comunidades microbianas.....	134
7.3.4	Análisis estadístico.....	135
7.4	Resultados y discusión	137
7.5	Conclusiones	147
7.6	Bibliografía.....	147
8.	Conclusiones generales y recomendaciones	151
8.1	Conclusiones generales.....	151
8.2	Recomendaciones	153
A.	Anexo A: Artículo publicado Revista Acta Agronómica.....	155
B.	Anexo B: Descripción perfiles de suelo vereda El Bosque.....	165
C.	Anexo C: PERMANOVAS estructura microbiana para las fincas Buenos Aires, EL Eden y La Secreta grupos funcionales cultivables	173

XIV Caracterización de comunidades microbianas asociadas a prácticas agrícolas y usos del suelo de la vereda El Bosque - Parque Nacional Natural de los Nevados

D. Anexo D: Microorganismos indicadores de cambios en el uso de suelo en el PNN Los Nevados para las diferentes estrategias metodológicas empleadas.175

Lista de figuras

	Pág.
Figura 1-1: Fotografía páramo. Parque Nacional Natural de Los Nevados, Colombia. ...	10
Figura 1-2: Fotografía páramo. Parque Nacional Natural el Cocuy, Colombia	11
Figura 1-3: Fotografía páramo. Parque Nacional Natural Sumapaz, Colombia.....	12
Figura 1-4: Nacimiento agua termal El Coquito. Parque Nacional Natural Los Nevados, Colombia.	13
Figura 1-5: Nacimiento río Bogotá. Páramo de Guacheneque, Colombia.....	13
Figura 3-1: ACP de parámetros fisicoquímicos en suelos evaluados de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados.....	56
Figura 3-2: ACP actividades enzimáticas en suelos evaluados de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados. Ejes 1 y 2.	60
Figura 3-3: ACP actividades enzimáticas en suelos evaluados de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados. Ejes 1 y 3.	60
Figura 3-4: ACP actividades enzimáticas y parámetros fisicoquímicos evaluados en suelos de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados. Ejes 1 y 2.....	62
Figura 3-5: ACP actividades enzimáticas y parámetros fisicoquímicos evaluados en suelos de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados. Ejes 1 y 3.....	62
Figura 4-1: Ubicación del Parque Nacional Natural de Los Nevados.....	72
Figura 4-2: Cobertura taxonómica fijadores de nitrógeno.	76
Figura 4-3: Cobertura taxonómica solubilizadores de fosfato.	77
Figura 4-4: Cobertura taxonómica celulolíticos.	78
Figura 5-1: MDS de matriz global de similitudes Bray-Curtis de grupos funcionales cultivables (fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos)	88
Figura 5-2: MDS de matriz de similitudes Bray-Curtis de grupos funcionales cultivables para la finca Buenos Aires.....	89
Figura 5-3: CAP grupos funcionales de microorganismos en la finca Buenos Aires.	90
Figura 5-4: MDS de matriz de similitudes Bray-Curtis de grupos funcionales cultivables para la finca El Edén.	92
Figura 5-5: CAP para grupos funcionales de microorganismos en la finca El Edén.....	93
Figura 5-6: MDS de matriz de similitudes Bray-Curtis de grupos funcionales cultivables para la finca La Secreta.....	94
Figura 5-7: CAP para grupos funcionales de microorganismos en la finca La Secreta. .	95
Figura 5-8: Frecuencia de distribución filotipos indicadores en las tres fincas.	95
Figura 6-1: Presentación primera parte de la estructura de la comunidad microbiana a nivel de orden en función de los usos del suelo: cultivo de papa y ganadería y páramo.	114
Figura 6-2: Presentación segunda parte de la estructura de la comunidad microbiana a nivel de orden en función de los usos del suelo: cultivo de papa y ganadería y páramo.	115

Figura 6-3: Análisis de rarefacción datos 16S rRNA región V5-V6 y pirosecuenciación de suelos evaluados.	117
Figura 6-4: Clúster subrayado por uso del suelo.	118
Figura 6-5: Clúster subrayado por finca.	118
Figura 6-6: Clúster subrayado por época de muestreo.....	119
Figura 6-7: MDS de los OTUs representativos	120
Figura 6-8: CAP para los OTUs representativos de la finca Buenos Aires.	121
Figura 6-9: CAP para los OTUs representativos de la finca La Secreta.	121
Figura 7-1: Porcentaje componentes de variación relativos para Permanova de cada matriz analizada.....	138
Figura 7-2: Frecuencia de filotipos indicadores en las diferentes matrices de estudio..	140
Figura 7-3: CAP estrategia NMP suelos PNN Los Nevados y parámetros de procesos del suelo.....	141
Figura 7-4: CAP estrategia GF Cultivables suelos PNN Los Nevados y parámetros de procesos del suelo	143
Figura 7-5: CAP estrategia 16S-454 y parámetros de procesos del suelo.....	145

Lista de tablas

	Pág.
Tabla 2-1: Actividades, materiales e insumos utilizados en el cultivo de papa	37
Tabla 2-2: Plantas de uso medicinal empleadas por los campesinos de la vereda El Bosque.....	39
Tabla 3-1: Propiedades físicas y químicas promedio para los diferentes factores evaluados (uso, época, finca) en la vereda El Bosque PNN Los Nevados	52
Tabla 3-2: Propiedades químicas promedio para los diferentes factores evaluados (uso, época, finca) en la vereda El Bosque PNN Los Nevados	53
Tabla 3-3: Actividades enzimáticas promedio para los suelos de estudio para los diferentes factores evaluados (uso, época, finca) en la vereda El Bosque PNN Los Nevados	57
Tabla 5-1: PERMANOVAS de riqueza y estructura microbiana para el conjunto de datos	86
Tabla 5-2: Riqueza microbiana (S) promedio por muestra de suelo según el uso, finca y muestreo	87
Tabla 5-3: Comparaciones múltiples entre suelos bajo distinto uso, en la finca Buenos Aires, El Edén y La Secreta.....	88
Tabla 5-4: Promedios en la dispersión multivariada según época y uso del suelo en las fincas Buenos Aires, El Eden y La Secreta.....	89
Tabla 5-5: Abreviación de las especies o grupos indicadores proyectados en el CAP ...	91
Tabla 6-1: Riqueza microbiana promedio por muestra de suelo según el uso, finca y muestreo	119
Tabla 6-2: PERMANOVAS de estructura microbiana para los diferentes factores evaluados.....	120
Tabla 7-1: Variables seleccionadas a partir de análisis BVSTEP en las matrices de estudio.	139
Tabla 7-2: Correlación entre las diferentes matrices de abundancia y diversidad	145

Lista de Publicaciones

Artículos

Avellaneda-Torres, L.M.; Torres, E; León-Sicard, T.E. Alternativas ante el conflicto entre autoridades ambientales y habitantes de áreas protegidas en páramos colombianos. Revista Mundo Agrario. En prensa 2014

Avellaneda-Torres, L.M.; Torres, E; León-Sicard, T.E. 2014. Agricultura y vida en el páramo: una mirada desde la vereda El Bosque (Parque Nacional Natural de Los Nevados). Revista Cuadernos de Desarrollo Rural. 11(73), 105-128. doi:10.11144/Javeriana.CDR11-73.avpm

Avellaneda-Torres, L.M., Torres-Rojas, E. 2013. Biodiversidad de grupos funcionales de microorganismos del suelo asociados a cultivo de papa, ganadería y páramo del Parque Nacional Natural de Los Nevados, 1060 registros, En línea, http://ipt.sibcolombia.net/sib/resource.do?r=unal_gebix, publicado el 23/07/2013. http://ipt.sibcolombia.net/sib/resource.do?r=unal_gebix

Cañon-Cortazar, R.G.; **Avellaneda-Torres, L.M.;** Torres, E. 2012 “Microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno en suelos bajo tres sistemas de uso: cultivo de papa, ganadería y páramo, en el Parque Los Nevados, Colombia”. Revista Acta Agronómica 61 (4): 371-379.

Trabajos resumidos en eventos

Avellaneda-Torres, L.M.; León-Sicard, T.E.; Torres, E. 2013. Impacto del cultivo de papa y la ganadería sobre grupos funcionales de microorganismos del suelo, en páramos del Parque Nacional Natural los Nevados, Colombia. XIII Congreso Argentino de Microbiología y II Congreso Microbiología Agrícola y Ambiental 2013

Avellaneda-Torres, L.M.; Torres, E.; León, T.E. 2012. Habitantes de páramos en Colombia y alternativas de conservación: un análisis desde la agroecología. II Simposio Científico Internacional. Agroecología y Seguridad Alimentaria

Cañon, G; **Avellaneda-Torres, L.M.;** Torres, E. 2012. Microorganismos asociados al nitrógeno en suelos bajo papá, ganadería y páramos en el Parque de los Nevados”. XVI Congreso Colombiano de la Ciencia del Suelo. Riohacha, Guajira. 4 de octubre 2012.

Avellaneda-Torres, L.M.; Torres-Rojas, E. León, T. 2012. Alternativas ante el conflicto entre autoridades ambientales y habitantes de áreas protegidas e páramos colombianos. Primer Congreso Latinoamericano y II Nacional de Alta Montaña Trópica: Desafíos ante el cambio climático de los Ecosistemas de Bosque Alto Andino, Páramos y Glaciar.

Introducción

El páramo y los bosques altoandinos prestan a la sociedad servicios ambientales como la continua provisión de agua en cantidad y calidad, la regulación hidrológica, la estabilidad de suelos, el almacenamiento de carbono y, en general, el mantenimiento de la biodiversidad. Adicionalmente, el páramo ha cobrado particular importancia debido a su valor paisajístico y cultural para el desarrollo del ecoturismo (UAESPNN *et al.*, 2007). Sin embargo, al interior de estos ecosistemas de alta montaña, específicamente en el páramo se encuentran más de medio millón de habitantes los cuales desarrollan actividades productivas entre las que se destacan el cultivo de papa y la ganadería.

El Parque Nacional Natural Los Nevados (PNN Los Nevados) constituye una región de alto interés en Colombia; se encuentra localizado geográficamente en la cordillera central de Colombia, vertientes oriental y occidental, con alturas entre los 2.600 y 5.321 msnm (PNN Los Nevados, 2007). Es una de las principales áreas protegidas de carácter nacional que hace parte de los procesos de ordenamiento ambiental del territorio, donde se viene consolidando un Sistema Regional de Áreas protegidas para la ecorregión del eje cafetero. El parque incluye diversos ecosistemas como nieves perpetuas, superpáramo, páramo, bosques altoandinos, andinos y subandinos, siendo el páramo y el superpáramo los ecosistemas más representativos en área (Fandiño y Wyngaarden, 2002). El parque también hace parte del macizo Ruiz-Tolima el cual alinea de sur a norte 8 volcanes principales: Cerro Machín, Nevado del Tolima, Páramo de Santa Rosa, Paramillo del Quindío, Nevado Santa Isabel, Paramillo del Cisne, Nevado del Ruiz y Cerro Bravo (PNN Los Nevados, 2010)..

El plan de manejo 2007-2011 del PNN Los Nevados plantea el siguiente objetivo como parte de los cuatro principales propósitos de conservación para el mismo (PNN Los Nevados, 2007): *“...Mantener una muestra representativa de la biomasa de los páramos y bosques altoandinos del sistema centro andino colombiano, por su importancia en diversidad ecológica, recursos genéticos representados y los valores culturales asociados...”*. Sin embargo, en el mismo documento se plantea que: *“...Las principales debilidades están relacionadas con la tenencia de la tierra, ya que el 24% del área del parque es propiedad privada, presentándose usos agropecuarios en el interior del área protegida en detrimento de los valores objeto de conservación...”*, lo que ocasiona una amenaza o dificultad para cumplir los objetivos planteados.

Adicionalmente se afirma que: *“...La presencia de una comunidad dentro del parque, en la vereda El Bosque, donde sus pobladores ejercen presiones relacionados con actividad ganadera, cultivos de papa y extracción de madera para postes y leña, en sectores cercanos a la Laguna del Otún, impactando considerablemente estos ecosistemas...”*

Seguidamente se indica: *“...El área presenta deficiencias en investigación básica y aplicada que dificultan obtener insumos importantes para dar claridad frente a las presiones y vulnerabilidades de los valores objeto de conservación y generar estrategias de manejo*

acordes con la realidad...". En este marco el PNN Los Nevados ha planteado como primer y tercer objetivo estratégico: "...Reducir los impactos negativos generados por usos agropecuarios sobre el parque y la zona de influencia; y ampliar el conocimiento del estado y presiones sobre los valores objeto de conservación del Parque...". Lo anterior es aún más relevante si se tiene en cuenta que la vereda El Bosque está ubicada en una de las rutas de acceso al complejo de humedales del Otún, designado como de importancia internacional por la Convención Ramsar desde el 25 de junio de 2008.

Por tal razón la presente investigación buscó evaluar las relaciones que se han generado entre los microorganismos del suelo y las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería en la vereda El Bosque (único asentamiento humano del parque del PNN Los Nevados). Lo anterior es importante dado el papel que cumplen los microorganismos en el ambiente, específicamente en los suelos, como un elemento fundamental para la regulación de los diferentes ecosistemas, los cuales juegan un papel crucial en la transformación de la materia orgánica y en los ciclos geoquímicos del nitrógeno, fósforo y carbono.

A la fecha existen muy pocos reportes de estudios de diversidad microbiana en el PNN Los Nevados entre los que se destacan las investigaciones llevadas a cabo por el Centro Colombiano en Genómica y Bioinformática en Ambientes Extremos-GeBix. La falta de investigación en la zona constituye una problemática fundamental, más aún, si se tiene en cuenta que los ecosistemas de alta montaña del parque, como los páramos, son considerados extremos debido a las características ambientales que presentan (i.e., alta radiación solar, baja presión atmosférica, cambios diarios extremos de temperatura, presencia de zonas volcánicas, entre otras) (GEBIX, 2007). Es indudable entonces que el PNN Los Nevados representa un gran recurso desde el punto de vista ecológico y se constituye, en un sitio único para estudios de ecosistemas extremos en riesgo de desaparecer. Por consiguiente, es importante estudiar la biodiversidad microbiana presente en el PNN Los Nevados, con el objetivo de conocer su microbiota, caracterizar sus potencialidades y brindar alternativas para la conservación y uso sostenible de estos ambientes.

La caracterización de la microbiota del suelo se realizó a tres diferentes niveles, los cuales se han planteado como relevantes para la evaluación del impacto de las prácticas agrícolas sobre las propiedades microbianas del suelo, siendo estos (Hill *et al.*, 2000):

1. Análisis a nivel de procesos del suelo, en este caso aspectos como la biomasa, las tasas de respiración y las actividades enzimáticas son importantes. Aunque estos métodos no proporcionan información específica a nivel taxonómico o de las comunidades microbianas, son un elemento importante para comprender sus interrelaciones (Hill *et al.*, 2000), dando información relevante que permite comprender el funcionamiento de los ciclos biogeoquímicos, la calidad y, a largo plazo, la salud del suelo. En este marco la determinación de los parámetros fisicoquímicos son importantes para la comprensión del sistema suelo.

En este sentido la presente investigación realizó evaluación de diferentes parámetros fisicoquímicos y bioquímicos (actividades enzimáticas) asociados a diferentes ciclos biogeoquímicos, con el fin de comprender los cambios generados en los procesos del suelo en los cuales están involucrados los diferentes microorganismos.

2. Análisis a nivel de las comunidades o microorganismos determinados mediante métodos cultivo-dependientes. Se ha planteado que cambios cualitativos y cuantitativos en las comunidades microbianas pueden servir como un indicador importante de las prácticas agrícolas del suelo. Así mismo, determinaciones del crecimiento microbiano, su distribución, función y, si es posible, el entendimiento de las diferentes interacciones entre especies, cobran mayor relevancia (Hill, G. *et al*, 2000). Tal es el caso de los análisis de los grupos funcionales de microorganismos, que tienen procesos metabólicos semejantes, independientemente de su taxonomía. De esta manera los métodos dependientes de cultivo son importantes como parte de la determinación de la diversidad funcional del suelo.

Por tal motivo la presente investigación consideró relevante la evaluación de tres grupos funcionales de microorganismos como son los fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y los celulolíticos. Lo anterior, teniendo en cuenta que el nitrógeno y el fósforo son los más importantes y restrictivos nutrientes del suelo, a partir de los cuales se sintetizan las proteínas, los ácidos nucleicos y el ATP y que la continua aplicación de fertilizantes con altos contenidos de nitrógeno y fósforo y el estiércol de ganado depositado, afecta los contenidos de N y P en el suelo y por tanto pueden modificar la diversidad microbiana de estos grupos funcionales. Por otro lado, los microorganismos celulolíticos son los que a través de la transformación de celulosa en glucosa, generan una fuente importante de energía para que los microorganismos de los demás ciclos geoquímicos del suelo puedan tener un adecuado funcionamiento, teniendo en cuenta que la celulosa es el polisacárido más abundante en la naturaleza y mayor constituyente de la pared celular vegetal.

3. Análisis a nivel de comunidades microbianas mediante métodos cultivo-independientes. Estos métodos se plantean a raíz de las limitaciones propias de los métodos dependientes de cultivo, sobre los cuales se ha estimado que menos del 0.1% de los microorganismos que se encuentran en suelos agrícolas son cultivables en las diferentes formulaciones de medios de cultivo (Handelsman, 2004). Como respuesta a lo anterior se han realizado estudios de reasociación directa de ADN extraído de suelo, en los cuales se ha encontrado que la diversidad genética bacteriana de los suelos determinada por métodos independientes de cultivo puede ser 200 veces mayor a la obtenida con métodos cultivo-dependientes para los mismos suelos. Esto indica que las comunidades microbianas del suelo son muchos más complejas y por tanto la utilización de métodos cultivo-independientes cobran relevancia (Torsvik *et al.*, 1990a; Torsvik *et al.*, 1990b; Torsvik *et al.*, 1996; Ovreas y Torsvik, 1998; Hill *et al.*, 2000).

En este sentido y dado que la secuenciación del 16S del rRNA es uno de los métodos de elección para determinar relaciones taxonómicas (Claesson *et al.*, 2009; Castro *et al.*, 2004; Dethlefsen *et al.*, 2008; Escante-Lozada *et al.*, 2004 y Egert *et al.*, 2003;) se realizó la caracterización de las comunidades microbianas haciendo uso de la región hipervariable V5-V6 del 16S rRNA, dado que se ha reportado esta región como útil en análisis filogenéticos y de clasificación debido a su alto nivel de discriminación (Andersson *et al.*, 2008; Acinas *et al.*, 2004; Claesson *et al.*, 2010). Así mismo, se usó el método de pirosecuenciación, el cual permite realizar secuenciación sin realizar clonación y teniendo como ventaja una alta eficiencia, con rangos de lectura que alcanzan los 400pb, mediante el método de PCR en emulsión (Morozova y Marra, 2008).

En medio de este contexto se planteó como objetivo general de la presente investigación doctoral:

“Caracterizar las comunidades microbianas de suelos de diferentes agroecosistemas de la vereda El Bosque - Parque Nacional Natural Los Nevados, con el fin de determinar posibles relaciones entre éstas y las prácticas agrícolas y usos del suelo”

Y como objetivos específicos:

- 1. Caracterizar las principales prácticas agrícolas y usos del suelo de la Vereda El Bosque – PNNN, para seleccionar los agroecosistemas más representativos en cuanto a impacto y frecuencia.*
- 2. Comparar los parámetros fisicoquímicos de los suelos para evaluar posibles modificaciones generadas por el cultivo de papa y la ganadería.*
- 3. Comparar las actividades enzimáticas de diferentes ciclos geoquímicos del suelo para evaluar posibles modificaciones generadas por el cultivo de papa y la ganadería.*
- 4. Caracterizar la abundancia y diversidad de microorganismos del suelo pertenecientes a grupos funcionales cultivables para evaluar posibles modificaciones generadas por el cultivo de papa y la ganadería sobre éstas.*
- 5. Estimar la diversidad de las comunidades microbianas del suelo determinada mediante métodos cultivo independiente (indicador taxonómico gen 16S rRNA) para evaluar posibles modificaciones generadas por el cultivo de papa y la ganadería sobre éstas.*
- 6. Analizar integradamente los parámetros obtenidos en los anteriores objetivos, con miras a comprender posibles relaciones entre estos y las prácticas agrícolas y usos del suelo en la vereda el Bosque – PNNN.*

El desarrollo de los anteriores objetivos tuvo como marco conceptual general la agroecología, disciplina científica que centra su estudio en la agricultura desde una perspectiva ecológica y con un marco teórico cuya finalidad es analizar los procesos agrícolas de manera integral, considerando los ecosistemas agrícolas como unidades fundamentales de estudio. En estos sistemas, los ciclos minerales, las transformaciones de la energía, los procesos biológicos y las relaciones socioeconómicas son investigados y analizados como un todo (Altieri y Nicholls, 2000). La agroecología es la disciplina que provee el conocimiento y la metodología para diseñar, estudiar y manejar agroecosistemas que sean ambientalmente sanos/seguros, económicamente viables, socialmente equitativos/justos y culturalmente sensibles/diversos (Altieri y Nicholls, 2000; Altieri, 2001, 2009).

Otros autores introducen en la conceptualización de la Agroecología las estrechas relaciones que existen entre la sociedad y la agricultura. De acuerdo con León. T. (2009) la agroecología es la ciencia que estudia la estructura y función de los agroecosistemas tanto desde el punto de vista de sus relaciones ecológicas como culturales. De esta manera la agroecología se constituye en una ciencia ambiental, en la medida que estudia, de manera conjunta, las interrelaciones complejas, dinámicas y constantes, que se establecen entre los ecosistemas y las culturas (Angel, 1993, 1995; Angel, 1996; Carrizosa, 2001; León, 2009). Por otro lado Guzmán *et al.*, (2000) plantean que la agroecología reivindica una necesaria unidad entre las diferentes ciencias naturales entre sí y con las ciencias sociales, para comprender las

interacciones existentes entre los procesos agronómicos, económicos y sociales (Guzmán *et al.*, 2000).

La agroecología no niega la especialización del conocimiento porque entiende su función en la dilucidación de incógnitas tanto a escala celular y molecular como en el ámbito del comportamiento ecosistémico de los distintos organismos del agroecosistema. Trata, sin embargo, de integrar estos conocimientos en visiones holísticas que den cuenta de la totalidad y no de la parcialidad del sistema agrícola (León, 2009). La agroecología encaja bien con los asuntos tecnológicos que requieren prácticas agrícolas más sensibles al medio ambiente y a menudo encuentra congruencia del desarrollo tanto ambiental como participativo con perspectivas filosóficas (Hecht, 1997). La agroecología ha abierto las puertas al estudio de los componentes culturales, es decir, sociales, económicos, políticos, históricos, filosóficos, institucionales y tecnológicos que inciden en los campos de cultivo con igual o en algunos casos con mayor fuerza que las variables meramente ecológicas (León, 2009).

En esta tesis doctoral se analizaron los diferentes agroecosistemas presentes en la vereda El Bosque, siendo estos, aquellas unidades fundamentales en las cuales se llevan a cabo determinadas relaciones ecosistema-cultura. Así mismo, en el transcurso de la presente investigación se encontró que no existen mayores diferencias en las condiciones ecosistémicas y culturales de los agroecosistemas de la vereda, evidenciándose que aspectos como las tecnologías aplicadas en las prácticas agrícolas, y las relaciones sociales y económicas presentaron una alta homogeneidad entre sí, por lo cual, se decidió evaluar tres agroecosistemas (también denominados fincas): Buenos Aires, El Eden y La Secreta, por considerarse representativos de las características ecológicas y culturales de la zona, así como relevantes en cuanto a la frecuencia y posibles impactos de las prácticas agrícolas asociadas. De igual manera, se evidenció que dichos agroecosistemas no contaron con límites claros debido a los conflictos de propiedad de la zona.

Por otro lado, al interior de cada uno de los agroecosistemas mencionados, se encontraron otros agroecosistemas representativos, denominados por León (2014), como de *nivel inferior o menor*, siendo estos, el cultivo de papa, la ganadería y el páramo en conservación (de igual manera el páramo es el ecosistema de nivel superior en el que se encuentra la vereda). Sin embargo, debido a la falta de familiaridad con este concepto se decidió nominarlos como usos del suelo.

La investigación realizada en esta tesis de doctorado se organizó en siete (7) capítulos escritos a manera de artículos, de la siguiente manera:

En el primer capítulo se construyó un marco conceptual general a manera de artículo de reflexión en el cual se presentan las diferentes alternativas ante el conflicto entre autoridades ambientales y comunidades que habitan al interior de los páramos.

El segundo capítulo se elaboró con el objetivo de caracterizar las prácticas agrícolas y usos del suelo que se presentan en la vereda El Bosque del PNN Los Nevados. En este se relacionaron aspectos del primer artículo con la situación específica del PNN Los Nevados y se caracterizaron las prácticas agropecuarias asociadas al cultivo de papa y la ganadería desarrollados en la zona, los cuales fueron la base para la delimitación y toma de muestras de suelo y para la realización de los siguientes artículos.

El tercer capítulo se hizo con el objetivo de evaluar posibles relaciones entre las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería con los parámetros fisicoquímicos y las actividades enzimáticas asociadas a diferentes ciclos biogeoquímicos de los suelos de la vereda EL Bosque del PNN Los Nevados. Adicionalmente, en este capítulo se reporta la clasificación taxonómica de los suelos de estudio. Este capítulo se enmarca en la estrategia de evaluación de la comunidad microbiana a nivel de los procesos del suelo

El cuarto capítulo se escribió bajo el formato de *Artículo de Datos* ó *DataPaper* en el cual se reportaron los registros biológicos de los microorganismos aislados, purificados e identificados en la determinación de grupos funcionales del ciclo del nitrógeno (fijadores de nitrógeno), fósforo (solubilizadores de fosfato) y carbono (celulolíticos). Este *DataPaper* se realizó paralelamente al registro biológico de los microorganismos ante el Sistema de Información sobre Biodiversidad en Colombia (SIB Colombia) y la publicación de los metadatos asociados en el Portal de Datos SIB Colombia.

El quinto capítulo se realizó con el objetivo de evaluar posibles cambios en la diversidad funcional microbiana del suelo asociados al cultivo de papa y ganadería en la zona. Para esto se determinó la riqueza, abundancia y composición de los grupos funcionales cultivables del ciclo del nitrógeno (fijadores de nitrógeno), fósforo (solubilizadores de fosfato) y carbono (celulolíticos). Adicionalmente, se presenta en el Anexo A el artículo, titulado: “Microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno en suelos bajo tres sistemas de uso: cultivo de papa, ganadería y páramo, en el Parque Los Nevados, Colombia”, el cual también se desarrolló en el marco de la presente tesis de doctorado e hizo parte de la tesis de pregrado de Ingeniería Agronómica del estudiante Guillermo Cañón Cortazar. En este artículo se evaluó la abundancia de microorganismos amonificantes, proteolíticos, oxidantes de amonio, oxidantes del nitrito y denitrificantes en los mismos suelos de estudio. Este artículo y los capítulos cuarto y quinto, hacen parte de la estrategia de caracterización de la comunidad microbiana a nivel de diversidad funcional haciendo uso de técnicas dependientes de cultivo.

El sexto capítulo presenta la caracterización de la comunidad microbiana de los suelos de estudio haciendo uso de la región V5-V6 del gen 16S rRNA y pirosecuenciación. Esto con el fin de determinar posibles relaciones entre la comunidad microbiana y el cultivo de papa y la ganadería en los suelos de páramo de la zona. Este artículo se realizó bajo la estrategia de caracterización de la diversidad microbiana del suelo haciendo uso de técnicas independientes del cultivo.

El séptimo capítulo y último buscó realizar un análisis integrado de las diferentes estrategias empleadas para la evaluación de las comunidades microbianas y los posibles cambios detectados por dichas estrategias en función del cultivo de papa y ganadería en los suelos de páramo de la zona, con el objetivo de tener una visión global de las relaciones entre la comunidad microbiana y los usos del suelo de vereda El Bosque el PNN Los Nevados.

La presente investigación doctoral también hizo parte de uno de los dos casos de estudio llevados a cabo en la tesis de maestría en Biociencias y Derecho de la Universidad Nacional de Colombia titulada: “Colombia entre dos mundos: un acercamiento a la relación entre investigadores de la biodiversidad y las comunidades”, desarrollada por Yilson Javier Beltrán. Esta tesis tuvo como objetivo analizar la relación que hay en el intercambio de conocimiento entre comunidades e investigadores con relación al acceso a de los recursos genéticos, la cual puede ser consultada para mayor ilustración.

La presente investigación doctoral se desarrolló en el marco del proyecto titulado “Conformación de una plataforma en metagenómica y bioinformática para la caracterización y el aprovechamiento de recursos genéticos de ambientes extremos” del Centro Colombiano de Genómica y Bioinformática en Ambientes Extremos – GEBIX y fue financiada por COLCIENCIAS (Contrato 246-2011) y llevada a cabo bajo el Contrato No 15 de 2008 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial (MAVDT) para acceso a recursos genéticos y el permiso de investigación de la Unidad Administrativa Especial de Parques Nacionales Naturales (UAESPNN DTNO-N-20/2007). Así mismo, este proyecto contó con el aval y retroalimentación de la comunidad campesina de la vereda El Bosque, quienes además de autorizar la toma de muestras y realización del presente estudio hicieron parte de la socialización de los resultados obtenidos. Adicionalmente, la presente tesis doctoral fue financiada por el Programa de Becas de Estudiantes Sobresalientes de Posgrado de la Vicerrectoría de la Universidad Nacional de Colombia.

Bibliografía

- Acinas, S.G., Marcelino, L.A., Klepac-Ceraj, V., Polz, M.F., 2004. Divergence and redundancy of 16S rRNA sequences in genomes with multiple *rrn* operons. *Journal of bacteriology* 186, 2629-2635.
- Altieri, M., 2001. Agroecología: principios y estrategias para diseñar sistemas agrarios sustentables. In: Sarandón, S. (Ed.), *Agroecología. El camino hacia una agricultura sustentable*. Ediciones Científicas Americanas. E.C.A.
- Altieri, M., 2009. El estado del arte de la agroecología: Revisando avances y desafíos. In: ALTIERI, M. (Ed.), *Vertientes del pensamiento agroecológico: fundamentos y aplicaciones*. SOCLA, Medellín, Colombia.
- Altieri, M., Nicholls, C.I., 2000. *AGROECOLOGÍA: Teoría y práctica para un agricultura sustentable*. PNUMA, México.
- Andersson, A.F., Lindberg, M., Jakobsson, H., Bäckhed, F., Nyrén, P., Engstrand, L., 2008. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS ONE* 3, e2836.
- Angel, A., 1996. *El reto de la vida: ecosistema y cultura*. ECOFONDO, Bogotá, Colombia.
- Angel, M.A., 1993. *La trama de la vida. Bases ecológicas del pensamiento ambiental*. Dirección General de Capacitación del Ministerio de Educación Nacional - Instituto de Estudios Ambientales (IDEA) Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Angel, M.A., 1995. *La fragilidad ambiental de la cultura*. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Carrizosa, J., 2001. ¿Qué es ambientalismo? – La visión ambiental compleja. Centro de Estudios de la Realidad Colombiana (CEREC) – Instituto de Estudios Ambientales (IDEA) de la Universidad Nacional de Colombia – Programa de Naciones Unidas para el Medio Ambiente (PNUMA) Red de Formación Ambiental, Bogotá.
- Claesson, M., O’Sullivan, O., Wang, Q., Nikkila, J., Marchesi, J., Smidt, H., Vos, W., Ross, R., Toole, P., 2009. Comparative analysis of pyrosequencing and a phylogenetic microarray for exploring microbial community structures in the human distal intestine. *PLoS Biology* 4 (8), 1-15.
- Claesson, M.J., Wang, Q., O’Sullivan, O., Greene-Diniz, R., Cole, J.R., Ross, R.P., O’Toole, P.W., 2010. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Research*, gkq873.

- Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M., Relman, D., 2008. The pervasive effects of an antibiotic on the human gut microbiota, as revealed by deep 16S rRNA sequencing. *PLoS Biology* 6 (11), 2383-2400.
- Egert, M., Wagner, B., Lemke, T., Brune, A., Friedrich, W., 2003. Microbial community structure in midgut and hindgut of the humus-feeding larva of *Pachnoda ehippiata* (Coleoptera:Scarabaeidae). *American Society for microbiology* 69(11), 6659-6668.
- Escante-Lozada, A., Gosset-Lagarda, G., Martínez-Jiménez, A., Bolívar-Zapata, F., 2004. Diversidad bacteriana del suelo: métodos de estudio no dependientes del cultivo microbiano e implicaciones biotecnológicas. *Agrociencia* 38, 583-592.
- GEBIX, 2007. Conformación de una plataforma en metagenómica y bioinformática para la caracterización y el aprovechamiento de recursos genéticos de ambientes extremos. In: Bogotá, C. (Ed.). Centro Colombiano en Genómica y Bioinformática en Ambientes Extremos.
- Guzmán, G.I., Gonzáles, M., Sevilla, E., 2000. Introducción a la agroecología como desarrollo rural sostenible. Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- Handelsman, J., 2004. Metagenomics: Application of Genomics to Uncultured Microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68, 669-685.
- Hecht, S., 1997. La evolución del pensamiento agroecológico. In: ALTIERI, M. (Ed.), *Agroecología: Bases Científicas para una agricultura sustentable*. Centro de Investigación, Educación y Desarrollo (CIED). , LIMA, PERU.
- Hill, G.T., Mitkowski, N.A., Aldrich-Wolfe, L., Emele, L.R., Jurkonie, D.D., Ficke, A., Maldonado-Ramirez, S., Lynch, S.T., Nelson, E.B., 2000. Methods for assessing the composition and diversity of soil microbial communities. *Applied Soil Ecology* 15, 25-36.
- León, T., 2014. *Agroecología: la ciencia de los agroecosistemas. La perspectiva ambiental*. Universidad Nacional de Colombia. Instituto de Estudios Ambientales. Series IDEA 23. 398p
- León, T., 2009. *Agroecología: desafíos de una ciencia ambiental en construcción*. . In: Altieri, M. (Ed.), *Vertientes del pensamiento agroecológico: fundamentos y aplicaciones*. SOCLA, Medellín, Colombia.
- Morozova, O., Marra, M., 2008. Applications of next-generation sequencing technologies in functional genomics: Review. *Genomics* 92, 255-264.
- Ovreas, L., Torsvik, V., 1998. Microbial diversity and community structure in two different agricultural soil communities. *Microb. Ecológica* 36, 303–315.
- Torsvik, V., Golsoyr, J., Daae, F., 1990a. High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.* 56, 782–787.
- Torsvik, V., Salte, K., Sorheim, R., Goksoyr, J., 1990b. Comparison of phenotypic diversity and DNA heterogeneity in a population of soil bacteria. *Appl. Environ. Microbiol* 56, 776–781.
- Torsvik, V., Sorheim, R., Goksoyr, J., 1996. Total bacterial diversity in soil and sediment communities — a review. *J. Ind. Microbiol.* 17, 170-178.
- UAESPNN, CARDER, varios, A., 2007. Recuperar el Páramo. *Restauración Ecológica en la Laguna del Otún Parque Nacional Natural Los Nevados*. In: Velasco-Linares, P. (Ed.), Pereira, Colombia.

1. Capítulo 1. Alternativas ante el conflicto entre autoridades ambientales y habitantes de áreas protegidas en páramos colombianos¹

1.1 Resumen

El presente artículo analiza las alternativas aplicadas ante el conflicto entre autoridades ambientales de áreas protegidas y habitantes de los páramos en Colombia. Se encontraron dos tipos de alternativas: la primera plantea la concesión de servicios ecoturísticos en los parques naturales y la compra de tierras por parte de sociedades de economía mixta. La segunda plantea el abandono de las actividades productivas de los agricultores, mediado por procesos educativos o de cumplimiento de las normas ambientales vigentes so pena de enfrentar acciones punitivas por parte del Estado. Este trabajo presenta una tercera alternativa que incluye diferentes estrategias: planes de manejo comunitario con tiempo y financiación institucional pertinente, aplicación de modelos agroecológicos y rescate de la memoria biocultural y cambios en la estructura agraria.

Palabras clave: conflicto ambiental de la conservación, parques nacionales naturales, cultivo de papa, ganadería, participación comunitaria, campesinos

1.2 Introducción

Colombia es uno de los países denominados megadiversos biológica y culturalmente. La diversidad biológica depende de factores como la existencia de tres ramales de la cordillera de los Andes, la influencia de dos océanos y su ubicación en la zona ecuatorial. Desde el punto de vista cultural la diversidad está representada por grupos humanos con múltiples manifestaciones y maneras de entender el entorno. Los pueblos indígenas reconocidos por el Estado son 84, con una población aproximada de 800 mil personas organizadas en 1500 comunidades que constituyen el 2% de la población nacional y habitan territorios por lo general ricos en biodiversidad, en 27 de los 32 departamentos del país (UAESPNN, 2001).

¹ El presente artículo se encuentra escrito bajo las instrucciones de autor de la *Revista Ambiente & Sociedad*

Según la FAO (2000), las montañas son frágiles ecosistemas los cuales son globalmente importantes como fábricas de agua de la tierra, hábitats de rica diversidad biológica, lugares para la recreación y el turismo y áreas de un importante valor cultural (FAO, 2000). En los Andes, por encima del límite de los bosques altoandinos y debajo del límite inferior de las nieves perpetuas, se encuentran extensas zonas de páramo (MMAC, 2002; Rangel, 2000), los cuales los han sido considerados considerados hotspots dentro de zonas hotspots por su ubicación dentro de la cordillera de los Andes (Myers et al., 2000; Madriñán et al., 2013) (Figura 1-1).

Figura 1-1: Fotografía páramo. Parque Nacional Natural de Los Nevados, Colombia.



Fuente: Tomada por Lizeth Manuela Avellaneda-Torres, 2013

Los páramos son ecosistemas neotropicales que cubren áreas extensas ubicadas entre la línea del bosque alto andino (3000 - 3800 msnm) y el límite de las nieves (4400 - 4800 msnm) en el norte de los Andes (Luteyn, 1999; Hofstede, 2008). Se encuentran en el Ecuador, Venezuela, Costa Rica y Colombia, país en donde tienen su principal extensión (Hofstede, 2003) (Figura 1-2 y 1-3). De acuerdo con Guhl (1982) bioclimáticamente el páramo se caracteriza por condiciones ambientales extremas y con gran influencia biológica: baja presión atmosférica, escasa densidad del aire, baja temperatura media, pero alta del aire y del suelo con directa insolación y muy bajos valores cuando no se realiza tal radiación de calor (Guhl 1982, Rey et al. 2002). Pombo (1989) consideraron al páramo como una unidad ecológica de gran importancia para la regulación de los flujos de agua, pues debido a su constitución es capaz de retener en sus suelos hidromórficos grandes volúmenes de agua y controlar su flujo a través de las cuencas hidrográficas.

Figura 1-2: Fotografía páramo. Parque Nacional Natural el Cocuy, Colombia



Fuente: Tomada por Lizeth Manuela Avellaneda-Torres, 2009

Los páramos forman un corredor interrumpido entre la cordillera de Mérida en Venezuela hasta la depresión de Huancabamba en el norte del Perú, con dos complejos más separados, los páramos en Costa Rica y la Sierra Nevada de Santa Marta, y con una continuidad en el sur, la jalca peruana. (Smith y Cleef 1988, Hofstede 2008). De los 35.303 km² de páramo (igual a la superficie de Bélgica), la mayor extensión la tiene Colombia, con 14.434 km², seguida por Ecuador con 12.602 km², Perú con 4.200 km², Venezuela 2.630 km² y Costa Rica solo 80 km (Hofstede 2003).

En Colombia se han realizado varias aproximaciones al conocimiento sobre la distribución y extensión del ecosistema paramuno. Rangel (2000) menciona que los páramos colombianos abarcan aproximadamente el 2.6% de la superficie del país; el Instituto Alexander von Humboldt en el mapa general de Ecosistemas de Colombia (1998) menciona un total de 1'379.000 Ha de páramos en el territorio nacional, correspondientes al 1.3 % de la extensión del país, y los resultados de Geoingeniería y MMAC (1999), indican que la superficie de Páramos alcanza 1'443.425 Ha (correspondiente al 1.3% de la extensión continental del país). Colombia, a nivel regional, posee la zona más importante de páramos, tanto por superficie como por diversidad (Humboldt 1998, Geoingeniería y MMAC 1999, MMAC 2002).

Figura 1-3: Fotografía páramo. Parque Nacional Natural Sumapaz, Colombia.



Fuente: Tomada por Lizeth Manuela Avellaneda-Torres, 2008

El páramo y los bosques altoandinos prestan a la sociedad servicios ambientales como la continua provisión de agua en cantidad y calidad, la regulación hidrológica (UAESPNN & CARDER, 2007, MMAC, 2002, Pombo, 1989) (Figura 1-4 y 1-5), la estabilidad de suelos, el mantenimiento de la biodiversidad, lugares para la educación, la recreación, actividades científicas, recuperación de conocimientos ancestrales y la conservación de otros valores paisajísticos y culturales (UAESPNN & CARDER, 2007).

Los páramos no se encuentran deshabitados. En el periodo prehispánico fueron ocupados temporalmente por poblaciones aborígenes, que los utilizaron siguiendo ciclos alimentarios y reproductivos propios de la fauna asociada a estos ambientes y estableciendo con ellos fuertes relaciones simbólicas de tipo sagrado (MMAC, 2002). Posteriormente, la conquista y colonización española transformó y alteró la ocupación y relaciones ancestrales con los páramos que, a partir de esta época, comenzaron a ser ocupados, intervenidos y transformados por poblaciones indígenas y de colonos, que impulsaron la propiedad privada y la producción económica (MMAC, 2002).

Figura 1-4: Nacimiento agua termal El Coquito. Parque Nacional Natural Los Nevados, Colombia.



Fuente: Tomada por Lizeth Manuela Avellaneda-Torres, 2011

Figura 1-5: Nacimiento río Bogotá. Páramo de Guacheneque, Colombia.



Fuente: Tomada por Lizeth Manuela Avellaneda-Torres, 2009

Aunque existen muchas extensiones de páramo sin ninguna presencia humana, grandes partes cuentan con diversos grupos de indígenas y mestizos, que lo utilizan principalmente para actividades de ganadería extensiva y cultivos de papa (Hofstede, 2008). El ganado afecta el ecosistema a través de sus hábitos alimenticios, forrajeo (arranque de material vegetal) y pisoteo, que compacta el material edáfico y genera fenómenos de erosión, remoción en masa, lenta descomposición de la materia orgánica y perturbación de sus características hidráulicas (MMAC, 2002). Los cultivos tienen el mayor impacto sobre el páramo porque para la preparación de los terrenos se elimina la vegetación y se voltea el suelo, que se seca superficialmente, liberando nutrientes que se encontraban inmovilizados en el medio edáfico (FEDEPAPA, 2004). Al igual que otros cultivos, en la papa se presentan desbalances biológicos por la utilización frecuente, masiva y anti técnica de agroquímicos (Rey, Franco y Castaño, 2002). En Colombia, el sistema de producción de papa está caracterizado como el de mayor demanda por fungicidas e insecticidas y el segundo en fertilizantes químicos (Ochoa, 2005).

Por otra parte, la conservación biológica de los páramos se interpreta y aplica de manera diferente en función de los intereses y actores involucrados. Particularmente, el gobierno nacional, dentro de sus estrategias para la conservación *in situ* de la diversidad biológica, ha declarado en estas zonas de páramo áreas naturales protegidas en diversas categorías y formas de administración desde la década de 1960 (UAESPNN, 2001). Esta situación ha generado repetidos conflictos dada la prohibición de las autoridades ambientales de dar uso productivo al suelo por parte de las comunidades campesinas que habitan al interior de dichas zonas.

El presente artículo analiza las posibles alternativas de conservación del páramo (utilizado en su mayor parte con cultivos de papa y ganadería). Se encontraron dos tipos principales de alternativas, como conclusión de este trabajo se propone una tercera alternativa, que parte de la crítica a las dos anteriores e incluye diferentes estrategias de manejo comunitario con tiempo y financiación institucional pertinente, aplicación de modelos agroecológicos, rescate de la memoria biocultural y cambios en la estructura agraria. Algunas de estas estrategias requieren cambios estructurales en el actual modelo de desarrollo agrario del país.

1.3 Primera alternativa “Administración eficiente de las áreas protegidas”

Esta primera alternativa plantea la resolución del conflicto a través de una “administración eficiente” de los recursos naturales, con las siguientes dos opciones:

1.3.1 Concesión de servicios ecoturísticos en Parques Nacionales Naturales

Consiste en “la prestación de los servicios de alojamiento, alimentos y bebidas, recaudo de tarifas de ingreso, infraestructura de servicios como auditorios y parqueaderos y la ecotienda, realizados por un contratista” (Miranda, 2005). Bajo esta alternativa los recursos naturales son una fuente de explotación económica que podría contribuir al desarrollo regional y nacional. Las concesiones se han propuesto entre otras cosas como un aporte a la sostenibilidad económica de las respectivas instituciones ambientales (MAVDT et al, 2004) y como una alternativa ante la ineficiencia del sistema de operaciones de la Unidad Administrativa Especial de Parques

Nacionales pues se ha dicho que ella no tiene vocación para ser un buen hotelero y operador de las actividades ecoturísticas, las cuales requieren de servicios altamente especializados y la construcción y mantenimiento de infraestructura, actividades que demandan altas inversiones (Miranda, 2005).

Este enfoque se ha señalado como una alternativa ante el conflicto con los habitantes de las áreas protegidas puesto que, como afirma Miranda (2005), "...en los procesos en que Parques Nacionales Naturales ha desarrollado concesiones y que se encuentran en marcha, siempre se ha privilegiado la vinculación y participación de las comunidades...". De esta manera se busca que, mediante acuerdos entre los operadores de las concesiones y las comunidades, se promueva el reemplazo de actividades no permitidas en la zona, por otras de tipo ecoturísticas promovidas por las concesiones. Sin embargo, al analizar lo señalado por habitantes de dichas zonas, se puede notar que en la práctica esta opción no ha sido muy viable, pues algunos de ellos indican que estos acercamientos son insuficientes. En general, las comunidades se encuentran aisladas de estos procesos, por lo cual intentan desarrollar sin mucho éxito sus propias alternativas ecoturísticas, pues la concesión, al contrario de actuar como ente de cooperación, se convierte en un operador privado que compite con la comunidad en condiciones de mayor calidad (alojamientos, personal, alimentación) por el turismo de la zona.

Por esta razón, algunos habitantes de estas áreas protegidas no ven el ecoturismo como una alternativa estable sino como un apoyo eventual y por lo tanto continúan desarrollando sus actividades agropecuarias, que sí les garantizan su supervivencia.

Al respecto Roldán (2012) plantea que

(...) el actual modelo de desarrollo turístico en Colombia está orientando principalmente desde un ámbito político y económico, lo cual está haciendo que los actores-sectores mejor posicionados del país sean quienes terminen controlando la actividad turística en los diferentes destinos, en vez de ser los propios habitantes locales, tal como se propone desde los principios de participación. Esta situación destierra las aspiraciones legítimas e intentos concretos de los pobladores locales que, en su gran mayoría, no cuentan con posibilidades de competir frente a grandes empresarios, por carecer de capacidad de "lobby", de representación institucional, de mecanismos de comunicación y difusión, de infraestructura básica, de acceso a crédito o de recursos propios, entre otros aspectos que son relevantes para el buen desarrollo de las actividades turísticas.

1.3.2 Compra de tierras por parte de sociedades de economía mixta

En esta alternativa se ha buscado el saneamiento predial de aquellas áreas que aunque se encuentran en zonas de reserva, son propiedad privada. Ha tenido la dificultad de que los procesos de compra de tierras son lentos e inestables y por tanto los habitantes de estas zonas no lo ven como una alternativa real.

Adicionalmente, las comunidades han planteado que se ha buscado comprar sus territorios con base en avalúos bajos con respecto al precio real de sus tierras y en consecuencia deciden no vender, pues con el dinero de venta de las fincas no será posible ubicarse dignamente en otra zona. Respecto a estos procesos Perez, Zarate y Turbay (2011) también han planteado que

(...) entra con fuerza la discusión sobre la necesidad de proteger las condiciones de los territorios rurales para evitar la "extinción" de los campesinos en nuestro país (...). Para los campesinos la tierra no es una inversión, sino un activo que garantiza su

subsistencia, una señal de identidad, una evidencia de los lazos con sus antepasados, una fuente de seguridad para el futuro y una condición para participar con plenos derechos de la vida comunitaria. Cuando un campesino pierde la tierra, queda despojado de mucho más que su principal medio de subsistencia.

Esta alternativa también ha sido criticada por distintos sectores de la sociedad, quienes argumentan que empresas mixtas interesadas en la explotación económica de los recursos naturales compran a bajo precio las tierras y los recursos naturales quedan en poder de sectores privados, dada la participación cambiante del Estado en las acciones de estas sociedades. Tal es el caso de algunos páramos en los que empresas mixtas compran los territorios donde nace el agua, la cual posteriormente se convierte en un recurso privado para enriquecimiento de los principales accionistas de estas empresas. Esta situación se encuentra enmarcada en la tendencia mundial de privatización del agua, la cual aparece en el marco de la política local y forma parte de un proceso más general de mercantilización del recurso hídrico y los servicios públicos en Colombia (Barlow y Clarke, 2004; Quintana, 2010)

Al respecto Varela (2007) plantea que en general, en Colombia, al igual que en la mayor parte del mundo, la dotación de los servicios de acueducto y alcantarillado ha tenido un carácter monopólico, dado que prácticamente el conjunto de las actividades las realiza un único operador, que integra verticalmente desde la aducción del agua en sus fuentes, hasta la propia recolección y tratamiento de las aguas residuales. De acuerdo con el autor esto ha permitido la consolidación de un modelo económico de inspiración keynesiana conocido como “Economía Mixta”, que en el país se ha manifestado en las empresas “Aguas de Cartagena”, y “Triple A” de Barranquilla donde ha intervenido capital privado multinacional en la provisión de los servicios públicos (Varela, 2007)

Según datos de la Superintendencia de Servicios Públicos Domiciliarios citados por Varela (2007), para finales del 2001 ya existía un número significativo de ciudades intermedias de proveedores privados o mayoritariamente privados, en sociedades de economía mixta. Tales son los casos de Metroaguas S.A. en Santa Marta; Acuaviva S.A. en Palmira; Proactiva en Montería; Conhydra en Buenaventura; Centroaguas en Tuluá; Acuagyr en Girardot; Servat en Florencia; Aguas de la Pennínsula en Maicao; Serap.QA en Tunja; y, finalmente, Aguas de la Guajira en Riohacha. En suma, doce empresas que son parcial o totalmente controladas por el capital privado, con una influencia creciente de capital proveniente de multinacionales. De la misma manera, desde mayo de 2004 se constituyó la empresa de economía mixta Aguas de Dosquebradas como sociedad anónima de servicios públicos conformada por las alcaldías de Pereira, Dosquebradas, la empresa Aguas y Aguas de Pereira, y Serviciudad (Quintana, 2010).

Las dos alternativas mencionadas parten de la separación conceptual entre seres humanos y naturaleza. Los seres humanos se ven a sí mismos por fuera del orden natural y actúan como administradores de los recursos naturales. Al respecto Turbay (2001) plantea que existe una reciprocidad negativa en las relaciones entre los seres humanos y su ambiente. Las personas se pueden ver a sí mismas como amos de la naturaleza, domesticadores, exploradores o conquistadores, con fines de producción, consumo, deporte o recreación. Desde este punto de vista los seres humanos son “administradores” de la naturaleza a través de la aplicación racional de la ciencia y de la técnica, dejando de lado consideraciones éticas (Turbay, 2001).

Este enfoque ha sido denominado también “El evangelio de la ecoeficiencia” (Martinez-Alier, 2004). Bajo esta visión, la conservación tiende a la monetarización de la naturaleza, asignándole valores económicos y convirtiéndola en un recurso que se valora en función del

crecimiento económico, promoviendo así “el buen uso de los recursos naturales”. Se desarrolla en el marco de la economía ambiental y plantea, por ejemplo, el control de recursos como el agua por parte de sectores privados, donde la ciudadanía participa y se apropia del recurso a través de la compra de acciones cuyos valores fluctúan en función de su comportamiento en la bolsa de valores. Bajo esta línea se encuentran también los impuestos para reducir la degradación de los recursos naturales y la entrega de áreas protegidas a sectores privados

Esta opción avanza conceptualmente al mostrar el valor de los recursos naturales y por tanto asignar referentes monetarios para la regulación eficiente de su uso. Sin embargo, tiene profundas críticas desde la economía ecológica, que indica la existencia de intangibles asociados a los recursos naturales, los cuales desde una mirada interdisciplinaria no pueden ser monetarizados.

Autores como Nicholas Georgescu-Roegen y Joan Martínez-Alier también han cuestionado la viabilidad del modelo de “desarrollo económico”, que busca el crecimiento económico infinito, imposible en un planeta con recursos naturales finitos. Por otro lado se ha cuestionado el crecimiento económico, medido en términos de producto interno bruto, puesto que aumentos en este indicador no necesariamente están relacionados con el mejoramiento de la calidad de vida de la población. Al respecto se han realizado propuestas alternativas como el Buen Vivir o Vivir Bien (Huanancuni, 2012). Así mismo varios investigadores plantean que el conflicto entre las disposiciones estatales y los habitantes de un territorio se ha presentado a través de la historia y se recrudece cuando el Estado concibe el territorio como una entidad al servicio de los intereses ajenos a quienes viven y se relacionan con él. “La expresión más clara de esta visión es el modelo de desarrollo actual, la estructura agraria del país y las políticas permisivas del Estado frente al uso de los recursos naturales” (Perez, Zárate y Turbay, 2011).

1.4 Segunda alternativa “Protección de la naturaleza exigiendo el cumplimiento de la norma”

Esta segunda opción plantea que los conflictos entre habitantes de áreas de reserva y la normatividad vigente, deben resolverse concientizando a dichos habitantes de la importancia de dar por terminadas sus actividades productivas o usos no permitidos y promoviendo la desocupación de estos territorios. Señala también que en caso de seguirse manteniendo usos que violen la normatividad se debe proceder a la aplicación de instrumentos punitivos por parte de las autoridades ambientales, las cuales deben obligar a las comunidades a cumplir con la ley. Al respecto se ha planteado

(...) La gestión de las áreas protegidas se ha desarrollado tradicionalmente con base en un modelo normativo, es decir, mediante procesos que pretenden ordenar las acciones humanas y su entorno utilizando mecanismos jurídicos que, en muchos casos, adquieren su legitimidad en el conocimiento científico y no tienen en cuenta otras formas de conocimiento y la realidad social, económica y cultural de las poblaciones rurales que se ven afectadas por la nueva condición (restricción) que adquieren los territorios donde han vivido desde tiempos ancestrales (Perez, Zárate y Turbay, 2011)

Esto se asemeja a la propuesta de una “policía de la conservación” (Riascos, 2001), centrada en controlar y vigilar los efectos que genera la presencia de habitantes en las áreas de conservación, enfoque que, sin embargo, no brinda alternativas para solucionar las causas o razones por las cuales las comunidades (pobres en su gran mayoría) mantienen estos usos no permitidos. Por lo tanto, se desconoce que estos usos no corresponden a acciones aisladas o

individuales de la población, sino que frecuentemente son una estrategia de supervivencia de las familias campesinas.

En esta alternativa al igual que en la anterior, los seres humanos se ven por fuera de la naturaleza, solo que no actúan como administradores sino como protectores de la misma. En esta visión la humanidad protege a la naturaleza de su propio accionar, y, en consecuencia, los seres humanos deben reducir al mínimo su presencia e intervención en estos ecosistemas. Se plantea que para la conservación de los recursos naturales se debe defender la naturaleza prístina, la cual debe mantenerse sin modificación alguna.

Turbay (2001) denomina este punto de vista como el enfoque proteccionista. Para Martínez-Alier (2004) esta es la corriente del “culto a lo silvestre”. En esta tendencia se pueden incluir los movimientos ambientalistas llamados de “ecología superficial”, que se centran solo en los problemas de contaminación y escasez de recursos, pero no en las causas generales de tipo cultural (social, político, simbólico, tecnológico y económico) en el ámbito global de la crisis ambiental. Esta noción conduce a que las soluciones ambientales se planteen meramente en el ámbito biofísico y no en el proceso de interrelación de las sociedades con su entorno (Ulloa, 2004).

Esta estrategia tiene elementos positivos dado que resalta la necesidad de que los seres humanos protejan la biodiversidad y la naturaleza, aspectos indispensables para el futuro de la sociedad. Así mismo, en Colombia, esta alternativa ha presentado avances con la formulación de la Política de Participación Social en la Conservación, también conocida como Parques con la Gente, sin embargo, se percibe que su aplicación en los páramos colombianos aún es insuficiente.

En general, la alternativa de “Proteger la naturaleza exigiendo el cumplimiento de la norma” presenta críticas importantes las cuales se presentan a continuación.

1.4.1 Limitantes de las zonas de reserva como estrategia para la conservación

Si bien la estrategia más importante utilizada por las agencias de conservación y gobiernos para preservar la biodiversidad, apunta hacia la protección de áreas de reserva y parques naturales, esta presenta las siguientes limitantes señaladas por Perfecto (2003):

- *La cantidad de biodiversidad conservada:* la cantidad de biodiversidad que se puede conservar en las zonas de reserva es una pequeña fracción de la biodiversidad existente. Se calcula que solo el 10% del área terrestre está protegida oficialmente (McNeely y Scheer, 2003). Kenia, por ejemplo, tiene cerca del 7% de sus tierras en parques nacionales, pero el 75% de la vida silvestre se encuentra fuera de estos (Baskin, 1994).
- *La naturaleza temporaria de las reservas:* las zonas de reserva tienen un carácter temporal. Por tanto su existencia y manejo varía de acuerdo a las orientaciones políticas, económicas o ambientales de las personas o instituciones que se encuentran a cargo de dichas reservas. En ese sentido se plantea que la conservación de la biodiversidad debería ser un programa a largo plazo.
- *Altas tasas de extinción de fragmentos aislados:* entre más pequeñas sean las áreas de reserva, menores serán las posibilidades de muchas especies para poder desarrollarse,

más aún cuando estas zonas son fragmentos aislados que no permiten la conectividad y el desplazamiento de especies. Se plantea que las tasas de extinción son tan altas que requerirían una reserva biológica cuyo tamaño excedería por mucho cualquier expectativa razonable bajo las actuales circunstancias políticas (Vandermeer et al, 2007).

Por estas razones se han hecho nuevas y complementarias propuestas, en las que se plantea un enfoque centrado en la matriz y no en pequeñas zonas de conservación. El término matriz se refiere a las áreas de producción agrícola que rodean las zonas de reserva, para no centrar la atención en pequeños fragmentos de reserva sino en el paisaje en su totalidad. Desde este enfoque se cuestiona que existan pequeñas áreas de conservación en muy grandes áreas de degradación a causa de un modelo que poco tiene en cuenta consideraciones ambientales. En palabras de Vandermeer et al (2007) “pequeñas ventanas de conservación mientras la casa es una completa destrucción”.

1.4.2 Conflictos de la naturaleza prístina

Existe una segunda crítica a esta alternativa y se refiere a que en ocasiones desconoce el contexto y las causas sociales, políticas y económicas de los conflictos entre seres humanos y el resto de la naturaleza y promueve soluciones que no logran superar un punto de vista netamente biofísico. Leal (2002) plantea que uno de los puntos que más ha suscitado debate es la idea de naturaleza “prístina”, es decir, anterior a las personas y por lo tanto separada de ellas, pues mucho de lo que consideramos natural, como los bosques, el agua, el suelo, las plantas o los animales, ha sido modificado por los seres humanos.

El problema es concebir a la naturaleza como prístina, lo cual no permite ver sus profundas relaciones con la sociedad. Williams (1980, citado por Leal, 2002) señala que “...la idea de naturaleza contiene una cantidad extraordinaria de historia humana, aunque esta suele pasar inadvertida” (Leal, 2002). Hoy en día, se ha descubierto que muchos de los llamados “paisajes prístinos” del planeta son en realidad “paisajes antropogénicos”, producto de actividades humanas que han modificado su entorno natural generación tras generación (Gomez-Pompa y Kraus 1992).

Para ejemplificar lo anterior, puede mencionarse el caso de los bosques tropicales, los cuales no se pueden entender como “selvas vírgenes” y como producto exclusivo de la naturaleza, ya que habitualmente son el resultado del manejo que han realizado sus habitantes durante miles de años. Dado lo anterior, es poco probable que estas áreas prístinas realmente existan (Gomez-Pompa y Kraus, 1992).

De acuerdo con Riascos (2001), el concepto clásico de conservación se ha basado en la separación entre seres humanos y el resto de la naturaleza. Esto se observa en la creación y manejo de áreas naturales protegidas que no asumen la existencia de poblaciones humanas en su interior o en sus zonas de influencia directa. Sin embargo, en Latinoamérica, cerca del 86% de las áreas protegidas están habitadas y en un 80% de las mismas viven comunidades indígenas. En Colombia también se ha vivido la contradicción histórica entre conservación de áreas naturales estratégicas y procesos de ocupación del territorio (Riascos, 2001), conflicto que, en algunas oportunidades, ha empeorado las condiciones de pobreza local, pues ha negado el control y acceso a los recursos naturales de los cuales depende el modo de vida de las comunidades. En estos casos, a menudo se prohíbe el uso de los recursos naturales locales en nombre de la conservación. El énfasis en las áreas protegidas como la única

herramienta de conservación efectiva, no ha resultado siempre una buena estrategia. Es más, bajo ciertas condiciones, ha llegado a incrementar la pobreza (Fisher et al, 2005).

De acuerdo con Sebastião (2002), la preocupación de los diseñadores de las políticas ambientales y de los conservacionistas por evitar la disminución de la biodiversidad los ha llevado a desplegar sus esfuerzos en la protección de áreas naturales sin tener presentes las necesidades del habitante. En su afán de proteger ecosistemas estratégicos se han olvidado de la diversidad humana y de las culturas que han constituido y preservado a la naturaleza por milenios. Los conservacionistas y los gobiernos en ocasiones defienden la naturaleza por sí misma, sin plantearse las relaciones que tiene con la gente. De ahí se propone, como solución al deterioro alarmante de los ecosistemas, la delimitación de áreas protegidas que deben ser puestas a salvo de las actividades humanas. "...olvidando que la causa de la crisis ambiental tiene sus orígenes en una economía de mercado (entre otras) que promueve la competencia y que se funda en la explotación irracional de los recursos naturales. Para ellos, el problema del creciente deterioro de la biodiversidad es inherente a los modelos de desarrollo impuestos..." (Sebastião, 2002).

Debe entenderse que conservar la naturaleza sin modificación tecnológica no parece ser culturalmente posible. La humanidad tiene que transformar el ecosistema para poder vivir y progresar como especie, pero sus transformaciones tienen características muy distintas a las que inducen las otras especies (Ángel y Ángel, 2002). De esta manera la conservación de la naturaleza prístina, sin modificación alguna, parece ser una situación ideal e inalcanzable, por lo cual se sugiere reconocer que los seres humanos necesitan y transforman permanentemente la naturaleza y más allá de promover la naturaleza prístina se ha de promover que estas transformaciones se enmarquen en un nuevo modelo ambientalmente sano.

Si el hombre no tiene otra salida que transformar las leyes básicas del ecosistema, el imperativo categórico debería ser que aprenda a transformar bien...El principal reto del comportamiento ambiental consiste en saber hasta dónde pueden llevar los seres humanos la transformación de la naturaleza. Ese debe ser el principio rector de toda ética ambiental... La tecnología puede ampliar, sin duda, los márgenes del equilibrio ecosistémico, pero no de manera indefinida. Hay límites naturales para la construcción de los sistemas culturales y más allá de esos límites, el mismo sistema cultural empieza a desmoronarse (Ángel y Ángel, 2002).

1.5 Tercera alternativa “Soluciones integrales ante un conflicto complejo”

El presente escrito propone la tercera alternativa, la cual parte de un análisis crítico a las dos anteriores. Consiste en la combinación de por lo menos tres diferentes estrategias, unas realizables en el corto plazo y otras que requieren cambios estructurales al actual modelo de desarrollo.

1.5.1 Planes de manejo comunitario

Las restricciones impuestas por las autoridades ambientales en las áreas de protección y conservación muchas veces contrastan con las necesidades, intereses y costumbres de las comunidades que tradicionalmente ocupan los territorios donde se hacen las declaratorias; por

esta razón es importante una aproximación a las condiciones básicas de la vida y economía campesina (Perez, Zárate y Turbay, 2011).

Así mismo no existe una solución generalizada para todos los territorios donde se presentan estos conflictos. Por tanto, una opción adecuada puede ser la realización de planes de manejo participativos en cada una de las zonas en conflicto, con el objetivo de que sean las comunidades quienes en conjunto con las instituciones gubernamentales y académicas definan la manera adecuada de hacer el diagnóstico, planeación y monitoreo de sus territorios. Es necesario generar un proceso que convoque a los diferentes actores de la realidad societal (gubernamentales, privados, no gubernamentales, sociales cívicos, comunitarios y académicos), promoviendo y fortaleciendo su participación en las diversas etapas del proceso que requiere la planeación (Gutiérrez y Sánchez, 2009; Roldán, 2012).

Para lograr una gestión integral, la participación deberá darse “desde la información hasta la evaluación, pasando por la comunicación, la decisión, la programación, el seguimiento y el control” (Gutiérrez y Sánchez, 2009; Roldán, 2012). De esta manera serán las propias comunidades quienes decidan en cada uno de los casos si la mejor opción es la venta de predios, los procesos de reubicación, los pagos económicos por acciones de conservación y restauración, el turismo ecológico comunitario, implementación de prácticas agroecológicas y/o declaración de “zonas socioeconómicas” para las comunidades históricas de la zona, entre otras.

El componente participativo y comunitario es relevante en la construcción de estos planes de manejo, pues generalmente la construcción de dichos documentos se ha dado de manera centralizada y con poca comunicación entre las autoridades ambientales y las comunidades de dichas zonas, lo que no ha permitido que exista sentido de pertenencia de las comunidades hacia estas orientaciones e incluso en muchos de los casos ha contado con su rechazo. En diversas ocasiones estos documentos priorizan la comunicación con aquellos que están interesados en la compra de tierras o en la concesión de los servicios eco turísticos, situación que lleva a permanentes conflictos, que agudizan el empobrecimiento de estas comunidades, restringiendo el acceso a la salud, la educación y el transporte.

La viabilidad de estos planes de manejo comunitario se da en la medida que cuenten con inversión social y recursos económicos por parte del Estado y deben contar con la infraestructura, personal, apoyo financiero y tiempo suficiente para que estos planes puedan ejecutarse, dado que han existido experiencias de planes participativos de manejo que nunca se han llevado a cabo debido a la ausencia de asignación presupuestal (Valbuena, 2006).

Al respecto Valbuena (2006) propone instrumentos de política para contribuir a la conservación y uso sostenible de los ecosistemas de páramo en tres estudios de caso del altiplano Cundiboyacense. La citada autora reporta como de mayor preferencia por parte de los campesinos de los páramos las siguientes recomendaciones: a) Dar prioridad a la inversión social a las familias y/o comunidades que siembren bajo agricultura de conservación y/o cuiden el páramo; b) Mejorar oportunidades de educación para sus hijos y/o nietos en contraprestación a la conservación del páramo; c) Pago de incentivos o subsidios directos por conservación del páramo.

Los planes de manejo comunitario de páramos en Colombia se encuentran en consonancia con la Política de Participación Social en la Conservación o Parques con la Gente, en la cual, según Juan Carlos Riascos (Director General Unidad de Parques Nacionales 1998-2002), se promovió la búsqueda de aliados sociales e institucionales con fundamento en principios de

trabajo y bases metodológicas propias del “pensamiento complejo”, reconociendo la tarea faraónica que demanda crear hechos continuos de formación de sujetos y no objetos instrumentales para la conservación con grupos sociales, subordinando el lenguaje y las intenciones a los ritmos de los procesos sociales, a sus expectativas y a sus convicciones (Riascos, 2001).

1.5.2 Implementación de modelos agroecológicos y rescate de la memoria biocultural

A partir de los diferentes conflictos que plantea la inviabilidad de la naturaleza prístina, la conservación de esta debe pensarse como una tarea de manejo de los ecosistemas antes que de su aislamiento absoluto. En este sentido debe entenderse que los objetivos de conservación involucran necesariamente a las culturas que la han hecho posible o que han recreado la diversidad biológica (Rodríguez, 2005). Y si bien las comunidades paramunas en diversos casos aplican prácticas agrícolas que introducen elementos de la revolución verde (RV), en ocasiones estos se hacen en combinación con saberes propios como son la conservación del agua, los árboles, los animales, la montaña, la espiritualidad y vida armónica en el páramo. La implementación o tránsito hacia prácticas agropecuarias que se encuentren en el marco de modelos agroecológicos son una alternativa ante este conflicto, puesto que proporcionan conocimientos y metodologías para diseñar, estudiar y manejar agroecosistemas que sean ambientalmente sanos/seguros, económicamente viables, socialmente equitativos/justos y culturalmente sensibles/diversos (Altieri y Nicholls, 2000).

Diversos sectores académicos y gubernamentales han sido críticos de los campesinos del páramo que cultivan papa y practican ganadería. Sin embargo, se presentan pocas propuestas, investigaciones o políticas ecológicas alternativas acerca del cultivo de la papa. En diversos casos el principal orientador de la práctica ambiental de los campesinos en la alta montaña ha sido el representante o comercializador de los insumos químicos.

En Colombia, por otra parte, los centros educativos en general le apuntan a consolidar los modelos RV. Son pocos los programas de pregrado y posgrado en agroecología y las carreras relacionadas con la agricultura poco incorporan asignaturas relacionadas con la ecología de los agroecosistemas. Tal es el caso del número de trabajos de grado relacionados con agroecología en la carrera de Ingeniería Agronómica de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Sede Medellín, donde para el periodo de 1928-1952 solo se presentó un 0.6% de trabajos de grado relacionados con esta área, 0.6% para 1953-1976 y 0.9% 1977-1989 (Arango, 2005). Para la carrera de Ingeniería Agronómica de la Universidad del Tolima solo el 3.2% de los trabajos de grado terminados entre 1997-2001 se encontraban relacionados con el Desarrollo Regional Sustentable (Universidad del Tolima, 2009). Para la Universidad de Caldas tan solo el 7.5% de las materias (representados por asignaturas de fundamentos de ecología y manejo y conservación del suelo) se encuentran incorporadas al plan de estudio (Universidad de Caldas, 2012).

Similar situación se presenta en la Universidad de Cundinamarca y la Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia con 2.4 y 3.5% de créditos obligatorios, representados en materias como agroecología y manejo y conservación del suelo (Universidad de Cundinamarca, 2007; UPTC, 2011) y en la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, con 3.5% de créditos obligatorios en créditos totales (Resolución No 035, 2010).

No obstante, las comunidades paramunas conservan aún conocimientos propios sobre el manejo del territorio, las plantas medicinales y la espiritualidad en el páramo, los cuales podrían ser punto de apoyo para el rescate de la memoria biocultural y el de los saberes ancestrales en el páramo. La recuperación de la memoria de las culturas que durante siglos han estado en permanente interacción con la naturaleza son un elemento importante, más aún si se tiene en cuenta la muy alta correspondencia que existe entre las áreas de mayor diversidad del planeta y los territorios culturalmente diversos, lo cual ha dado lugar al “axioma biocultural”. Este axioma, llamado el “concepto de conservación simbiótica” plantea que la diversidad biológica y la cultural son recíprocamente dependientes y geográficamente coterráneas (Nietschmann, 1992).

Al respecto Toledo y Barrera-Bassols (2008) han planteado que la memoria de la especie que resulta del encuentro entre lo biológico y lo cultural, se encuentra seriamente amenazada por los fenómenos de la modernidad, principalmente por los procesos técnicos y económicos, pero también informáticos, sociales y políticos (Toledo y Barrera-Bassols, 2008), razón por la cual retomar los conocimientos tradicionales de las comunidades del páramo cobra mayor relevancia.

1.5.3 Cambios en estructura agraria

En repetidas ocasiones se encuentra que las comunidades que habitan en áreas de reserva son comunidades pobres, que en medio de los procesos históricos, económicos y políticos de distribución de la tierra en el país han sido aislados en estas zonas. Muchas de las áreas protegidas han sido y siguen siendo albergue para poblaciones desplazadas de otras partes del país, generando procesos de ocupación y uso del territorio, no siempre acordes con las condiciones para el desarrollo de actividades productivas (UAESPNN, 2001).

En este sentido la ocupación de las áreas de reserva debe analizarse en el contexto de la estructura agraria colombiana, entendiendo esta como una constelación de interrelaciones sociales, culturales y políticas, cuyo núcleo central está constituido por la propiedad sobre la tierra y sobre los recursos para utilizarla de acuerdo con patrones históricos de economía y organización social (García, 1973).

Al respecto el Informe Brundtland plantea que muchos problemas tienen su origen en la desigualdad del acceso a los recursos; la estructura inequitativa de la posesión de tierras puede conducir a la explotación excesiva en las propiedades más pequeñas y causar, como consecuencia, perjuicios al medio ambiente y al desarrollo; en el plano internacional, el control monopólico de los recursos puede obligar a quienes no los comparten a explotar excesivamente los recursos marginales (Sevilla y Alonso, 1998). En este informe se expone que, "...en algunos países en desarrollo los pequeños agricultores se enfrentan con frecuencia a tecnologías inadecuadas y a escasos incentivos económicos y muchos de éstos se ven obligados a trabajar tierras marginales...". Así, "...se destruyen bosques y las tierras buenas acaban volviéndose estériles..." (Sevilla y Alonso, 1998)

La agricultura (incluyendo aquella que se desarrolla al interior de zonas de reserva) es un conjunto de sistemas que están en constante conflicto, en donde la tenencia de la tierra es fuente de riqueza y la producción agrícola está inmersa en sistemas sociales, históricos, políticos y económicos que a través de la propiedad de la tierra, intervienen en la generación de riqueza y bienestar para la población. Al respecto se ha planteado que el modelo concentrador de la propiedad de la tierra en Colombia es uno de los más altos del mundo, con un coeficiente

de Gini de 0.85, (Gruszczynski y Rojas, 2003). Para el 2003 el 86.3% de los propietarios poseían apenas el 8.8% de la superficie de tierra en Colombia, mientras que el 0.4% de los primeros poseían el 62.6% de la última (Salgado, 2008). Esta concentración de la propiedad de la tierra y demás recursos físicos que permiten su uso han promovido la apropiación desordenada del territorio mediante procesos de colonización por parte de campesinos expulsados de sus zonas de origen por el avance del latifundio (Hurtado, 2000). Las migraciones de campesinos hacia la frontera agrícola en busca de mejores condiciones de vida para establecer sus actividades tradicionales en otras regiones, expresa una resistencia por parte de las comunidades a abandonar su vocación económica y condición de campesinos (Hurtado, 2000).

Estas características estructurales generan dinámicas donde a partir de la concentración de la propiedad, la población rural tiene limitadas disponibilidades tecnológicas y, por tanto, ejerce sobre los suelos y demás recursos naturales una gran presión, la cual causa su deterioro, fragmentación y pérdida gradual de su potencial productivo (Tellez, 2009). La coexistencia de latifundio y minifundio, en Colombia, impide en las zonas rurales el desarrollo económico y social, al influenciar negativamente variables como ingreso, empleo, educación y salud en detrimento del nivel de vida; además, generan problemas en el uso del suelo por la no correspondencia entre el uso efectivo y el potencial (Barraclough, 1970). Por tanto campesinos pobres de diferentes zonas del país, se han visto inmersos en una estructura agraria inequitativa que los presiona a ubicarse en zonas donde el uso agrícola no es el deseable o potencial. Así mismo la creciente pobreza del sector rural, se expresa en la depredación de los recursos naturales por sobreexplotación de asentamientos humanos debido a prácticas agropecuarias no acordes con la vocación de uso de los suelos (Hurtado, 2000).

El análisis del uso adecuado o no del suelo por parte de los pobladores de las zonas de reserva, pasa por el análisis histórico y económico de la tenencia de la tierra en Colombia. Las visiones acerca del conflicto por el uso de la tierra en estas zonas deben entender el contexto en que se desarrollan las actividades agrícolas de esta población, en el cual se plantea la necesidad de una reforma agraria que contribuya a una redistribución equitativa de la tierra. La reforma agraria debe permitirles a los campesinos pobres el acceso a tierras productivas aptas para el cultivo, en las cuales no se presenten las restricciones propias de las áreas de reserva, de tal manera que los campesinos puedan tener una adecuada correspondencia entre el uso potencial y uso efectivo de los suelos. De esta forma se contribuye a que las áreas protegidas no se conviertan en un espacio propicio para la ocupación espontánea del territorio, dado que de continuar la situación de inequidad en el acceso a la tierra, los “espacios baldíos” de los parques nacionales seguirán siendo una alternativa para construir una nueva vida por parte de los campesinos sin tierra.

Por supuesto que esto está o debería estar íntimamente relacionado con los procesos generales de ordenamiento del territorio, no obstante, en la práctica este proceso en Colombia ha sido monopolizado por intereses particulares que presionan las decisiones políticas a favor de determinados grupos económicos, en los cuales por lo general se excluyen a las comunidades campesinas, afroamericanas o indígenas.

1.6 Bibliografía

Altieri, M.A, y Nicholls, C.I. (2000). **Agroecología: Teoría y práctica para un agricultura sustentable**. México: PNUMA.

- Ángel, M.A., y Ángel, F. (2002). La ética de la tierra. Ética y medio ambiente. En E Leff (Ed.), **Ética, vida, sustentabilidad**. México D.F: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe.
- Arango, M. (2005). La Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín como indicador del fraccionamiento especializado del saber agronómico. "**Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín**", 58(2), 2801-2811.
- Barlow, M, y Clarke, T. (2004). **Las multinacionales y el robo organizado de agua en el mundo**. Barcelona: Paidós Iberica S.A.
- Barraclough, S. (1970). Agricultural Policy and Land Reform. "**Journal of political economic**", 78 (4-Parte II), 906-947.
- Baskin, Y. . (1994). Wildlife Conservation-There's a New Wildlife Policy in Kenya- Use It or Lose It. "**Science**", 265, 733-734
- FAO. (2000). **Desarrollo sostenible en zonas montañosas**. 26a Conferencia regional de la FAO para América Latina y el Caribe. Mérida, México. 10 al 14 de abril de 2000.
- FEDEPAPA (2004). **Guía ambiental para el cultivo de papa**. Bogotá: FEDEPAPA & MAVDT.
- Fisher, R.J., Stewart, M, Jackson, W.J, Barrow, E, y Jeanrenaud, S. (2005). **Pobreza y Conservación : Paisajes, Pueblos y Poder**. San José: Unión Mundial para la Naturaleza UICN.
- García, A. (1973). **Reforma agraria y dominación social en América Latina**. Buenos Aires: SIAP.
- Geoingeniería y MAM. (1999). **Identificación de prioridades para la gestión en ecosistemas de Páramos, Sabanas, Zonas Áridas y Humedales de agua dulce**. Bogotá: Ministerio de Medio Ambiente de Colombia.
- Gomez-Pompa, A, y Kraus, A. (1992). Taming the wilderness myth. "**Bioscience**", 42, 271-279.
- Guhl, E. (1982). **Los Páramos circundantes de la Sabana de Bogotá**. Bogotá: Jardín Botánico "José Celestino Mutis".
- Gutiérrez, A, y Sánchez, L. (2009). **Planeación para el desarrollo del territorio: perspectiva contemporánea**. Medellín: Editorial Universidad de Antioquía.
- Gruszczynski, D, y Rojas, M. (2003). Notas sobre una reforma agraria redistributiva y consideraciones sobre el sistema de seguimiento de política. "**Revista Planeación y Desarrollo**", 34(2), 337=365.
- Hirsch, E, y O'hanlon, M. (1995). The antropology of landscape: perspectives on place and space. "**Clarendon Press, Oxford**", 31-42.
- Hofstede, R. (2008). La gestión institucional del manejo de los páramos andinos: elementos del enfoque ecosistémico a nivel del paisaje regional. En PDAAA (Ed.), **Panorama y perspectivas sobre la gestión ambiental de los ecosistemas de páramo. Memorias**. Bogota: Procuraduría General de la Nación.
- Hofstede, R., (2003). **Los Páramos en el mundo: su diversidad y sus habitantes**. En: Hofstede, R., Segarra, P., Mena, P. (Eds.), **Los Páramos del mundo**. Quito: Proyecto Atlas Mundial de los Páramos Global Peatland Initiative/NC--IUCN/EcoCiencia.
- Huanancuni, F. (2012). Vivir Bien / Buen Vivir. Filosofía, políticas, estrategias y experiencias regionales. En K Arkonada (Ed.), **Transiciones hacia el Vivir Bien o la construcción de un nuevo proyecto político en el Estado Plurinacional de Bolivia** (pp. 127-150). La Paz: Ministerio de Cultura. Estado Plurinacional de Bolivia.
- Hurtado, C. (2000). **Zonas de reserva campesina: ¿Solución al conflicto agrario colombiano?** (Tesis Economía), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Instituto Alexander von Humboldt. (1998). Colombia biodiversidad siglo XXI: propuesta técnica para la formulación de un Plan de Acción Nacional en Biodiversidad. Bogotá: Instituto Alexander von Humboldt.

- Leal, C. (2002). La naturaleza en los estudios sociales. En G Palacio y A Ulloa (Eds.), **Repensando la naturaleza** (pp. 123-138). Colombia: Universidad Nacional de Colombia-Sede Leticia Instituto Amazónico de Investigaciones Imani. Instituto Colombiano de Antropología e Historia.Colciencias.
- Luteyn, J.L. (1999). **Páramos: a Checklist of Plant Diversity, Geographic Distribution and Botanical Literature**. New York : The New York Botanical Garden Press.
- Madriñán, S., Cortés, A.J., Richardson, J.E. (2013). **Páramo is the world's fastest evolving and coolest biodiversity hotspot**. *Frontiers in genetics*, 4.
- Martinez-Alier, J. (2004). Corrientes del ecologismo. En J Martinez-Alier (Ed.), **El ecologismo de los pobres, conflictos ambientales y lenguajes de valoración**. Barcelona: Icaria.
- MAVDT, UAESPNN, MCIT, y DNP. (2004). **Conpes. Lineamientos para promover la participación privada en la prestación de servicios ecoturísticos en el sistema de Parques Nacionales Naturales - SPNN**. Republica de Colombia Departamento Nacional de Planeación.
- McNeely, J.A., y Scheer, S.J. (2003). **Ecoagriculture, Strategies to feed the world and save biodiversity**. Washington: Island Press
- Miranda, J. (2005). **Concesión de servicios ecoturísticos en los parques nacionales naturales**. Parques Nacionales Naturales de Colombia.
- MMAC. (2002). **Páramos: Programa para el Manejo Sostenible y Restauración de Ecosistemas de la Alta Montaña colombiana**. Bogotá: Ministerio del Medio Ambiente de Colombia.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A., Kent, J. (2000). **Biodiversity hotspots for conservation priorities**. *Nature*, 403, 853-858.
- Nietschmann, B.Q. (1992). **The interdependence of biological and cultural diversity**. Olympia: Center of World Indigenous Studies.
- Ochoa, M.T. (2005). **Metodología para evaluar la sostenibilidad económica y social del sistema finca-hogar productor de papa, en el Páramo de Guerrero** (Tesis de Maestría), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Perez, H, Zárate, C.A, y Turbay, S. M. (2011). Conflictos ambientales: la biodiversidad como estrategia ordenadora del territorio. "**Opinión Jurídica**", *Edición especial*, 89-104.
- Perfecto, I. (2003). Conservation biology and agroecology: de un pájaro las dos alas. "**Endangered Species Update**", 20 (4-5), 133-145.
- Pombo, D. (1989). **Perfil ambiental de Colombia**. U.S. Bogotá: Agency for International Development, Fondo Colombiano de Investigaciones Científicas y Proyectos Especiales "Francisco José de Caldas" Colciencias, y Fondo FEN
- Quintana, A.P. (2010). La gestión del acueducto en Dosquebradas Risaralda, una historia de autogestión y privatización. "**Revista Luna Azul**", 30(1), 164-173.
- Rangel, O. (2000). Tipos de vegetación. En O Rangel (Ed.), Colombia diversidad biótica III. **La región de vida paramuna**. Bogota: Instituto de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de Colombia.
- Resolución No 035 de 2010. (2010). **Consejo de Facultad de Agronomía**. Facultad de Agronomía. Sede Bogotá.Universidad Nacional de Colombia.
- Rey, C, Franco, L, y Castaño, C. (2002). Estado y Gestión de los Páramos en Colombia. En CMP (Ed.), **Memorias Tomo II. Congreso mundial de Páramos**. Paipa.
- Riascos, J.C. (2001). **Participación entre crisis social y protección de biodiversidad**. Bogotá.
- Rodriguez, L.S. (2005). **Aproximación a una interpretación desarrollista de la política de Parques con la Gente**. (Tesis de Maestría), Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.

- Roldán, C.D. (2012). Lineamientos para la planeación del turismo sostenible en el corregimiento de San Francisco de Asís (Municipio de Acandí, Chocó, Colombia). **"Revista Gestión y Ambiente"**, 15(1), 129-142.
- Salgado, C. (2008). **Propuestas frente a las restricciones estructurales y pláticas para la reparación efectiva de las tierras perdidas por la población desplazada** (pp. 5): Consultoría para los derechos Humanos y el Desplazamiento Forzado Codhes.
- Sebastião, H. (2002). Sustentabilidad humana y ética del punto de vista de los pueblos indígenas. En E Leff (Ed.), **Ética, vida, sustentabilidad**. México D.F: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Red de Formación Ambiental para América Latina y el Caribe.
- Sevilla, E, y Alonso, A. (1998). El discurso etnotecnocrático de la sostenibilidad. **"Revista del ITESO Renglones"**, 14(1), 2-26.
- Smith, J., A. Cleef. (1988). Composition and origins of the world's tropical alpine floras. **Journal of Biogeography** 15, 631-645.
- Tellez, G. (2009). Política pública de reforma agraria y desarrollo rural en el período de posapertura económica en Colombia (1991-2006). En G Tellez y A Cubillos (Eds.), **Políticas públicas y sector agropecuario. Relaciones, implicaciones económicas y ambientales**. Bogotá: Ediciones Hispanoamericanas Ltda.
- Toledo, V.M, y Barrera-Bassols, N. (2008). **La memoria biocultural. La importancia ecológica de las sabidurías tradicionales** (1 ed.). Barcelona, España: Icaria Editorial. Perspectivas Agroecológicas.
- Turbay, S. (2001). La relación hombre-medio ambiente en las teorías antropológicas. **"Utopía Siglo XXI"**, 2(7), 95-106.
- UAESPNN. (2001). **Política de participación social en la conservación**. Bogotá: Parques Nacionales de Colombia.
- UAESPNN, y CARDER. (2007). **Recuperar el Páramo. Restauración Ecológica en la Laguna del Otún Parque Nacional Natural Los Nevados**. En Patricia Velasco-Linares (Ed.). Pereira, Colombia.
- Ulloa, A. (2004). **La construcción del nativo ecológico**. Bogotá: Instituto Colombiano de Antropología e Historia - ICANH.
- Universidad de Caldas. (2012). **Sistema de Información académica Universidad de Caldas**: http://www.acad.ucaldas.edu.co/gestionacademica/planestudios/pensumver.asp?cod_carrera=050. Recuperado el 12 de Junio de 2012. 11:00 am.
- Universidad de Cundinamarca. (2007). **Pensum Ingeniería Agronómica**: <http://www.unicundi.edu.co/index.php/pregrado/fac-ciencias-agropecuarias/ingenieria-agronomica>. Recuperado el 12 de Junio de 2012. 11:35 am.
- Universidad del Tolima. (2009). **Informe de autoevaluación con fines de renovación de la acreditación en alta calidad del programa de Ingeniería Agronómica**. Ibagué: Universidad de Tolima.
- UPTC. (2011). **Plan de Estudios Ingeniería Agronómica Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia**. www.uptc.edu.co/facultades/f_agropecuarias/pregrado/agronomia/inf_general/. Recuperado el 12 de Junio de 2012. 12:25 pm.
- Valbuena, M.S. (2006). **Instrumentos de política para incentivar en los productores de papa la reconversión tecnológica como alternativa para generar procesos de manejo y uso sostenible de los ecosistemas de páramo: tres estudios de caso en el altiplano Cundiboyacense**. Magister en Medio Ambiente y Desarrollo Tesis de Maestría, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Vandermeer, J, Perfecto, I, Philpott, S, y Chappell, M.J. (2007). Reenfocando la conservación en el paisaje: la importancia de la matriz. En C.A Harvey y J.C Sáenz (Eds.), **Evaluación**

y conservación de biodiversidad en paisajes fragmentados de Mesoamérica. Santo Domingo de Heredía: Instituto Nacional de Biodiversidad INBio.

Varela, E. (2007). Las privatizaciones en Cartagena y en Barranquilla: un paradigma mercantilista en la gestión de los servicios públicos domiciliarios en Colombia. "**Pensamiento & Gestión**", 23(1), 209-255.

2. Capítulo 2. Agricultura y vida en el páramo: una mirada desde la vereda El Bosque (Parque Nacional Natural de Los Nevados)²

2.1 Resumen

Se analizaron las prácticas agrícolas y condiciones de vida de la comunidad de la vereda El Bosque en el Parque Nacional los Nevados, Colombia. Se aplicaron varias herramientas como la observación participante, entrevistas semiestructuradas, líneas de tiempo, mapas por vereda, por finca, calendarios agrícolas, relojes de actividades por género y cuestionarios estructurados. Se determinó que el cultivo de papa y la ganadería se desarrollan como estrategia de supervivencia y herencia cultural paramuna, prácticas aprendidas desde la *revolución verde* y los saberes propios. Estas prácticas agrícolas han generado contradicciones entre la conservación del ecosistema y el mejoramiento de la calidad de vida de sus habitantes. La presente investigación propone implementar planes de manejo comunitarios, modelos agroecológicos, rescate de memoria biocultural y transformaciones en la estructura agraria.

Palabras clave autores: páramos, agroecología, áreas protegidas, conflicto socioambiental, conservación participativa, diversidad microbiana del suelo

Palabras clave descriptores: cultivo de papa, ganadería, páramo, conservación áreas protegidas, planes de manejo comunitarios

² El presente artículo se encuentra publicado bajo la siguiente citación:

Avellaneda-Torres, L.M.; Torres, E; León-Sicard, T.E. 2014. Agricultura y vida en el páramo: una mirada desde la vereda El Bosque (Parque Nacional Natural de Los Nevados). *Revista Cuadernos de Desarrollo Rural*. 11(73), 105-128. doi:10.11144/Javeriana.CDR11-73.avpm

2.2 Introducción

En las partes altas de la cordillera de los Andes, por encima del límite de los bosques altoandinos, se encuentra una de las formaciones vegetales de mayor riqueza biológica de Colombia: los páramos andinos (Ministerio de Medio Ambiente de Colombia, 2002). Sin embargo, el concepto “páramo” es de difícil definición. Puede hacer referencia a un ecosistema, un bioma, un paisaje, un área geográfica, una zona de vida, un espacio de producción, un símbolo o inclusive un estado del clima. Además, el valor y el significado del páramo pueden ser muy distintos para diferentes actores (Hofstede, 2003).

Los páramos no se encuentran deshabitados. Se sabe que en el período prehispánico fueron ocupados temporalmente por poblaciones aborígenes, que los utilizaron siguiendo ciclos rituales, alimentarios y reproductivos propios de la fauna asociada a estos ambientes (MMA, 2002). Posteriormente, partir de la Conquista y Colonización española, los páramos se transformaron en términos de sus relaciones de propiedad y de producción. Varios grupos de campesinos e indígenas se ubicaron en resguardos por encima de los 3000 msnm (MMA, 2002) y generaron diversos conflictos entre la conservación y el uso de estos ecosistemas.

En esta situación se encuentra el Parque Nacional Natural Los Nevados (PNNN), localizado geográficamente en la cordillera central de Colombia, vertientes oriental y occidental, con alturas entre los 2600 y 5321 msnm. Comprende un área aproximada de 58 300 ha, en jurisdicción de los departamentos de Caldas (municipio de Villamaría), Risaralda (municipios de Santa Rosa de Cabal y Pereira), Quindío (municipio de Salento) y Tolima (municipios de Ibagué, Anzoátegui, Santa Isabel, Murillo, Villahermosa, Casabianca y Herveo), entre las coordenadas geográficas: 75°33'24.354"W - 4°58'31.174"N y 75°10'56.604"W - 4°35'36.602"N (Nevados, 2007).

En este Parque Nacional se producen y regulan múltiples bienes y servicios ambientales para la Ecorregión del Eje Cafetero. En términos de suministro de agua, abastece las necesidades de más de dos millones de personas de la zona cafetera y de importantes zonas arroceras y algodoneras del departamento del Tolima. Su protección y conservación se convierte en elemento clave para el desarrollo socioambiental y eje articulador de las iniciativas de conservación regional (Nevados, 2007).

El páramo es el ecosistema más representativo dentro del PNNN, con un área aproximada de 38 600 hectáreas (66.21 %), compuesto por pajonal, turbera, arbustal denso y lagunas (Nevados, 2007). Sin embargo, parte de este páramo enfrenta un fuerte conflicto de uso del suelo, puesto que en su interior se encuentra un asentamiento humano (vereda El Bosque-municipio de Pereira) donde se desarrollan actividades de cultivo de papa y ganadería, usos que constituyen una problemática socioambiental relevante, dado que no son aceptables dentro de la normatividad que rige para los parques nacionales en general y, en particular, para los objetivos de conservación del PNNN.

El propósito de este trabajo fue comprender las principales características socioeconómicas de los habitantes de la vereda El Bosque, sus prácticas agropecuarias y sus percepciones sobre los conflictos de uso del suelo en esta zona protegida del PNNN, como parte de un estudio de mayor alcance sobre las relaciones entre sistemas de agricultura, biodiversidad y páramos, desde la óptica de la agroecología, ciencia que involucra el estudio de las relaciones culturales y ecosistémicas que inciden en las características, dinámica y evolución de los agroecosistemas (León, 2009).

2.3 Metodología

El presente estudio, de tipo cualitativo, incluyó la aplicación de herramientas etnográficas para la descripción y análisis de las principales variables socioeconómicas que caracterizan a los pobladores de la vereda El Bosque (PNNN), de sus prácticas agropecuarias ligadas al sistema de rotación papa-pastos, de sus percepciones sobre el uso de la biodiversidad en un entorno protegido legalmente como reserva natural y sobre los conflictos socioambientales derivados de tales usos.

Las características socioeconómicas de la población de la vereda se determinaron mediante la aplicación de 18 cuestionarios estructurados a cada una de las familias. En los citados cuestionarios se indagó sobre el número de integrantes por familia, su parentesco, sexo, edad, nivel de escolaridad, acceso al sistema de salud y servicios públicos, hábitos alimentarios, vivienda, nivel, tipo y origen de ingresos y egresos, tenencia de la tierra y medios para explotarla. Asimismo se aplicaron herramientas del diagnóstico rural participativo (DRP) como: a) observación participante; b) 32 entrevistas abiertas y semiestructuradas a campesinos de la vereda, funcionarios y personas que tuviesen conocimiento sobre la situación de la zona; c) construcción de tres líneas de tiempo; y d) tres relojes de distribución de tareas por género.

Las preguntas que guiaron la aplicación de estas herramientas incluyeron aspectos relativos a la historia de las familias en la vereda, su situación socioeconómica y sus percepciones y conocimientos sobre la propiedad de la tierra. En la elaboración de las líneas del tiempo se buscó recoger información sobre cuáles fueron los principales cambios en el pasado de la comunidad que influyen en prácticas y vivencias del presente, así como elaborar una lista de los eventos clave de acuerdo con la memoria de los habitantes de la vereda.

Para la caracterización de las prácticas agropecuarias utilizadas de forma cotidiana por los agricultores, se aplicó el mismo número de cuestionarios estructurados y herramientas del DRP como: a) observación participante; b) entrevistas abiertas y semiestructuradas; y c) tres calendarios agrícolas asociados con el cultivo de la papa y la ganadería. En la aplicación de estas herramientas se indagó sobre tipos de rotación, especies y variedades de cultivo, características en las etapas de siembra, preparación, desarrollo y cosecha de los cultivos. Se obtuvo información acerca de los insumos químicos empleados, dosis, frecuencia, mecanismos y objetivos de aplicación. En el ámbito pecuario se indagó sobre los tipos de especies, variedades y número de animales presentes en las fincas, su uso, alimentación, enfermedades comunes y principales problemáticas asociadas con las prácticas agropecuarias. De igual modo, se compiló información relacionada con las actividades económicas, ingresos y egresos relacionados con las prácticas agropecuarias.

La caracterización acerca de las percepciones sobre la biodiversidad y los conflictos socioambientales con el área protegida se determinaron mediante el mismo número de cuestionarios estructurados y herramientas del DRP como: a) observación participante; b) entrevistas abiertas y semiestructuradas; y c) tres mapas por vereda y tres por finca sobre los recursos naturales existentes y el uso de la tierra. En la aplicación de estas herramientas se compiló información acerca de fuentes de agua y su conservación (nacimientos, quebradas, humedales), características de los suelos, presencia, uso y percepción sobre diferentes especies de plantas, animales y microorganismos presentes en la zona. Además, se exploró acerca de la percepción sobre el cambio de clima en la zona, identificación de problemáticas ambientales, antecedentes y posibles alternativas ante tales problemáticas, conocimientos y disposición frente a la aplicación de prácticas agroecológicas. Se incluyeron funcionarios de la

autoridad ambiental. En todos los casos la información fue contrastada y complementada mediante la búsqueda de información bibliográfica.

2.4 Resultados y discusión

2.4.1 Características socioeconómicas

La vereda El Bosque se encuentra ubicada en el centro del PNNN, sobre la cordillera occidental de los Andes, en el municipio de Pereira (Risaralda), a aproximadamente 300 Km de Bogotá, Colombia. El acceso a la vereda es difícil, puesto que se requieren entre cinco y siete horas de camino a pie o en mula desde el corregimiento El Cedral (Risaralda), desde la ciudad de Pereira, o caminando o en mula de cuatro a seis horas por senderos de herradura desde el sitio Potosí, desde la ciudad de Villamaría, Caldas. Como límite superior de la vereda se encuentra la finca La Esperanza a aproximadamente 3830 msnm, con coordenadas 075°25'47.2"W - 04°45'00.8"N. En el límite inferior se encuentra la finca El Jordán a casi 3210 msnm, con coordenadas 04°43'58.7"N- 075°27'11.7"W.

La vereda El Bosque se encuentra rodeada por los nevados del Ruiz, Santa Isabel y Tolima. Está ubicada en una de las rutas de acceso al complejo de humedales del Otún, designado como de importancia internacional por la Convención Ramsar desde el 25 de junio de 2008. Este sitio Ramsar incluye los subcomplejos de la laguna del Otún, El Mosquito, El Silencio, La Leona, La Alsacia y El Bosque. Estas características, junto con adicionales atractivos paisajísticos, hacen de la zona un lugar de gran interés ambiental, hidrológico y turístico.

En la vereda existen 13 fincas que ocupan alrededor de 1137 ha (PNNN, 2010). No obstante, no existe precisión acerca del área específica que tiene cada predio, pues el traspaso de las propiedades se ha hecho de generación en generación o mediante acuerdos familiares con base en límites biogeográficos como la pendiente, cursos de agua y formaciones boscosas (Chiquito y Zuluaga, 2007). De acuerdo con los campesinos entrevistados estas tienen entre 8 y 100 ha aproximadamente, aunque se encuentran diferentes reportes al respecto. Por ejemplo, Alzate (2006) señala que el tamaño de los predios se encuentra entre 5 y 160 ha, la empresa Aguas y Aguas de Pereira plantea entre 1 y 122 ha (AAP, 2001) y la división de Parques Nacionales indica que este se ubica entre 9 y 349 ha (PNNN, 2010).

Se encontró que 77% de las fincas es propiedad privada (54% propiedad individual y 23% propiedad familiar), 15% se encuentra bajo la figura de arrendamiento y 8% se encuentra en conflicto de propiedad. Estos resultados son comparables con los reportados para el Departamento de Risaralda, según los cuales 73.96% de los predios de uso agropecuario son privados; en 2009, el porcentaje de propietarios de microfundio y minifundio fue de 56.53% y 27.72% respectivamente (IGAC, 2012). En los últimos 50 años, la tendencia de población en la vereda es decreciente. En 1960 se calculaba un total de 206 habitantes y en marzo de 2009 solo quedaban 36 (PNNN, 2010). En el presente estudio se encontró que en los últimos cinco años, la población no ha superado las 80 personas. Aproximadamente 48% de los habitantes tiene entre 25 y 55 años, 24% entre 0-15 años, 14% son mayores de 55 años y un porcentaje igual al anterior se encuentra entre los 15 y 24 años. El 57% de la población de la vereda es de género masculino y 43% de género femenino.

A nivel educativo existe 37% de analfabetismo, valor alto comparado con los reportes nacionales para el año 2010, cuando se registró 7.5% de analfabetismo en todo el país (Machado, 2011) y 14.5% en las zonas rurales para 2009 (DANE, 2005; Perry, 2010). El 70% de las personas adultas de la vereda El Bosque tan solo ha realizado algún curso de primaria, 21% la ha terminado, 9% ha completado el bachillerato y ninguna persona ha tenido acceso a la educación superior. El nivel educativo encontrado en la vereda El Bosque está en concordancia con la baja tasa de cobertura en educación media para 2009 en los municipios de alta ruralidad, con 27.52%, en contraste con los centros urbanos e intermedios que alcanzan de manera respectiva 74.39% y 58.10% (Machado, 2011). De igual manera se ha planteado que el nivel educativo promedio de la población rural mayor de 15 años es de 5,02 años, mientras que el nivel educativo de la población urbana es de 8,85 años; entre la población en edad de trabajar en el sector rural solo 20.6% tiene primaria completa y únicamente 9% cuenta con secundaria completa, mientras que en el sector urbano las personas con secundaria (completa e incompleta) y educación superior, representan más de 70% de la población en edad de trabajar (DANE, 2005; DNP, 2010; Perry, 2010). Asimismo se ha planteado que del 1 066 157 de niños, niñas y jóvenes entre 5 y 16 años que está por fuera del sistema escolar de básica y media, 70% se encuentra en la zona rural (DNP, 2010; Perry, 2010).

Los niños escolarizados de El Bosque asisten a la escuela básica primaria de la vereda. Al respecto, los campesinos expresaron en diferentes momentos de la investigación que consideran de baja calidad la educación de sus hijos, dada la poca intensidad horaria y recursos, por lo cual han intentado buscar otras alternativas de estudio en las ciudades de Pereira o Manizales. Similar situación se reporta en muchas zonas rurales del país donde el sistema educativo en general es deficiente debido a la escasez y baja calificación de profesores, deficientes dotaciones de infraestructura y bajo apoyo en materiales didácticos (CAR, 2003; Valbuena, 2006).

Esta situación ha generado rupturas del núcleo familiar, pues algunas mujeres se trasladan con los hijos a la ciudad para que ellos puedan desarrollar su proceso educativo, mientras los hombres se quedan en la vereda trabajando solos la gran mayoría del tiempo, con el objetivo de obtener el sustento económico para mantener a sus familias mientras se mantienen lejos de casa.

La vereda no posee ningún establecimiento médico ni promotor de salud, y aunque la mayoría de la población está afiliada a algún sistema de seguridad social, se hace muy difícil el acceso a estos servicios debido a las grandes distancias que los separan de los centros de salud. En caso de una emergencia médica, la institución de salud más cercana se encuentra en el municipio de La Florida, situado aproximadamente a seis horas de camino a pie o en mula.

En este sentido, es relevante contrastar esta situación con las disposiciones legales que plantean la protección integral de la familia, la prestación de los servicios de salud en todos los niveles y la asistencia pública de salud como función del Estado (Constitución Política de Colombia, artículos 2 y 42, Ley 10 de 1990 y Ley 715 de 2001) y la modernización en la organización y funcionamiento de los municipios (Ley 136 de 1994). Se encontró que la comunidad de la vereda El Bosque no hace uso de políticas de participación ciudadana en salud, las cuales están consagradas en Constitución Política de Colombia (artículos 23, 86, 103, 270), Ley 100 de 1993, Artículo 153, numeral 7, Artículo 157 parágrafo tercero, Ley 134 de 1994 y Ley 850 de 2003.

El material de las viviendas es de madera y techos de zinc, no se tiene acceso a la energía eléctrica y no se cuenta con servicio telefónico fijo, por lo cual se ha optado por el uso

de telefonía móvil en algunas horas del día. Como servicio sanitario todas las viviendas poseen pozos sépticos. Al respecto, se ha planteado que la cobertura de todos los servicios públicos es menor en las zonas rurales, donde los hogares con agua potable reúnen en total 88% en el país, y solo 59.8% en las áreas rurales; con desagüe 71.9% y 17.9%; con electricidad 96% y 85.4%; y con teléfono fijo 46.4% y 5.8%, respectivamente (Perfetti, 2009; Perry, 2010).

El combustible que se utiliza en la zona es la leña, seguido por el servicio de gas en pipeta que se acopia en el municipio de La Florida y se transporta en mula hasta la vereda. La mayoría del combustible es usado para la cocción de los alimentos y la elaboración de quesos. La utilización de leña por parte de las comunidades campesinas de los Andes de Colombia siempre ha sido vista como una práctica cultural que afecta de forma negativa los bosques silvestres cordilleranos. Sin embargo, Valderrama y Linares (2008) identificaron que prácticas culturales desarrolladas por los campesinos en torno al uso de la leña reflejan estrechas relaciones con el medio circundante, entre estos: conocimiento de la dinámica de regeneración de la vegetación, utilización de diversos sistemas agrícolas como fuente de leña, utilización amplia de taxonomías populares para distinguir cada especie y valoración de la calidad de la leña. De igual forma plantean que, si bien el aumento de la demanda de leña puede ocasionar problemas de deforestación, por otro lado si el recurso forestal fuese aprovechado de manera sostenible (por ejemplo, a partir de entresacas programadas) podría ser una fuente de energía continua (Valderrama y Linares, 2008).

En lo que concierne a procesos organizativos, la vereda cuenta con la Junta de Acción Comunal en que participan los adultos de la mayoría de las familias. Sin embargo, esta colectividad no desarrolla actividades de manera constante o efectiva que permitan articular las necesidades de la comunidad de la vereda, ni actúa como interlocutora en los diferentes conflictos de conservación que se presentan con las autoridades ambientales de la zona. Ello sucede en virtud de varios factores, como la carencia de líderes, baja comunicación con la autoridad ambiental, baja credibilidad de la misma Junta ante el resto de los habitantes, escasa educación política y el relativo aislamiento de la comunidad. Al respecto se ha planteado que el campesinado se ha caracterizado por debilidades sociopolíticas, que incluyen diferenciación de intereses dentro de las mismas comunidades, lo que ha propiciado dificultades en la cristalización de sus objetivos y desarrollo de liderazgo; esta situación ha incluido también procesos de pasividad campesina, caracterizados por apatía ante los procesos de transformación (Shanin, 1971).

Al realizar el análisis de distribución de actividades por género, se identificó que los hombres desarrollan actividades relacionadas con la contratación de trabajadores, planificación y desarrollo del cultivo de papa y uso de los potreros para el ganado. En el caso de las mujeres, sus principales tareas son de tipo doméstico (preparación de alimentos, mantenimiento y limpieza de la vivienda, cuidado de los hijos), elaboración del queso, preparación de medicinas y cuidado de los animales domésticos.

Las principales fuentes de ingreso de las familias provienen de la elaboración del queso y el cultivo de papa, los cuales son comercializados en los municipios de La Florida (Risaralda), Villa María y Manizales (Caldas), aunque enfrentan problemas con el transporte y los precios bajos. En Colombia la comercialización del cultivo de papa se caracteriza por la participación de un elevado número de intermediarios: el acopiador rural, el transportador, el centro mayorista de origen, la plaza local o regional y finalmente, el sector minorista que coloca por medio de diversos mecanismos el producto en las manos del consumidor final (Espinal, Martínez, Pinzón y Barrios., 2005).

El 59% de los recursos invertidos en esta zona en el cultivo de papa se dirigen a la compra de agroinsumos, entre los que se incluyen los fertilizantes de síntesis química y los plaguicidas. El 36% se invierte en pago de jornales para el cultivo, siembra y recolección y 5% en transporte y empaque. A escala nacional los fertilizantes y correctivos representaron 21.3% de los costos totales de producción para el periodo 1990-2003, mientras que la participación en los costos totales de los insecticidas fue 7.9%, y de fungicidas, herbicidas y adherentes 7.6% (Quintero y Acevedo, 2004).

Las pérdidas y ganancias generadas por el cultivo de la papa no son uniformes entre los diferentes agricultores de la vereda. Mientras que algunos pueden obtener ganancias equivalentes a USD\$1200 anuales otros pueden perder hasta el equivalente a USD\$250 por año. El mayor ingreso mensual que reciben los agricultores de la vereda se mantiene bajo, y puede compararse con los reportados para la comunidad de Pasquilla en la zona rural de la localidad de Ciudad Bolívar, Bogotá, donde los campesinos manifiestan obtener ganancias máximas de USD\$100 mensuales. Esta situación los obliga a acudir a otras opciones para obtener ingresos y dar sustento a sus familias (diversificación de la economía doméstica), como venta minoritaria de huevos, pollos, cebolla y, en muchas ocasiones, la ocupación temporal y esporádica de las mujeres en oficios domésticos (Gómez, 2008).

La actividad económica que más ganancia aporta a la familia es la producción de queso, a partir del ordeño de 5-6 L de leche/día/vaca. El queso es comercializado a USD\$1.25-USD\$1.50 por libra en La Florida (Risaralda) y en Villa María y Manizales (Caldas). Tanto la leche como la papa hacen parte del alimento diario de las familias, que consumen muy bajas raciones de carne o proteína animal, por lo cual presentan posibles problemas de nutrición. Solo 15% de las familias de la vereda recibe ingresos como resultado de las actividades turísticas de la zona, y por esto reportan ingresos promedio/mes entre USD\$100 y USD\$0 para las épocas de mayor y menor afluencia de turistas respectivamente.

Al realizar el análisis global de los ingresos y egresos provenientes del cultivo de papa, la actividad ganadera y otros ingresos adicionales en la vereda, se encontró que, en el mejor de los casos, los ingresos son menores al equivalente a USD\$6 diarios por familia. No obstante, aquellas familias (correspondientes a 7.8% de la vereda) que no desarrollan actividades de cultivo de papa ni producción de leche, se encuentran en un estado similar a la indigencia campesina, dada la ausencia de ingresos a lo largo del tiempo. En relación con lo anterior se ha indicado que la indigencia campesina es aquella que presenta ingresos menores a USD\$1 por día (Buzaglo y Calzadilla, 2010). Al respecto se ha planteado que en las áreas rurales colombianas viven 11 838 032 de personas, esto es, 26% de la población nacional, de los cuales 62.1%, es decir, 7 351 418 de personas vive en la pobreza; 21.5% corresponde a población rural, un total de 2 545 177 personas en situación de pobreza extrema o indigencia. En este sentido se ha discutido que cerca de las dos terceras partes de los habitantes rurales son pobres y más de la tercera parte de los pobres rurales se halla en la indigencia (Perry, 2010). Al respecto, (Perry, 2011) ha planteado:

“La pobreza rural no disminuirá de manera sustancial mientras se mantenga el actual modelo de desarrollo, en el que se ha venido concentrando cada vez más la tierra y los activos productivos y los apoyos y subsidios gubernamentales han beneficiado en especial a los productores grandes y medianos, y en el que la tierra se acumula con fines especulativos, de consecución de recursos públicos, de lavado de actividades ilícitas o de prestigio social. Se requiere de una estrategia de desarrollo en la que tenga cabida preferencial la pequeña producción, en la que se privilegie

la dotación de activos productivos y el desarrollo de capacidades de los pequeños productores, en la que se les apoye para que se vuelvan pequeños empresarios rurales con activos y tecnología de calidad y en la que se deje de lado el asistencialismo”

Debe resaltarse que en el contexto económico y social de Colombia el cultivo de papa sobresale por su contribución al empleo, pues se calcula que genera más de 20 millones de jornales y de este depende el sustento de más de 100 000 familias campesinas. Alrededor de esta actividad se ha consolidado una amplia cadena productiva representada por los productores, las industrias de insumos, empaques y procesamiento, transporte y comercio (DANE, 2001). Adicionalmente, se ha reportado que alrededor de 15% de la producción nacional de papa se adelanta en zonas de páramo (Valbuena, 2006), lo cual es un indicador de la importancia del estudio de las condiciones biofísicas y culturales que se relacionan con estos lugares.

Los agricultores de la vereda El Bosque pueden ser denominados agricultores campesinos, en contraste con la categoría de agricultor comercial. Las diferencias principales entre el primero y el segundo se deben a la magnitud de los recursos a su disposición, pero sobre todo al criterio de decisión para mantenerse en la actividad agropecuaria. El agricultor comercial se mantiene en esta actividad en cuanto le reporte ganancias similares o superiores a las que obtendría en otras actividades. Al igual que el agricultor comercial, el agricultor campesino tiene también como objetivo la ganancia, pero solo la abandona cuando esta no suministra el nivel mínimo de subsistencia para su familia.

El criterio comercial para producir es la ganancia, mientras que el objetivo del campesino es mantener ingresos para la familia aunque durante periodos no le produzca ganancia (Pérez ,Zárate y Turbay, 2011; M. Valderrama y Mondragón, 1998). De igual forma ellos se encuentran en la categoría de pequeños productores, los cuales se caracterizan por sembrar hasta 3 ha de papa, utilizar tecnologías simples y en terrenos que, por lo general, no son aptos para la mecanización, en alturas entre 2700 y 3500 msnm. Estos productores constituyen cerca de 90% de los cultivadores y producen alrededor de 45% del total de la producción de papa en el país (Espinal et ál., 2005). Esta categoría aplica para la totalidad de los agricultores de la vereda El Bosque.

En relación con las mencionadas categorías de agricultores, se han desarrollado diferentes aproximaciones conceptuales que plantean, por ejemplo, la existencia de tres tipos diferentes de agricultores: el campesino, el empresarial y el capitalista. El primero caracterizado porque depende del uso sostenido de capital ecológico y busca defender y mejorar el sustento campesino. Tiene como característica principal la multifuncionalidad, en tanto que la mano de obra la proporciona la familia, y la tierra y otros medios de producción importantes son propiedad de la familia. La producción se destina tanto para el mercado como para la reproducción de la unidad de la granja y la familia. El segundo se desarrolla principalmente con base en el capital financiero e industrial, su producción está altamente especializada y se destina por completo al mercado. El tercer tipo comprende una vasta red de empresas agrarias donde la mano de obra depende básicamente de obreros asalariados, y la producción se ajusta y organiza en función de la maximización de utilidades (Ploeg, 2010). En este sentido, los campesinos de la vereda El Bosque se ubican también en la categoría de agricultores campesinos. Adicionalmente, de acuerdo con Shanin (1971):

“El campesinado se compone de pequeños productores agrícolas que, con la ayuda de equipo sencillo y el trabajo de sus familias, producen sobre todo

para su propio consumo y para el cumplimiento de sus obligaciones con los detentadores de poder político y económico [Asimismo se ha planteado que esto] implica una relación específica con la tierra, con la granja familiar campesina y con la comunidad aldeana campesina como las unidades básicas de interacción social”

Por otro lado, el tipo de agricultura desarrollado en la vereda se puede denominar como “agricultura familiar de subsistencia”, caracterizada por encontrarse en condición de inseguridad alimentaria, con escasa disponibilidad de tierra, sin acceso al crédito e ingresos insuficientes. Lo usual es que este tipo de agricultura se ubique en ecosistemas frágiles de áreas tropicales y alta montaña, y forman parte de la extrema pobreza rural (Tello, 2011). Cerca de 66% de los agricultores de la Comunidad Andina de Naciones se encuentra en esta categoría, de los cuales 79.4% se localizan en Colombia, 67.2% en Bolivia, 61.1% en Ecuador y 45.5% en Perú. De acuerdo con la misma fuente, estos agricultores requieren políticas de apoyo que les permitan obtener su seguridad alimentaria e integrarse a mercados locales, con la finalidad de consolidarse económica y socialmente, sin descuidar el uso responsable de los recursos naturales (Tello, 2011).

2.4.2 Componente agropecuario y conocimiento de la biodiversidad

En la vereda El Bosque se cultiva papa en rotación con pastos, en ciclos bianuales y con períodos de barbecho. En general, el criterio para la selección de las nuevas zonas de siembra es utilizar el suelo que tenga mayor tiempo de descanso. El proceso de rotación papa-pastos es común en este tipo de explotaciones agropecuarias.

El trabajo del cultivo de papa en la vereda suele ser manual, sin ningún tipo de maquinaria especializada, debido a las dificultades de acceso a la zona, a las pendientes escarpadas (mayores de 50%) y al bajo poder adquisitivo de los habitantes. Las actividades, materiales e insumos que se utilizan en la vereda se presentan en el Tabla 2-1. Es necesario anotar que los productores de la vereda no llevan registros de cantidades, dosis y frecuencia de aplicación de insumos.

Tabla 2-1: Actividades, materiales e insumos utilizados en el cultivo de papa

Actividades	Variedades	Agroquímicos	Objetivo asociado
Preparación del terreno	<i>San Félix</i> o <i>Salentina</i>	Furadan	Gusano blanco (<i>Premnotrypes vorax</i>)
Fertilización	<i>La Argentina</i>	Parathion, Monitor,	Tostón (<i>Lyriomyza quadrata</i> y
Siembra	<i>Parda Pastusa</i>	Lorsban, Curacron	<i>Lyriomyza huidobrensis</i>)
Aporque	<i>Tuquerreña</i> o	Manzate, Fitoraz,	Gota (<i>Phytophthora infestans</i>)
Mantenimiento	<i>Sabanera</i>	Ridomil, Anvil	
Recolección	Criolla		Roya o carranchin (<i>Puccinia pittieriana</i>)
Selección			Trozador o viringo (<i>Agrotix ípsilon</i> y
Empaque		Lorsban	<i>Feltia</i> sp.)
Transporte		Abocol 10:30:10	Fertilidad del suelo

Fuente: elaboración propia

Las variedades preferidas por los campesinos de la zona son la *Salentina* y la *Argentina* porque tienen mejor sabor y precio en el mercado. Las semillas provienen de la misma vereda y en ocasiones se intercambian entre ellos para mejorar la calidad de la papa. En la mayoría de los casos no se usa protección para la aplicación de los plaguicidas, situación

que pone en riesgo la salud de los campesinos. La protección mínima debería incluir overol, botas y guantes de caucho, gafas, máscaras e impermeables (Beltrán, 2005). Los campesinos entrevistados indicaron que la aplicación de estas sustancias químicas les ha afectado la salud: “La artritis me ha afectado, porque después de utilizar el abono que es muy caliente y aunque espero un tiempo antes de bañarme, el agua es muy helada y afecta mucho la salud” (Entrevistado 21, 2010).

En cuanto al componente pecuario se encontró que 100% de las fincas tienen ganado bovino, con un promedio de 24 animales por finca. Los pastos que se siembran en la zona son Orchoro (*Dactylis glomerata*), Raygras (*Lolium* sp) y Plegadera (*Lachemilla* sp.). El principal propósito del ganado es la producción de leche y la posterior elaboración del queso. Se ordeña una vez al día y se producen de 5-7 litros de leche, producción que es similar a lo reportado a escala nacional para el ganado doble propósito (4 L leche/vaca/día), pero es baja si se compara con la producción nacional promedio de 8.3 L leche/vaca/día y 12 L leche/vaca/día para la lechería especializada (MADR, 2011).

Entre los campesinos, 100% manifiesta no haber recibido capacitación por parte de personas externas a la vereda en cuanto al manejo de cultivos, ganado y producción lechera. La mayoría de conocimientos sobre el manejo de los productos químicos se ha dado por intercambio entre ellos mismos y por parte de los vendedores que distribuyen los productos químicos. Esto concuerda con lo reportado por el Censo Nacional de Papa realizado en el Departamento de Cundinamarca (DANE, 2005), cuyo reporte indicó que 84% de las unidades productoras de papa no tienen asistencia técnica, y 6% de esa asistencia es prestada por la casa comercial que vende los insumos. También, 100% de los encuestados planteó que le gustaría explorar formas alternativas para desarrollar los cultivos, como el uso de abonos orgánicos y lombricultura. De hecho, se encontró que 25% de los campesinos ha experimentado por su cuenta la aplicación de nuevos compostajes y abonos orgánicos. Del mismo modo, algunos expresaron su interés por conocer experiencias de control natural de plagas, pues 10% de ellos ha utilizado por ejemplo el “Arracachuelo” (*Apium montanum*) como forma de controlar el gusano blanco en la papa.

Los campesinos de la vereda perciben su espacio de vida como un lugar de bellos nevados, gran riqueza de agua, animales, plantas y valores paisajísticos. Todos menos uno aseguraron tener más de una fuente de agua en su finca. Además, señalaron que en ninguna de las fincas han desaparecido fuentes de agua. En relación con los humedales, mencionaron diferentes conceptos como que son “colchones que retienen el agua y están al interior de la vereda” (Entrevistado 3, 2009); “son nacimientos de agua pantanuda” (Entrevistado 18, 2010); “retienen agua para el verano” (Entrevistado 30, 2011); “es importante cercarlos para que el ganado no los contamine” (Entrevistado 31, 2011).

Por otro lado, al preguntar sobre las principales plantas conocidas por los campesinos, que son características de la zona, señalaron: lengua de vaca (*Rumex crispus*), curador, guayabo blanco, chilca (*Escallonia poniculata*), rabo de chivo, siete cueros (*Polyespis sericea*), romero (*Diplostephium shultzii* y *Diplostephium bicolor*), velillo (*Miconia salicifolia*), almanegra, encenillo (*Weinmania pubescens*), gavilán, sanalotodo (*Baccharis tricuneata*), mostita, laurel, frailejón (*Speletia hartwegiana*) y cinco dedos. Igualmente indicaron que en general ninguna de las plantas que ellos conocen se ha extinguido, aunque expresaron que ahora es más difícil conseguir el guayabo, el encenillo (*Weinmania pubescens*) y el gavilán. En la Tabla 2-2 se presentan las plantas que han sido descritas por parte de los habitantes de la vereda con algún uso medicinal:

Tabla 2-2: Plantas de uso medicinal empleadas por los campesinos de la vereda El Bosque

Nombre común	Nombre científico	Uso medicinal
Caléndula	<i>Calendula officinalis</i>	Dolor de estómago, gastritis, úlcera
Borraja	<i>Borago officinalis</i>	Tos
Hierbabuena	<i>Menta piperita</i>	Cólicos, hernias
Ajenjo	<i>Artemisa absinthium</i>	Agriera, vómito, bilis, hígado
Malva	<i>Malvastrum peruvianum</i>	Calores concentrados
Mosca de páramo	<i>Satureia spp</i>	Infertilidad
Sanalotodo	<i>Bacharis tricuneata</i>	Dolor de cabeza, problemas de hígado
Romero de páramo	<i>Diplostephium schultzii</i>	Lavado de cabello; tos
Frailejón	<i>Speletia hartwegiana</i>	Dolor, frío en los oídos, tos
Papa	<i>Solanum tuberosum</i>	Dolor de cabeza
Cebolla larga	<i>Allium fistulosum</i>	Cólicos

Fuente: Chiquito y Zuluaga (2007)

Entre los animales característicos de la zona, reconocen las dantas (*Tapirus pinchaque*), el oso de anteojos (*Tremarctos ornatos*), los venados (*Mazama Rufina*, *Odocoileus virginianus ustus* y *Pudu mephistophiles*), el tigrillo (*Leopardus tigrinus*), el puma (*Puma concolor*), el cóndor (*Vultur gryphus*), los patos (*Oxyura jamaicensis*), el águila (*Espizaetus isidori*) y los loros verdes (*Bolborhynchus ferrugineirfrons* y *Hapalopsittaca fuertesi*). Ante la pregunta de cuáles animales existían antes y que ahora están en extinción, todos respondieron que el cóndor, situación relevante dado que se trata del ave voladora más grande del mundo.

Los párrafos anteriores indican que el desarrollo de las prácticas agrícolas y la percepción que tiene la comunidad de El Bosque sobre la biodiversidad del lugar, es una combinación de conceptos donde se incluyen aspectos promovidos por la *revolución verde* (como son el uso de plaguicidas y fertilizantes de síntesis química) y la aplicación de conceptos propios de la comunidad que aún se mantienen (manejo artesanal del cultivo, rescate de las semillas propias, valoración y permanente intención de conservar el agua, las plantas y animales de la zona, así como el conocimiento sobre el uso medicinal y tradicional de algunas de las plantas típicas del páramo).

Por otra parte, se pudo constatar la poca participación de las instituciones del Estado y de las instituciones académicas en la promoción de prácticas y pensamiento ambiental en la zona. En general, los campesinos manifestaron muy baja capacitación por parte de las autoridades ambientales; sin embargo, las pocas que recuerdan son aquellas realizadas por la Cruz Roja y Parques Nacionales acerca del cuidado del agua, la fauna y prescindir de las quemadas. Esta participación de las instituciones se percibe como valiosa mas no suficiente. Los habitantes indican también, que desde las instituciones académicas se han presentado pocas propuestas frente al manejo ecológico del cultivo de la papa, lo cual contrasta con las alternativas ofrecidas por los comercializadores de insumos químicos y plaguicidas quienes, mayor facilidad y eficiencia, han dado solución a corto plazo a los problemas del cultivo.

No obstante, los campesinos de la vereda se muestran abiertos a implementar prácticas de cultivo en el marco de modelos agroecológicos, siempre y cuando estos garanticen la sostenibilidad de sus cultivos. Lo anterior es una fortaleza que podría ser aprovechada por las instituciones encargadas de las zonas de conservación, como una forma de generar relaciones con el páramo y sus habitantes que permita la conservación del ecosistema y también aumente su biodiversidad. Los campesinos de la zona se perciben como un gran punto de apoyo para el

aprendizaje y aplicación de prácticas agroecológicas que contribuyan a la conservación del páramo.

Varios investigadores concuerdan en afirmar que la agricultura familiar agroecológica campesina es una alternativa importante para las comunidades rurales. Este tipo de agricultura se caracteriza por utilizar principalmente mano de obra familiar; tiene una marcada dependencia por los bienes y servicios que le provee el entorno natural y su propio agroecosistema; trabaja a una escala de producción pequeña y altamente diversificada; desarrolla tecnologías propias y adaptadas a su condición ecológica, social y cultural; propicia justicia social y equidad; y está inmersa en la dinámica de desarrollo de su comunidad y región. No solo fortalece los lazos de los núcleos familiares sino que garantiza el desarrollo de acciones de conservación de la biodiversidad, además mantiene la sostenibilidad de los recursos naturales para las generaciones futuras (Tello, 2011).

En otro aspecto, la percepción que tienen los campesinos frente a la importancia de la biodiversidad, el cuidado del agua, el valor paisajístico de su territorio y del páramo como un escenario espiritual de vida y tranquilidad para ellos, es un punto de partida para recuperar o desarrollar, donde el rescate de la memoria biocultural y los conocimientos locales alrededor del páramo son factores clave. Al respecto se ha planteado la importancia del cúmulo de saberes, no científicos, que existen en la mente de los productores rurales (agricultores, pastores, pescadores, ganaderos, cazadores, recolectores), y que han servido durante milenios para que la especie humana se apropie de los bienes y servicios de la naturaleza (Toledo y Barrera-Bassols, 2008). En lo conceptual, el conocimiento local se asimila como aquel implícito del contexto cultural en que se desarrolla la acción, el cual se encuentra asociado a un lugar, tiempo, clase, variedad y acentos específicos (Geertz, 1994). En este sentido, el conocimiento local es aquel que permite la estructuración de los saberes locales con base en observaciones personales, experimentación mediante el ensayo/error y la síntesis de los hechos y fenómenos (Toledo y Barrera-Bassols, 2008).

2.4.3 Percepciones frente a la problemática socioambiental

En el marco de las condiciones mencionadas, ante los campesinos de la vereda El Bosque aparece el conflicto de intereses con las autoridades ambientales del PNNN, cuyo primer objetivo estratégico consiste en “reducir los impactos negativos generados por usos agropecuarios sobre el parque y la zona de influencia” (PNNN, 2007, p. 32).

Al respecto, se encontraron diferentes percepciones frente al conflicto que se presenta en la zona. Mientras que para los funcionarios y autoridades ambientales del parque, el tema central por resolver son los impactos generados en la vereda El Bosque “presiones relacionados con actividad ganadera, cultivos de papa y extracción de madera para postes y leña, en sectores cercanos a la Laguna del Otún, impactando considerablemente estos ecosistemas” (PNNN, 2007, p. 18). Para los campesinos la vereda simplemente se trata de su espacio de vida, y en su opinión no afectan a nadie. En sus propios términos: “Qué problema puede haber al trabajar para mantener a la familia” (Entrevistado 26, 2010). Adicionalmente afirmaron: “Ellos nos dicen que no contaminemos el agua, pero eso lo sabemos nosotros pues nuestras familias viven en Pereira y sería como contaminarle el agua a ellos o ir a talar los árboles a la orilla de los ríos o los humedales, y por el contrario hay que cuidarlos porque será el agua de nuestros hijos” (Entrevistado 25, 2010). Sobre esta misma idea indicaron: “La problemática es por los ríos, porque dicen que estamos contaminando el agua que va para Pereira, pero el agua se contamina es más abajo, pero más abajo si no se toman medidas”

(Entrevistado 25, 2010). De las familias encuestadas solo 8% considera que existe alguna problemática por estar ubicados dentro de la zona del parque. También se puede notar que a los campesinos de la vereda les gusta su estilo de vida en el páramo: “El ruido de la ciudad, que es bueno por dos o tres días no está en el campo, y aquí sí se puede cultivar, tener el ganadito; en la vereda todo está bien y no me gustaría cambiar nada” (Entrevistado 8, 2009).

En la vereda se pueden observar condiciones de abandono por parte del Estado, incluso, de acuerdo con lo expresado por las personas que han participado del presente estudio, se ha aplicado una política para disminuir al máximo los servicios básicos de la población y así presionar el abandono del territorio. De acuerdo con algunos de los entrevistados: “Se busca que no hayan ni brigadas de salud, ni servicios educativos, de lo contrario ellos se amañan allá y nunca se van” (Entrevistado 12, 2010). En este caso resulta pertinente citar a Fisher, Stewart, Jackson, Barrow, y Jeanrenaud, S (2005, p. 16): “Si bien la conservación ha contribuido al bienestar humano mediante la protección de los recursos naturales y el mantenimiento de los ecosistemas a nivel nacional y regional, en algunas oportunidades, la conservación ha empeorado las condiciones de pobreza local, pues le ha negado el control y el acceso a los recursos naturales de los cuales depende su modo de vida”.

Lo anterior pone de manifiesto la necesidad de armonizar los derechos básicos de la población, como el trabajo, la salud y la educación, con la conservación de los ecosistemas, a la vez que el Estado social de derecho debe garantizar políticas incluyentes con los dos sectores. La coherencia de las políticas de conservación debería incluir tanto la conservación de los recursos naturales como a las comunidades que habitan estos ecosistemas. Hay que destacar que el contacto entre autoridades ambientales y campesinos de la zona es bajo, debido entre otras cosas, al poco presupuesto, infraestructura y personal del PNNN, pues resultan insuficientes para atender la extensión completa del parque (58 300 ha). A pesar de esta situación, los canales de diálogo entre la comunidad de la vereda y los funcionarios se encuentran abiertos, situación que podría aprovecharse para encontrar soluciones conjuntas a la problemática que se presenta.

En cuanto al conflicto, se han propuesto diferentes opciones: a) compra de tierras por parte de las instituciones del Estado, a partir de un avalúo comercial equitativo o reubicación de los campesinos en otra zona donde no se presenten restricciones de las zonas de reserva y donde los campesinos puedan desarrollar sus actividades agrícolas; b) contratación y pago a los campesinos de la vereda por servicios de conservación y restauración, como forma alternativa al cultivo de papa y ganadería; c) conversión gradual de los sistemas agropecuarios actuales a sistemas agroecológicos; d) desarrollo de turismo ecológico comunitario; y e) declaración de “zonas socioeconómicas” para el desarrollo de sistemas agroecológicos, por parte de las comunidades históricas de la zona; o finalmente, una combinación de las distintas opciones.

Acercas de la propuesta de venta de tierras o reubicación, los campesinos de la zona han manifestado sus temores: “La gente que ha vendido no se ha podido ubicar en otras partes, y ya se han gastado el dinero y están en la calle, pues la vida en la ciudad es muy costosa y da mucho miedo vender las fincas, así supuestamente las paguen bien” (Entrevistado 26, 2010). También manifestaron: “Lo que nosotros sabemos hacer es cultivar la tierra, en una ciudad ¿qué vamos a hacer?” (Entrevistado 30, 2011). Esta situación fue reconocida de manera oficial por el Estado hace más de 20 años, cuando funcionarios del antiguo ente regulador de Parques Nacionales afirmaron: “La cohesión comunitaria que hay entre las familias de la vereda El Bosque, los deseos de la comunidad misma y la factibilidad real de

reubicar a sus habitantes en otros lugares donde puedan desarrollar vidas dignas, indican que la compra de predios y reasentamiento de toda esta vereda es una alternativa no recomendable por sus altos costos sociales”.

Las iniciativas de la comunidad y la disposición técnica y financiera de las entidades deberían apuntar a la posibilidad de desarrollar acciones concertadas en pro del desarrollo sostenible, por medio del reordenamiento participativo del territorio de la vereda, reforestación, alternativas agropecuarias, saneamiento básico y ecoturismo (Inderena, 1993). Otros estudiosos del tema, como Pérez et ál., 2011) plantean:

“Para los campesinos la tierra no es una inversión, sino un activo que garantiza su subsistencia, una señal de identidad, una evidencia de los lazos con sus antepasados, una fuente de seguridad para el futuro y una condición para participar con plenos derechos de la vida comunitaria. Cuando un campesino pierde la tierra, queda despojado de mucho más que su principal medio de subsistencia”.

La selección y viabilidad de estas alternativas podría implementarse en el marco de construcción de planes comunitarios de manejo, mediante un proceso de acercamiento y diálogo participativo entre las comunidades y las autoridades ambientales, que indiquen la opción u opciones más adecuadas. Para ello, es fundamental contar con voluntad política e inversión económica por parte del Estado, de tal manera que los planes comunitarios de manejo se puedan ejecutar y se den las condiciones pertinentes para su consolidación.

Debe entenderse que la educación ambiental como herramienta para la solución de problemas de la realidad local es importante pero no suficiente. La razón principal por la cual los campesinos desarrollan sus actividades agrícolas y ganaderas es la subsistencia económica de sus familias. Por tanto, las soluciones deben ser integrales y requieren un componente de alta inversión social, que permita la vida digna de las familias que habitan en la vereda. En este sentido, más allá de concebir a la población campesina de El Bosque como un “problema” o como “generadora de conflictos”, se le debería ver y pensar como parte esencial de la solución, dado su amplio conocimiento de la zona y su arraigo cultural por la alta montaña donde habitan (Chiquito y Zuluaga, 2007).

2.4.4 Análisis contextual

Durante el desarrollo de la presente investigación se encontraron personas y familias provenientes de otras zonas del país, algunas se encontraban en la vereda algunas con intereses temporales y otras en búsqueda de nuevas alternativas de vida y empleo, de hallar mejores condiciones en la vereda y quizás establecerse allí. Debe notarse que la concentración de la propiedad de la tierra en Colombia es una de las más altas del mundo, con un coeficiente de Gini de 0.85 (Gruszczynski y Rojas, 2003). En 2003, 86.3% de los propietarios poseía apenas 8.8% de la superficie de tierra en Colombia, mientras que 0.4% de los primeros poseían 62.6% (Salgado, 2008).

Este escenario indica que la situación del país en su conjunto afecta la situación particular de la vereda, de manera tal que al encontrarse una gran cantidad de campesinos sin tierra y con difíciles condiciones socioeconómicas, las áreas protegidas y, en este caso, la vereda el Bosque del PNNN, se convierten en territorios menos poblados donde las personas

pueden ubicarse y desarrollar sus cultivos para alcanzar mejores niveles de calidad de vida. Mientras el país presente un alto porcentaje de campesinos sin tierra, las áreas protegidas serán un territorio propicio para el establecimiento de nuevas familias. Por esta razón, la tarea de conservación, más allá de ser una tarea de delimitación de áreas geográficas y educación ambiental, debe trascender a escenarios más complejos, como la pertinencia de procesos de reforma agraria para una distribución equitativa de las tierras, de modo que los campesinos pobres puedan acceder a tierras fértiles en zonas que no presenten restricciones de uso como las áreas protegidas.

2.5 Conclusiones

En la vereda El Bosque del PNNN habita una pequeña población que desarrolla actividades del cultivo de papa y ganadería como estrategia de supervivencia y herencia cultural paramuna. Esta se desarrolla como una combinación de prácticas aprendidas desde la *revolución verde* y los saberes propios. Su ubicación dentro de un área protegida ha generado contradicciones que no deberían existir entre la conservación del ecosistema y el mejoramiento de su calidad de vida. Implementar modelos agroecológicos y de rescate de la memoria biocultural podrían ser estrategias viables dada la disposición de la comunidad de la vereda.

Así mismo, es pertinente la implementación de planes comunitarios de manejo con inversión estatal, para ejecutar acciones orientadas al pago de servicios de conservación a las comunidades, conversión a sistemas agroecológicos, desarrollo de turismo ecológico comunitario o compra de tierras a precio justo para la reubicación de las familias (estas dos últimas opciones como alternativas con mayor costo social). Finalmente, este conflicto se debería entender en el marco de los procesos históricos de concentración de la tierra en el país y de la pertinencia de procesos de reforma agraria que permitan una distribución equitativa de las tierras fértiles de la nación, de tal manera que las áreas de conservación dejen de ser opciones propicias para nuevos asentamientos humanos espontáneos.

2.6 Bibliografía

- AAP (2001). *Documento de análisis conceptual y planteamiento de acciones con relación al plan de reordenamiento ambiental, sociocultural y productivo de la cuenca alta y media del río Otún*. Pereira: Aguas y Aguas de Pereira.
- Alzate, A. (2006). *Diagnóstico socioeconómico del complejo de humedales del Otún*. Informe técnico preliminar de consultoría. Convenio TN68 de la organización World Wildlife Fund, Inc. (WWF).
- Beltrán, O. T. (2005). *Buenas prácticas agrícolas*. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Buzaglo, J. y Calzadilla, A. (2010). *Poverty and Class: Dynamics and strategies in Bolivia*. Buenos Aires: Coloquio Internacional America Latina: escenarios del nuevo siglo Nuevos desafíos y horizontes de transformación.
- CAR (2003). *Proyecto piloto para la conservación y uso sostenible del páramo de Guerrero. Municipios de Zipaquirá, Cogua y Tausa*. Bogotá: Convenio CAR - Conservación Internacional.
- Chiquito, S. y Zuluaga, S. (2007). *Plan de acción ambiental Vereda El Bosque cuenca alta del río Otún*. Pereira: Administración del Medio Ambiente, Universidad Tecnológica de Pereira.

- Congreso de la Republica de Colombia. (2003). Ley 850. Diario Oficial 45376.
- Congreso de la Republica de Colombia. (2001). Ley 715. Diario Oficial 44654.
- Congreso de la Republica de Colombia. (1993). Ley 100. Diario Oficial 41148.
- Congreso de la Republica de Colombia. (1994). Ley 134. Diario Oficial 41373.
- Congreso de la Republica de Colombia. (1990). Ley 10. Diario Oficial 39137.
- Constitución política de Colombia. (1991). Gaceta Constitucional No. 116 de 20 de Julio de 1991
- DANE (2001). *Censo nacional de la papa. censo experimental municipio de Villapinzón (Cundinamarca)*. Bogotá: Autor. DANE (2005). *Informe Especial censo general 2005 colombia - Educación*. Bogotá: Autor.
- DNP (2010). *Bases del Plan Nacional De Desarrollo 2010 – 2014. Prosperidad para todos*. Bogotá: Autor.
- Espinal, C., Martínez, H., Pinzón, N. y Barrios, C. (2005). *La cadena de la papa en Colombia una mirada global de su estructura y dinámica 1991-2005*. Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural Observatorio Agrocadenas Colombia.
- Fisher, R. J., Stewart, M., Jackson, W. J., Barrow, E. y Jeanrenaud, S. (2005). *Pobreza y conservación : paisajes, pueblos y poder*. San José: Unión Mundial para la Naturaleza.
- Geertz, C. (1994). *Conocimiento local*. Barcelona: Ediciones Paidós Ibérica.
- Gómez, M. (2008). *La papa, su comercialización y el caso especial frente a la comunidad de Pasquilla*. Especialista en Gerencia Social, Escuela Superior de Administración Pública.
- Grusczyński, D. y Rojas, M. (2003). Notas sobre una reforma agraria redistributiva y consideraciones sobre el sistema de seguimiento de política. *Revista Planeación y Desarrollo*, 34(2), 337-365.
- Hofstede, R. (2003). Los páramos en el mundo: su diversidad y sus habitantes. En R. Hofstede, P. Segarra y P. Mena (Eds.), *Los páramos del mundo. Proyecto Atlas Mundial de los Páramos* Pag. 11- 30 Quito: Global Peatland Initiative/NC--IUCN/EcoCiencia.
- IGAC (2012). *Atlas de la distribución de la propiedad rural en Colombia*. Bogotá: Instituto Geográfico Agustín Codazzi.
- INDERENA. (1993). *Plan de Manejo del Parque Nacional Natural Los Nevados*. La Suiza.
- León, T. (2009). Agroecología: desafíos de una ciencia ambiental en construcción. En M. Altieri (Ed.), *Vertientes del pensamiento agroecológico: fundamentos y aplicaciones*. Medellín: SOCLA.
- Machado, A. (2011). *Colombia rural. Razones para la esperanza. Informe Nacional del Desarrollo Humano 2011*. Bogotá: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo.
- MADR (2011). *Boletín para el ganadero productor de leche*. Bogotá: Ministerio de Ambiente y Desarrollo Rural.
- MMA (2002). *Paramos: Programa para el Manejo Sostenible y Restauración de Ecosistemas de la Alta Montaña colombiana*. Bogotá: Ministerio del Medio Ambiente de Colombia.
- Perez, H., Zárate, C. A. y Turbay, S. M. (2011). Conflictos ambientales: la biodiversidad como estrategia ordenadora del territorio. *Opinión Jurídica, Edición especial*, Vol 10:89-104.
- Perfetti, J. (2009). *Crisis y pobreza rural en América Latina: el caso de Colombia, Documento de trabajo No. 43*. Santiago: Programa Dinámicas Territoriales Rurales, Rimisp.
- Perry, S. (2010). *La pobreza rural en Colombia*. Bogotá: Centro Latinoamericano para el Desarrollo Rural, Rimisp.
- Perry, S. (2011). *Consulta nacional sobre prioridades en pobreza rural en Colombia*. Bogotá: Centro Latinoamericano para el Desarrollo Rural, Rimisp.
- Ploeg, J. D. v. d. (2010). *Nuevos campesinos, Campesinos e imperios alimentarios*. Barcelona: Icaria Editorial.
- PNNN. (2007). *Plan de Manejo Parque Nacional Natural de Los Nevados 2007-2011*. Manizales: Parques Nacionales Naturales de Colombia.

- PNNN. (2010). *Restauración ecológica en páramos del Parque Nacional Natural de Los Nevados*. Manizales: Editorial Andina.
- Quintero, L. E. y Acevedo, X. (2004). *Costos de producción de papa en Colombia. Observatorio agro cadenas Colombia. Documento de trabajo N° 40* Bogotá: Ministerio de Agricultura y Desarrollo Rural.
- Salgado, C. (2008). Propuestas frente a las restricciones estructurales y políticas para la reparación efectiva de las tierras perdidas por la población desplazada (p. 5). Bogotá: Consultoría para los Derechos Humanos y el Desplazamiento Forzado Codhes.
- Shanin, T. (1971). *Campesinos y sociedades campesinas*. México D.F.: Fondo de Cultura Económica.
- Tello, J. (2011). *Agricultura familiar agroecológica campesina en la comunidad andina. Una opción para mejorar la seguridad alimentaria y conservar la biodiversidad*. Lima: Secretaria General de la Comunidad Andina.
- Toledo, V. M. y Barrera-Bassols, N. (2008). *La memoria biocultural. La importancia ecológica de las sabidurías tradicionales*. Barcelona: Icaria Editorial.
- Valbuena, S. (2006). *Instrumentos de política para incentivar en los productores de papa la reconversión tecnológica como alternativa para generar procesos de manejo y uso sostenible de los ecosistemas de páramo*. Maestría en Medio Ambiente y Desarrollo, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Valderrama, E. y Linares, E. (2008). Uso y manejo de leña por la comunidad campesina de San José de Suaita (Santander, Colombia). *Revista Colombia Forestal*, 11, 19-34.
- Valderrama, M. y Mondragón, H. (1998). *Desarrollo y equidad con campesinos*. Bogotá: IICA.

3. Capítulo 3. Parámetros taxonómicos, fisicoquímicos y actividades enzimáticas de suelos asociados a cultivo de papa, ganadería y páramo del Parque Nacional Natural de los Nevados, Colombia³

3.1 Resumen

Con el objetivo de evaluar cambios asociados al cultivo de papa y la ganadería sobre las propiedades fisicoquímicas y las actividades enzimáticas de suelos de páramo del Parque Nacional Natural de Los Nevados (PNN Los Nevados), Colombia, se colectaron muestras de suelos bajo tres tipos de uso (cultivo de papa, ganadería y páramo en conservación), a tres alturas diferentes y en dos momentos climáticos. Se realizó la caracterización taxonómica y la determinación de parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas de los suelos estudiados. Los resultados indicaron que no existen diferencias significativas entre las propiedades físicas de los suelos, pero sí disminuciones significativas en 5 de las 16 propiedades químicas (carbono orgánico, Ca, K, Capacidad de Intercambio Catiónico y NH_4) y en 5 de las 7 actividades enzimáticas evaluadas (β -glucosidasa, fosfodiesterasa, ureasa, fosfatasa ácida y proteasa). También, se reportan disminuciones en el contenido de carbono orgánico (CO), capacidad de intercambio catiónico (CIC), Ca, K, NH_4 y en las actividades β -glucosidasa, fosfodiesterasa y ureasa en los suelos bajo cultivo de papa y ganadería. En contraste, se evidenciaron aumentos significativos en la actividad fosfatasa ácida y proteasa y no significativos en P y densidad aparente (Dap) en los suelos bajo cultivo de papa y ganadería. Adicionalmente, se encontró que 7 de 19 propiedades fisicoquímicas y 2 de 7 actividades enzimáticas presentaron diferencias estadísticamente significativas asociadas al momento de muestreo. En general, durante la sequía se detectaron mayores contenidos de CO, CIC y actividades enzimáticas y se reportó una única tendencia, producto de la altitud. Los resultados anteriores sugieren implementar transformaciones en las prácticas agrícolas de tal

³ El presente artículo se encuentra escrito bajo las instrucciones de autor de la revista *Agriculture, Ecosystems & Environment*.

manera que se promueva el aumento el manejo de la materia orgánica, la capacidad de intercambio catiónico, la densidad aparente y estabilización de los procesos enzimáticos del suelo.

Palabras clave: áreas protegidas, páramo, impacto prácticas agrícolas, enzimas

3.2 Introducción

El PNN Los Nevados, es una de las áreas protegidas más importantes de Colombia, con un extensión aproximada de 58.300 has, donde el páramo es su ecosistema más representativo, con alrededor de 38.600 has (66.21%) (PNNN, 2010). Este parque, ubicado en la cordillera central de los Andes colombianos, afronta fuertes conflictos de uso de la tierra relacionados con disturbios antrópicos especialmente en la vereda El Bosque, donde los agricultores desarrollan actividades de cultivo de papa y ganadería como estrategia de supervivencia y herencia cultural paramuna, aplicando prácticas aprendidas desde la revolución verde y también desde los saberes propios (Capítulo 2). Por lo cual, esta zona ha sido un escenario de permanente conflicto por el uso del suelo, evidenciando contradicciones entre los procesos agropecuarios y los objetivos de conservación.

Estos conflictos afectan la sostenibilidad de los páramos, los cuales son ecosistemas de alta montaña, exclusivos de Colombia Venezuela, Ecuador y norte de Perú, que se extienden desde la frontera del bosque alto andino entre aproximadamente 3200 msnm y 3500 msnm hasta el límite de la nieve perpetua entre aproximadamente 4500 - 5000 msnm (Poulenard *et al.*, 2001; Buytaert *et al.*, 2007). Los páramos andinos son ecosistemas esenciales en la gestión de los recursos hídricos de América del Sur, desempeñan funciones ecológicas fundamentales en materia de captación, regulación y suministro de los recursos hídricos de aguas cristalinas para diferentes usos (de Groot *et al.*, 2002; Otero *et al.*, 2011).

Adicionalmente, existen una serie de parámetros indicadores físicos, químicos y biológicos que se han usado para establecer las condiciones de salud y calidad de los suelos. Dentro de estos indicadores se encuentran las actividades enzimáticas, las cuales están involucradas en la transferencia de energía, los procesos bioquímicos del suelo y en la calidad ambiental (Tabatabai, 1994; Dick, 1994) y con frecuencia se utilizan como índices de la actividad microbiana (García *et al.*, 1993; Salazar *et al.*, 2011; Gispert *et al.*, 2013). Esto debido a que a escala del ecosistema, la actividad enzimática de los suelos es una función de la actividad microbiana asociada a las raíces, que a su vez, regula la humedad, la temperatura y la calidad de los sustrato (disponibilidad de nutrientes) (Tabatabai, 1994; Salazar *et al.*, 2011). Por lo tanto, las actividades enzimáticas se pueden usar para describir los cambios producto del uso de los suelos y de los cambios de cobertura asociados a las prácticas agrícolas como un mecanismo para interpretar el funcionamiento del suelo dentro del ecosistema (Acosta-Martínez *et al.*, 2007). De igual manera se consideran un factor importante de la fertilidad edáfica y también un indicador sensible de la influencia agronómica, ecológica y antropogénica sobre el mismo (Svirskene, 2003; Marcinkeviciene *et al.*, 2013). En este sentido, se consideran indicadores importantes para medir el grado de degradación del suelo en ecosistemas agrícolas y naturales (van Beelen y Doelman, 1997; Trasar-Cepeda *et al.*, 2000; Gianfreda y Rao, 2011). Se considera que las enzimas del suelo están estrictamente relacionadas con los ciclos de nutrientes y que pueden responder rápidamente a los cambios causados por factores antropogénicos como la presencia de sustancias xenobióticos (Gianfreda *et al.*, 2005; Gianfreda y Rao, 2011). Específicamente las hidrolasas son particularmente importantes, ya

que están estrechamente relacionados con los ciclos de nutrientes importantes como C, N y P (Yuan *et al.*, 2012).

A pesar de la importancia de los ecosistemas de páramo y específicamente los que se encuentran en el PNN Los Nevados, se tiene poca información acerca de los impactos del cultivo de papa y la ganadería sobre las características fisicoquímicas y enzimáticas de dichos suelos. En este contexto el objetivo del presente estudio fue evaluar la variación de las propiedades fisicoquímicas (humedad, Dap, estabilidad estructural, pH, CO, N, P, CIC, bases intercambiables y análisis elemental) y las actividades enzimáticas (β -glucosidasa, fosfatasa ácida, alcalina, fosfodiesterasa, ureasa, proteasa y deshidrogenasa) de los suelos en función de tres usos (cultivo de papa, ganadería y páramo con la mayor conservación posible). Adicionalmente, se llevó a cabo la caracterización taxonómica de los suelos involucrados como una herramienta de referencia y comparación de los suelos de estudio.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Descripción del lugar de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la vereda El Bosque, municipio de Pereira, Risaralda, al interior del PNN Los Nevados, Colombia, específicamente en los agroecosistemas: Buenos Aires (N 04°44'58.3 - W 075°26'40.4; 3769 msnm), El Edén (N 04°44'32.3 - W 075°26'37.9; 3590 msnm) y La Secreta (N 04°44'08.5 - W 075°26'34.7; 3432 msnm). En esta zona se desarrollan actividades del cultivo de papa en rotación con pastos (ganadería), en ciclos bianuales y con períodos de barbecho desde hace más de 80 años. El cultivo de papa en la vereda es principalmente manual, sin ningún tipo de maquinaria especializada en el que se hace aplicación convencional de agroquímicos que incluyen Furadan, Parathion, Monitor, Lorsban, Curacron, Manzate, Fitoraz, Ridomil, Anvil y fertilizantes de tipo N:P:K. Los pastos que se siembran en la zona son Orchoro (*Dactylis glomerata*), Raygras (*Lolium* sp) y Plegadera (*Lachemilla* sp.) (Capítulo 2). Las áreas aledañas que se encuentran con la mayor conservación posible (páramo) tienen como vegetación predominante *Cortaderia selloana*, *Pernettya prostrata*, *Buddleja* sp., *Lupinus albus*, *Dendropanax* sp., *Chusquea* sp. Si bien los tres usos del suelo se encuentran en el ecosistema de páramo, para efectos del presente estudio y para facilidad en nomenclatura hemos denominado páramo a la zona con la menor intervención antrópica posible de acuerdo con la triangulación de los resultados obtenidos de: a) la aplicación de herramientas del diagnóstico rural participativo; b) cuestionarios estructurados; y c) la descripción de la vegetación característica de la zona (Capítulo 2), por lo que se han identificado dichas áreas como páramo en conservación.

3.3.2 Caracterización taxonómica de suelos de la vereda El Bosque

Se realizó muestreo para identificar el perfil modal en la vereda El Bosque, PNN Los Nevados, Colombia. Para esto se evaluaron los suelos correspondientes a tres agroecosistemas de diferentes alturas: Buenos Aires, El Edén y La Secreta. En cada finca se hicieron cateos con barreno, tres observaciones tipo cajuela, una en suelos bajo cultivo papa, otra en zona de ganadería y la tercera en áreas de bosque de páramo con el mayor grado de conservación posible. Posteriormente se abrieron calicatas de 2 x 2 x 1.2 m en cada finca y suelo identificados que fueron descritos de acuerdo con los lineamientos de (IGAC, 2007). En cada calicata se tomaron muestras representativas de los horizontes, que se analizaron de acuerdo

con los protocolos de los laboratorios de suelos del IGAC (2007). La clasificación taxonómica se hizo hasta nivel de subgrupo y se realizó por medio de la clave para taxonomía de suelos (SSS, 2010).

3.3.3 Muestreo de suelos

Adicionalmente a lo descrito en el ítem 2.2, se tomaron muestras de suelos rizosféricos en los tres agroecosistemas (Buenos Aires, El Edén y La Secreta). En cada agroecosistema se evaluaron tres usos del suelo: bosque de páramo (con la menor grado de intervención antrópica posible), cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) y ganadería. La colecta se realizó en dos épocas: seca y húmeda. En cada uno de los usos del suelo se tomaron tres muestras compuestas de 10 submuestras cada una. En total, se analizaron: tres usos del suelo, tres fincas (alturas), dos épocas y tres muestras para cada caso, para un total de 54 muestras que fueron analizadas por triplicado.

3.3.4 Parámetros fisicoquímicos del suelo

Los parámetros fisicoquímicos del suelo fueron determinados de acuerdo con los métodos del IGAC, (2006): humedad por el método gravimétrico, densidad aparente por el método del cilindro, estabilidad estructural por el método de tamizado mecánico de Yoder, textura por el método de Bouyoucos, pH en H₂O por el método potenciométrico con relación suelo: agua (p/v) 1:1, porcentaje de CO por el método de Walkley y Black, capacidad de intercambio catiónico, calcio, magnesio, potasio y sodio mediante extracción con acetato de amonio 1N, acidez intercambiable mediante extracción con KCl 1M, fósforo asimilable por el método de Bray II, nitrógeno total por el método de micro-Kjeldahl, N-NH₄ y N-NO₃ mediante extracción con KCl 2M destilación con MgO y aleación de Devarda respectivamente. Contenido total de carbono (CT), hidrógeno total (HT) y nitrógeno total (NT) mediante analizador elemental LECO 1000 (IGAC, 2006).

3.3.5 Actividades enzimáticas del suelo

La actividad ureasa (EC 3.5.1.5) fue determinada usando urea como sustrato, con base en el método descrito por (Alef y Nannipieri, 1995). La actividad proteasa (EC 3.4.2.21-24) usando caseína como sustrato (Ladd y Butler, 1972). La actividad fosfatasa ácida y alcalina (EC 3.1.3.2 y 3.1.3.1 respectivamente) usando p-nitrofenilfosfato de sodio como sustrato (Tabatabai y Bremner, 1969; Eivazi y Tabatabai, 1988). La actividad fosfodiesterasa (EC 3.1.4.1) usando bis-p-nitrofenilfosfato de sodio como sustrato (Browman y Tabatabai, 1978). La actividad β -glucosidasa (EC 3.2.1.21) usando p-nitrofenil- β -D-glucosido como sustrato (Eivazi y Tabatabai, 1988). La actividad deshidrogenasa (EC 3.1.4.1) usando cloruro de trifeniltetrazolium como sustrato (Öhlinger, 1996). Para la determinación de la actividad ureasa, proteasa y deshidrogenasa (EC 1.1.1.1) se tomaron 0.1g de suelo y para las actividades fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, fosfodiesterasa y β -glucosidasa se tomaron 0.2 g de suelo. Las cantidades de reactivos y sustratos fueron modificados de acuerdo con la cantidad de suelo utilizada. La actividad ureasa se expresó como $\mu\text{g N g}^{-1}\text{dw } 2 \text{ h}^{-1}$. La actividad proteasa fue expresada como $\mu\text{g tyr} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dm} \cdot 2 \text{ h}^{-1}$. La actividad fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, fosfodiesterasa y β -glucosidasa fueron expresadas como $\mu\text{g pNP g}^{-1}\text{dw h}^{-1}$. La actividad deshidrogenasa fue expresada como $\mu\text{g TPF} \cdot \text{g}^{-1} \text{ dm} \cdot 16\text{h}^{-1}$. Todas las actividades enzimáticas se determinaron por triplicado.

3.3.6 Análisis estadístico

Se analizaron los supuestos de homogeneidad de varianzas y de normalidad mediante la prueba de Bartlett y Shapiro-Wilk. No obstante, debido a que los datos no soportaron el supuesto de normalidad, se realizaron pruebas no-paramétricas de Kruskal-Wallis y de medias con Wilcoxon con un nivel de significancia $P \leq 0.05$ para determinar diferencias estadísticamente significativas. Lo anterior se realizó con el Software R 2.10.0 versión libre. Posteriormente, se aplicaron herramientas de análisis multivariado de datos (AMD) como análisis de componentes principales (ACP), con el software SPAD v.7.

3.4 Resultados y Discusión

3.4.1 Caracterización taxonómica suelos

Los suelos descritos en la vereda El Bosque del PNN Los Nevados (Anexo B) corresponden a derrubios de pie de vertiente, donde se encuentran materiales provenientes de laderas de pendientes fuertes, arrastrados por acción de la gravedad y acumulados al pie de las vertientes, los cuales se encuentran sobre mantos gruesos de cenizas volcánicas. En la zona de estudio se observan derrubios antiguos que han sido enterrados por materiales piroclásticos. De acuerdo con el estudio general de suelos del IGAC (2004), los agroecosistemas muestreados se encuentran en dos unidades climáticas. El agroecosistema Buenos Aires, está en un clima extremadamente frío pluvial, en los alrededores de la laguna de Otún entre 3.600 y 4.000 msnm, con temperaturas medias diarias de 6 a 9°C y precipitación promedio anual de 2.000 a 4.000 mm. En esta región se presenta un microclima debido a la circulación más intensa de vientos locales como consecuencia de la presencia de mayores alturas del nevado de Santa Isabel (IGAC, 2004). Los agroecosistemas El Edén y La Secreta, están en un clima muy frío y muy húmedo, con altitudes entre 3.000 y 3.600 msnm, temperaturas medias diarias de 9 a 12°C y precipitación media anual entre 1.000 y 2.000 mm.

Los suelos pertenecen al orden Andisol. Tipyc Haplocryands en la finca Buenos Aires y Thaptic Hapludands en las fincas La Secreta y El Edén. Estos suelos tienen propiedades ándicas en el 60% o más del grosor, esto es: baja densidad aparente, alta retención de fosfatos y fertilidad variable (SSS, 2010). Los suelos son jóvenes y la mayoría de nutrientes están presentes en formas no disponibles para las plantas. Su capacidad de fijación de fósforo es alta, debido a que son derivados de cenizas volcánicas (Wada, 1980 ; Van Reeuwijk, 1989). Los suelos encontrados concuerdan parcialmente con los reportados por el estudio general de suelos del IGAC (2004). En áreas donde estaban reportados suelos Lithic Cryandept se encontraron Tipyc Haplocryands y donde se habían descrito suelos Fluventic Humitropept se encontraron suelos Thaptic Hapludand. Esto es explicado por el nivel de menor detalle del estudio del IGAC (2004), por cuanto fue un estudio general de suelos y este trabajo se hizo a nivel de finca.

Como resultado de la combinación del clima frío y húmedo, la tasa de descomposición de la materia orgánica (MO) en estos suelos es baja (Cleef, 1981; Monasterio y Sarmiento, 1991; Luteyn, 1992; Hofstede, 1995), debido a que se forman complejos muy estables con materiales inorgánicos no cristalinos que dificultan su degradación (Wada, 1980 ; Van Reeuwijk, 1989; Jaramillo y Daniel, 2002). Al respecto se ha planteado que los andisoles andinos tienen alto contenido de carbono y son vulnerables a la erosión debido a la intensificación de la agricultura y la deforestación (Henry *et al.*, 2013). Se considera que el CO almacenado en estos suelos es

importante para la mitigación del aumento del carbono atmosférico asociado al cambio climático (Henry *et al.*, 2013).

3.4.2 Parámetros fisicoquímicos del suelo

Como se desprende de la Tabla 3-1 ninguno de los parámetros físicos bajo estudio presentó diferencias estadísticamente significativas debido al uso (ganadería, papa o páramo), al momento de muestreo y al factor finca (diferencias en altitud). Esto indica que para el caso del impacto del cultivo de papa y la ganadería en la vereda El Bosque, las prácticas agropecuarias no han sido lo suficientemente intensivas como para que estos parámetros cambien de manera significativa, lo cual puede ser atribuido a los periodos de descanso entre cada cultivo de papa (barbecho superior a 7 años) y a la baja intensidad ganadera de la zona, medida en la relación cabezas de ganado/has (0.24 – 0.36).

Tabla 3-1: Propiedades físicas y químicas promedio para los diferentes factores evaluados (uso, época, finca) en la vereda El Bosque PNN Los Nevados

FACTOR		Θg	Dap	DPM	pH	CO	N	P	Ca	K	Mg	Na	Al	CIC
		%	g cm ⁻³	mm	%	%	cmol kg ⁻¹							
USO n=18	Páramo	79.6a	0.7a	12.4a	5.3a	8.0a	0.65a	6.9 a	7.5a	0.5a	2.2a	0.1a	1.0a	44.3a
	Cultivo	48.1 a	0.7a	11.6a	5.3a	6.3ab	0.52a	34.5a	4.1b	0.2b	0.8a	0.3a	1.1a	32.4b
	Ganadería	53.8 a	0.9a	12.0a	5.5a	6.0b	0.51a	21.3a	3.5b	0.4ab	0.9a	0.2a	0.6a	31.8b
ÉPOCA n= 27	Invierno	62.4 a	0.7a	12.3a	5.3a	5.8a	0.52a	21.1a	4.9a	0.4a	1.3a	0.3a	1.0a	32.3a
	Sequía	58.6 a	0.8a	11.7a	5.4a	7.7b	0.60b	21.3a	5.1a	0.4a	1.2a	0.1a	0.8a	40.0b
FINCA n-18	Buenos Aires	59.8 a	0.8a	10.4a	5.2a	7.2a	0.52a	16.8a	4.5a	0.4 a	1.4a	0.1a	1.2a	36.7a
	El Edén	59.6 a	0.7 a	12.8a	5.4a	7.4a	0.64a	26.2a	6.9b	0.4 a	1.5a	0.1a	0.9a	37.1a
	La Secreta	62.7 a	0.8 a	12.7a	5.4a	5.7b	0.52a	20.9a	3.7a	0.4 a	1.0a	0.4a	0.7a	34.5a

Θg: humedad gravimétrica; Dap: densidad aparente; DPM: diámetro ponderado medio; CO: carbono orgánico; CIC: capacidad de intercambio catiónico. n=número de réplicas. Letras diferentes en cada factor indican diferencias estadísticamente significativas.

Sin embargo, es interesante notar que al comparar la humedad gravimétrica en los tres usos del suelo la tendencia es páramo > ganadería > cultivo de papa. La mayor humedad en suelos bajo páramo puede ser debida a la presencia de capa vegetal nativa que protege el suelo, la cual es removida durante el cultivo de papa y la ganadería. La ganadería presentó mayor humedad con respecto al cultivo de papa, estos datos son coincidentes con los reportados por Otero *et al* (2011), quienes indicaron 92.1% de humedad en suelos bajo pasturas y 67.7 % en papa, lo cual puede deberse al efecto protector que generan las pasturas en el caso de la ganadería, con respecto al suelo descubierto durante el cultivo de papa. La humedad edáfica fue menor en época de sequía con respecto a la época de lluvias lo cual es consistente con el criterio de menores precipitaciones durante la época de sequía. Los mismos resultados encontró Hofstede (1995) para la época seca y lluviosa en el Parque de Los Nevados (Hofstede, 1995). La humedad gravimétrica para los suelos de este estudio estuvo entre 48.1 y 79.6%, las cuales se encuentran en la categoría de muy alta humedad gravimétrica (Montenegro, 1991).

Aunque sus diferencias tampoco fueron estadísticamente significativas, la densidad aparente en suelos bajo ganadería fue mayor que en el cultivo de papa y páramo (0.9 vs 0.7 g/cm³). Esto

puede ser reflejo de un leve aumento en la compactación del suelo por acción del pisoteo del ganado. La densidad aparente de los suelos encontrada es similar a la reportada por Hofstede (1995) para el PNN Los Nevados, quien indica densidades aparentes inferiores a 1 g.cm^{-3} . De igual manera, son acordes con lo esperado para suelos ándicos (SSS, 2010). Así mismo la estabilidad estructural con relación al diámetro ponderado medio estuvo entre 10.4 y 12.8 mm, lo cual hace que los suelos de la zona se encuentren en la categoría de muy estables (Montenegro, 1991).

Como se observa en las Tablas 3-1 y 3-2 los parámetros químicos que mostraron diferencias estadísticamente significativas debidas al uso del suelo (cultivo de papa, ganadería y páramo) fueron CO, CIC, Ca, K y NH_4 . Las propiedades con diferencias estadísticamente significativas asociadas al momento de muestreo fueron CO, N, CIC, %C, C/N y NO_3 . De las cuales, solamente el CO presentó diferencias por los tres factores evaluados (uso, época de muestreo y finca). Los demás parámetros (pH, P, Na, Al, Mg) no fueron diferentes estadísticamente en función de ninguno de los factores evaluados.

Tabla 3-2: Propiedades químicas promedio para los diferentes factores evaluados (uso, época, finca) en la vereda El Bosque PNN Los Nevados

FACTORES		CT	HT %	NT	C/N	NH_4 mg kg^{-1}	NO_3
USO n=18	Páramo	9.4a	1.5a	0.5a	26.1a	36.7a	18.6a
	Cultivo	7.7a	1.3a	0.4a	20.6a	15.1ab	17.7a
	Ganadería	6.9a	1.3a	0.3a	20.0a	13.2b	15.6a
ÉPOCA n= 27	Invierno	7.5a	1.2a	0.4a	23.3a	29.0a	22.1a
	Sequía	8.7b	1.6b	0.4a	20.0b	14.3a	12.5b
FINCA n-18	Buenos Aires	9.0a	1.4a	0.4a	23.3a	28.6a	15.4a
	La Secreta	7.0a	1.4a	0.4a	20.0a	14.7b	19.2a

CT: carbono total; HT: hidrógeno total; NT: nitrógeno total. n=número de réplicas. Letras diferentes en cada factor indican diferencias estadísticamente significativas.

El comportamiento del CO (carbono orgánico fácilmente oxidable) presentó la siguiente tendencia: páramo > cultivo de papa > ganadería, siendo estadísticamente diferente entre suelos de páramo y ganadería, pero no entre los de papa y ganadería. Al respecto Otero *et al* (2011) reportaron comportamientos similares de la MO en suelos bajo cultivo de papa y ganadería en páramo. Resultados similares se encontraron en el Parque Nacional Natural Chingaza y en el PNN Los Nevados donde el carbono total almacenado en el perfil del suelo fue menor en ecosistemas intervenidos de alta montaña con respecto a los no intervenidos (Zúñiga-Escobar *et al.*, 2013). La disminución del CO fácilmente oxidable en suelos bajo cultivo de papa y ganadería reportados en el presente estudio pueden deberse a la pérdida de cobertura vegetal nativa generada en la ganadería con respecto al páramo, lo que genera la exposición del suelo a factores ambientales como el agua, el aire y la radiación solar que pueden aumentar la erosión (Otero *et al.*, 2011). También se ha planteado que la pérdida de CO del suelo se produce cuando los aportes de MO se reducen, cuando las tasas de descomposición de los residuos de los cultivos se incrementan, o cuando la protección física del carbono del suelo se reduce, por ejemplo, en los procesos destructivos a través de la labranza del suelo (Post y Kwon, 2000; Henry *et al.*, 2013). De igual manera, se ha planteado que la labranza produce una reducción del contenido de MO, debido a una mayor mineralización de los residuos de los cultivos, la alteración de los agregados del suelo y el

aumento de la aireación (Sainju *et al.*, 2003). En contraste, la labranza de conservación (labranza reducida y prácticas de labranza cero) aumentan el CO del suelo en la capa superficial (Six *et al.*, 1998; Sainju *et al.*, 2003; López-Bellido *et al.*, 2010; Melero *et al.*, 2011), mejora su agregación, y preserva los recursos del suelo mejor que las prácticas convencionales de labranza (Melero *et al.*, 2011). Así mismo, se ha planteado que los cambios en el uso del suelo pueden aumentar la erosión por el cambio de cubierta vegetal y la labranza, pero el destino del carbono en los suelos erosionados todavía es objeto de debate. Los procesos de erosión del suelo se han descrito como la redistribución parcial por el enterramiento de carbono en el suelo por la erosión, y por la emisión del resto de carbono a la atmósfera (Lal, 2004; Henry *et al.*, 2013).

Se presentaron disminuciones en el CT, NT y C/N (determinadas mediante analizador elemental LECO) producto del cultivo de papa y la ganadería (Tabla 3-2). Sin embargo, ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa. Esto puede deberse a que si bien el cultivo de papa y la ganadería generan procesos de remoción de la capa vegetal del suelo, estos no son lo suficientemente drásticos como para generar respuesta por parte de estos indicadores, los cuales, en contraste con el CO determinado por el método de Walkley Black (carbono fácilmente oxidable), expresan los contenidos totales de carbono, hidrógeno y nitrógeno por combustión seca. Al parecer la práctica de realizar máximo dos cultivos de papa sobre un mismo terreno y luego permitir el descanso del mismo (en uso de ganadería) ha contribuido a disminuir los impactos sobre el carbono de mayor complejidad y estabilidad molecular (sustancias húmicas). Un indicativo de esto es la relación C/N la cual es un estimativo de la disponibilidad de la MO como fuente de nutrientes para las plantas, es decir, de un proceso favorable de mineralización; así un valor elevado de la relación C/N, indica bajas tasas de mineralización (Avellaneda *et al.*, 2005). En ese sentido, se evidencia que los suelos bajo páramo han tenido menores procesos de mineralización (por tanto mayores procesos de humificación) con respecto a los suelos bajo cultivo de papa y ganadería, sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas, lo que indicaría que estos procesos agropecuarios no están afectando significativamente los procesos de mineralización y humificación de las sustancias orgánicas de mayor complejidad molecular del suelo.

El CO, CT, C/N y NO₃ presentaron aumentos significativos durante la época de sequía con respecto a la época de lluvia. Esto puede deberse a la acción de factores ambientales como el mayor contenido de agua que aumenta la erosión del suelo con la subsecuente pérdida de CO (Otero *et al.*, 2011). La consistencia entre los resultados del método de Walkley Black con los del analizado LECO pueden ser un indicador de que las condiciones climáticas están presentando mayores impactos tanto sobre los MO fácilmente oxidable, como sobre aquella de mayor complejidad y estabilidad molecular, con respecto a los efectos generados por el cultivo de papa y la ganadería

Se presentó una disminución estadísticamente significativa del CO en el agroecosistema La Secreta con respecto a los otras dos debido a su menor altura sobre el nivel del mar, lo cual puede aumentar la temperatura media del agroecosistema y por tanto el aumento de la degradación de la MO, factor que incluso se refleja en la taxonomía del suelo (Cryand vs Udand). No obstante debe mencionarse que el CO determinado en los suelos de estudio estuvo entre 5.7 y 8.0%, lo cual hace que todos los suelos evaluados se encuentren en la categoría de CO alto (ICA, 1992).

La capacidad de intercambio catiónico y el NH₄ fueron significativamente menores en suelos bajo cultivo de papa y la ganadería. Así mismo, la CIC presentó un aumento significativo para

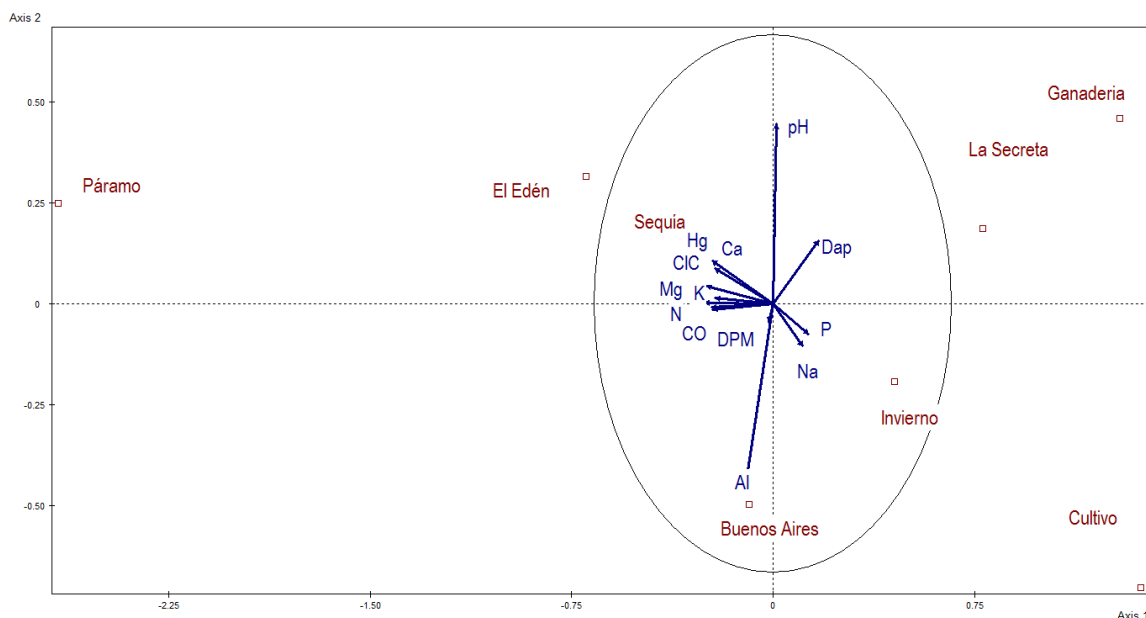
la época de sequía con respecto a la de lluvias. Esto puede estar asociado a la pérdida de MO previamente discutida, generada por los cambios de cubierta vegetal y la exposición del suelo a factores ambientales como el agua, el aire y la radiación solar. Así mismo, el menor contenido de NH_4^+ en los suelos del agroecosistema La Secreta con respecto a Buenos Aires puede explicarse por los menores contenidos de MO reportados para La Secreta y discutido en párrafos anteriores. La capacidad de intercambio catiónico se encontró entre 31.8 y 44.3 cmol kg^{-1} lo cual corresponde a la categoría de alta capacidad de intercambio catiónico (Galiano, 1991; ICA, 1992), valores que correlacionan bien con los elevados contenidos de materia orgánica y las características ándicas de los suelos estudiados.

Al analizar los contenidos de Ca y K se observa que hay una disminución significativa producto del cultivo de papa y la ganadería, lo cual puede deberse a la extracción sucesiva de nutrientes generadas por los cultivos, así como a un proceso simultáneo de fijación de nutrientes producto de los complejos órgano-minerales propios de los andosoles, los cuales generan como saldo total un alto contenido de nutrientes, pero cuya disponibilidad es baja para las plantas (Hofstede, 1995).

El contenido de fósforo presentó la siguiente tendencia cultivo de papa > ganadería > páramo, lo cual puede ser un indicativo del uso de los fertilizantes de tipo N:P:K. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas, lo que indica que estas prácticas no son intensivas en la zona. El contenido de fósforo tampoco presentó diferencias con respecto al momento de muestreo ni la altura de las fincas. Se encuentra en el rango de 6.9 a 34.5 cmol kg^{-1} ubicándose en la categoría bajo a medio (Hanke, 1991; ICA, 1992), característica de suelos andicos, conocidos por su alta fijación fosfórica.

El AMD de las variables fisicoquímicas (Figura 3-1) presentó una varianza acumulada del 63% para los dos primeros ejes. En este análisis se observan diferencias en el comportamiento del páramo con respecto al cultivo de papa y la ganadería, indicando diferencias producto del uso del suelo sobre las propiedades fisicoquímicas del mismo. De acuerdo con los eigenvectores normados 1 las variables que más información están aportando al análisis son: Mg (-0.39), CIC (-0.37), CO (-0.34), N (-0.34), Ca (-0.34), presentándose mayores valores de estos indicadores en los suelos bajo páramo con respecto a los de papa y ganadería. Esto se encuentra acorde con lo discutido previamente acerca de que son mayores los procesos de conservación de la MO en los suelos bajo páramo, dado que al mantenerse con menor perturbación y mayor vegetación nativa permiten la estabilidad de los procesos de ciclaje de la MO, aportando mayor CO, CIC, N y θ_g con respecto a los suelos de cultivo de papa y ganadería. El aumento de MO en los suelos puede llevar a beneficios en las propiedades físicas y químicas del suelo como son el contenido de agua del suelo, el N total, la capacidad de intercambio catiónico y la estabilidad de los agregados (López-Piñeiro *et al.*, 2013). Por otro lado, en el cultivo de papa se presenta un mayor contenido de fósforo (eigen 1: 0.20), el cual indicando los efectos de la fertilización química fosfórica en el cultivo de papa. En el caso de la ganadería se presenta una mayor densidad del suelo (eigen 1: 0.25), lo que indicaría procesos de compactación producto del pisoteo del ganado.

Figura 3-1: ACP de parámetros fisicoquímicos en suelos evaluados de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados



Hg: humedad gravimétrica; Dap: densidad aparente; DPM: diámetro ponderado medio; CO: carbono orgánico; CIC: capacidad de intercambio catiónico.

Al analizar los cambios producto de la época de muestreo se observan algunas diferencias, en época seca se presentaron mayores valores de Mg, CIC, CO, N y Ca, concordante con lo discutido previamente en el análisis univariado, con respecto a que en la época de lluvias se presentan mayores procesos de erosión y lixiviación de nutrientes. El ACP no indica una tendencia específica producto de la altura de las fincas al determinar sus parámetros fisicoquímicos.

Las variables que presentan mayor correlación son CIC y CO (0.90), CO y N (0.86), Mg y Ca (0.86), Θ_g y Mg (0.85), CIC y N (0.83) y CIC y Mg (0.83). Por otro lado, se reportan relaciones inversamente proporcionales entre el contenido de CO y N con el contenido de P de los suelos. Esta situación puede ser debida, por un lado, al aumento de aplicaciones de fertilizantes que incluyen en su formulación un alto contenido de fósforo y por otro a los diferentes niveles de alofana que reducen la disponibilidad del fósforo a través de aumento de la formación de complejos con la MO del suelo que aumentan su fijación (Henry *et al.*, 2013). Por otra parte el volcamiento del suelo por efecto del arado hace que este se seque superficialmente y que se liberan muchos de los nutrientes inmovilizados en el medio edáfico (FEDEPAPA *et al.*, 2004), en este caso el fósforo que puede estar encapsulado en los complejos órgano minerales de la alofana y la MO.

3.4.3 Actividades enzimáticas

Se puede observar que las actividades β -glucosidasa, fosfodiesterasa y ureasa disminuyeron significativamente en los suelos bajo cultivo de papa y ganadería con respecto a los de páramo. En contraste (Tabla 3-3), las actividades fosfatasa ácida y proteasa aumentaron

significativamente en función de los usos del cultivo de papa y la ganadería. Las actividades fosfatasa alcalina y deshidrogenasa no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 3-3: Actividades enzimáticas promedio para los suelos de estudio para los diferentes factores evaluados (uso, época, finca) en la vereda El Bosque PNN Los Nevados

FACTORES		β -Gluc	Fac	Falc	Fd	Ure	Pro	Des
		$\mu\text{g pNP g}^{-1}\text{ssh}^{-1}$				$\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}\text{ss2h}^{-1}$	$\mu\text{g tyr g}^{-1}\text{ss2h}^{-1}$	$\mu\text{g TPF g}^{-1}\text{ss16h}^{-1}$
USO n=54	Páramo	299.6a	752.4a	86.4a	18.0a	53.4a	732.2a	218.3a
	Cultivo	220.4b	788.9ab	80.6a	12.4b	36.8a	886.8b	219.3a
	Ganadería	215.6b	851.5b	66.0a	12.9b	0.9b	866.2b	5.3a
ÉPOCA n= 81	Invierno	234.2a	785.3a	74.3a	13.3a	34.0a	749.4a	337.2a
	Sequía	256.1a	805.2a	81.2a	15.5b	26.9a	904.2b	44.2a
FINCA n=54	Buenos Aires	248.4b	907.0a	70.5a	13.8a	43.5a	785.5a	2.3a
	El Edén	302.3a	852.6a	84.4a	15.0a	39.8a	853.2a	147.8a
	La Secreta	184.7c	626.2b	78.4a	14.3a	8.0b	841.6a	289.5a

β -Gluc: β -Glucosidasa; Fac: fosfatasa ácida; Falc: fosfatasa alcalina; Fd: fosfodiesterasa; Ure: ureasa; Proteasa: proteasa; Des: deshidrogenasa. n=número de réplicas. Letras diferentes en cada factor indican diferencias estadísticamente significativas.

La disminución de la actividad β -glucosidasa asociada al cultivo de papa y ganadería es relevante dado que esta enzima está implicada en la catálisis de la hidrólisis y biodegradación de diversos glucósidos presentes en los residuos vegetales (Ajwa y Tabatabai, 1994; Martínez y Tabatabai, 1997; Bakshi y Varma, 2011). Su producto final es la glucosa y es una importante fuente de energía para los microorganismos del suelo (Esen, 1993; Bakshi y Varma, 2011). Por tanto, esta disminución estaría indicando una menor liberación de glucosa a partir de la actividad de esta enzima sobre los sustratos orgánicos, debida a la aplicación de agroinsumos que pueden inhibir la actividad microbiana. Esta situación restringe la degradación de compuestos celulósicos que hacen parte de la MO del suelo. Así mismo, la menor actividad enzimática puede ser entendida como un proceso más lento del metabolismo del carbono, específicamente de la ruptura de los dímeros de glucosa, así como una disminución en la MO del cultivo de papa y ganadería con respecto al páramo. Lo anterior confirma diversos reportes en los que se indica que la actividad β -glucosidasa es una enzima sensible a las prácticas de manejo de los suelos (Acosta-Martínez y Tabatabai, 2000; Madejón *et al.*, 2001; Bakshi y Varma, 2011).

La disminución significativa de la actividad fosfodiesterasa asociada a la ganadería y de la fosfatasa alcalina (no significativa) indican que en cultivo de papa y ganadería se están llevando a cabo menores procesos de conversión de fosfodíesteres orgánicos y MO en condiciones alcalina hacia sus formas inorgánicas, disminuyendo la disponibilidad del fósforo en el suelo por la vía de estas enzimas, pues como se ha planteado, las fosfatasas son un amplio grupo de enzimas capaces de catalizar hidrólisis de ésteres y anhídridos de ácido fosfórico (Bakshi y Varma, 2011). La disminución en la actividad fosfodiesterasa y fosfatasa alcalina puede ser debida al menor contenido de MO en los suelos bajo cultivo de papa y ganadería, así como a la disminución de la actividad microbiana producto de la aplicación de agroquímicos en el sistema de cultivo de papa en rotación con ganadería. Al respecto de este último caso, se han reportado disminuciones progresivas con el aumento del periodo de incubación de la actividad de la fosfatasa en presencia de clorpirifos (Lorsban aplicado al cultivo de papa). Respuestas similares se han observado en presencia de Metil Paratión,

Diclorvos y Metomilo (Madhuri y Rangaswamy, 2002; Rani *et al.*, 2008; Gianfreda y Rao, 2011). En el caso de la fosfatasa alcalina, esta disminución podría indicar pérdida de eficiencia en los procesos de colonización simbiótica de la raíz, pues varias investigaciones indican que dicha enzima se produce en las raíces, principalmente después de colonización de micorrizas, por lo cual se ha propuesto como un marcador para el análisis de la eficiencia simbiótica de colonización de la raíz (Tisserant *et al.*, 1993; Bakshi y Varma, 2011). Lo anterior confirma el planteamiento acerca de que las fosfatasas difieren por el tipo de cobertura del suelo y las prácticas de manejo de los cultivos (Wright y Reddy, 2001; Ndakidemi, 2006; Bakshi y Varma, 2011).

De acuerdo con el párrafo anterior la disminución en la actividad de la fosfodiesterasa y fosfatasa alcalina está de acuerdo con lo reportado por la mayoría de la literatura. Sin embargo, para la actividad fosfatasa ácida se presentó el comportamiento inverso (aumentos en el cultivo de papa y ganadería), resultado contradictorio con lo reportado por otros autores quienes sustentan que el aumento del contenido de fósforo en el cultivo de papa en rotación con ganadería producto de la aplicación de fertilizantes del tipo N:P:K, incrementa los contenidos de fósforo en el suelo e inhibe la actividad de las fosfatasas (Das y Varma, 2011). En contraste, la deficiencia de fósforo en el suelo (en este caso en los suelos bajo páramo que no tienen aplicación adicional de fósforo), no aumentó la secreción de fosfatasa ácida por las raíces de la planta para mejorar la solubilización del nutriente que se encuentra fijado, como lo reporta, (Das y Varma, 2011). Al respecto se ha planteado que un aumento de la producción de las enzimas fosfatasa por raíces de las plantas y los microorganismos pueden ser inducidas cuando la cantidad de fósforo es limitada. En consecuencia, un aumento en la actividad fosfatasa ácida puede reflejar una gran demanda de este macronutriente (Salazar *et al.*, 2011). En este caso, la actividad fosfatasa ácida pudo haber sido promovida por acción del cultivo de papa y la ganadería, lo que podría explicarse debido a un aumento de la actividad microbiana al tener un mayor contenido de nutrientes que promueve el crecimiento de los microorganismos. Sin embargo, el comportamiento de esta enzima en las condiciones de estudio aún no es claro.

Es posible que la degradación de fosfodiésteres del suelo (fosfodiesterasa) y fósforo orgánico en condiciones alcalinas (fosfatasa alcalina) sea mayor en la MO que ha sufrido menores perturbaciones (páramo) y que además es inhibida en el cultivo de papa y la ganadería por adición de plaguicidas. Mientras que en el caso de la degradación de fósforo orgánico en condiciones ácidas (fosfatasa ácida), la cual es más común en estos suelos ácidos y extremadamente ácidos, se priorice la actividad de esta enzima para la producción de fósforo inorgánico de alta demanda en el cultivo de papa-ganadería, en el cual se estaría usando la aplicación de fertilizantes para promover la actividad microbiana.

La actividad ureasa presentó la tendencia páramo > cultivo de papa > ganadería, siendo significativa la diferencia entre ganadería y los otros dos usos. Esto puede ser debida a la inhibición microbiana producto de la aplicación de agroquímicos durante el cultivo de papa en rotación con los pastos. Con relación a esto también se ha reportado que las actividades enzimáticas del suelo pueden ser inhibidas por la fertilización nitrogenada (Aon *et al.*, 2001; Karaca *et al.*, 2011). Así mismo, se ha reportado que la ureasa disminuye con una alta sensibilidad frente al impacto del clorpirifos (Gianfreda y Rao, 2011).

La actividad proteasa en los suelos aumentó significativamente con el cultivo de papa y la ganadería, tendencia similar a la reportada para la actividad fosfatasa ácida. Esto indica que estas prácticas agropecuarias promovieron la degradación de los residuos proteicos de la MO,

probablemente debido al aumento de la población microbiana producto de las fertilizaciones asociadas al cultivo de papa. La actividad proteasa tuvo un comportamiento inverso al de la ureasa al respecto se han encontrado resultados similares en consorcios de morfotipos bacterianos, en donde posiblemente eran mayores los procesos de producción de oligopéptidos a partir de las proteínas, con la subsecuente liberación de compuestos de bajo peso molecular y aminoácidos, que la hidrólisis de urea o de sustratos de tipo ureico para producir CO_2 y NH_3 como productos de reacción (Avellaneda-Torres *et al.*, 2012).

La actividad deshidrogenasa no reportó diferencias estadísticamente significativas producto del uso del suelo, de la época de muestreo o de la altura de las fincas. Sin embargo, presentó disminuciones en suelos bajo ganadería. La actividad deshidrogenasa se considera un indicador del metabolismo oxidativo en los suelos y de la respiración de los microorganismos la cual está estrechamente relacionada con el tipo de suelo y las condiciones aire-agua (Trevors, 1984; Bakshi y Varma, 2011) y en consecuencia con los usos del suelo y las prácticas de manejo. Sin embargo, la relación entre esta propiedad bioquímica a nivel individual y la actividad microbiana total no siempre es evidente, especialmente en el caso de sistemas complejos como el medio edáfico, en el que los microorganismos y procesos implicados en la degradación de los compuestos orgánicos son muy diversos (Nannipieri *et al.*, 1990; Salazar *et al.*, 2011)

La actividad β -glucosidasa, fosfatasa ácida, fosfatasa alcalina, fosfodiesterasa y proteasa fueron mayores durante la temporada de sequía con respecto a la de invierno, lo cual es coherente con el mayor contenido de CO reportado para la época seca en los párrafos anteriores. Sin embargo, estas diferencias solo fueron estadísticamente significativas en el caso de la fosfodiesterasa y la proteasa.

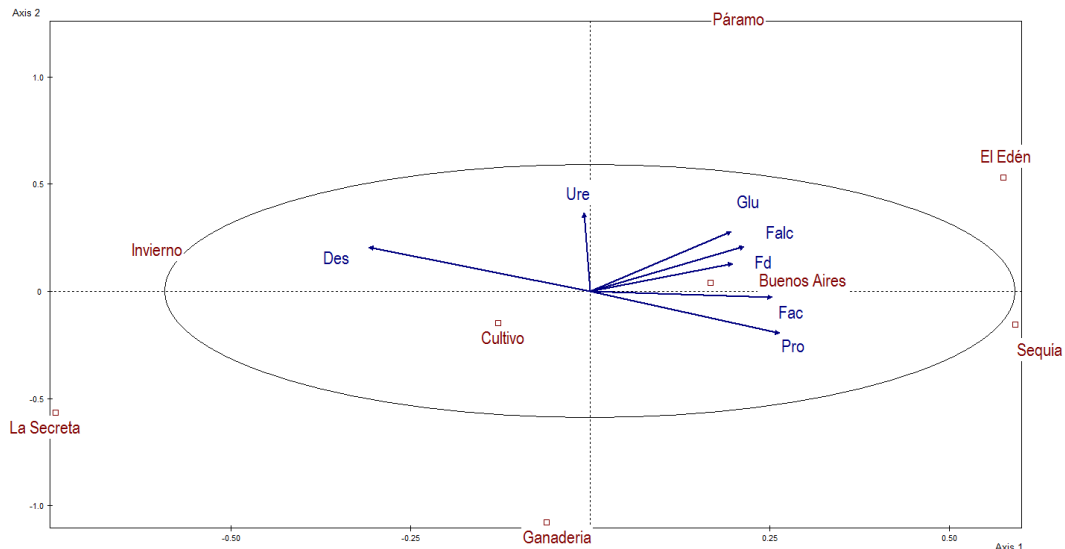
Las actividades β -glucosidasa, fosfatasa ácida y ureasa disminuyeron estadísticamente en la finca La Secreta con respecto a las otras dos fincas, comportamiento atribuible a las diferencias de MO (fincas de mayor altura presentan mayores contenidos de CO).

El análisis multivariado de las actividades enzimáticas presentó una varianza acumulada de 54.2% para los dos primeros ejes y de 71.8% para los tres primeros ejes, por lo cual se decidió analizar la representación gráfica del eje 1 y 2 (Figura 3-2) y del eje 1 y 3 (Figura 3-3). En este análisis se observan diferencias en el comportamiento enzimático del suelo páramuno con respecto al del cultivo de papa y ganadería. La Figura 3-2 (eje 1 y 2) muestra que las actividades fosfodiesterasa y fosfatasa alcalina son mayores para el suelo bajo páramo, tendencia confirmada en la Figura 3-3 (eje 1 y 3). Así mismo, en las Figuras 3-2 y 3-3 se observa que las actividades fosfatasa ácida y proteasa son mayores en los suelos bajo cultivo de papa y ganadería. Lo anterior podría indicar que la actividad de las diversas enzimas involucradas en un mismo ciclo geoquímico no necesariamente es de tipo sinérgico sino que pueden presentarse relaciones inversas, como ha reportado previamente Avellaneda-Torres (2012). El aporte de las variables al análisis de acuerdo con los eigenvalor normados 1 son: Fd (0.33), b-glu (0.33), Fac (0.43), Falc (0.33), Ure(-0.01 eigen 1 y 0.60 eigen 2), Pro (0.44), Des (-0.52).

Al analizar los cambios producto del momento del muestreo se observa en las Figuras 3-2 y 3-3 que durante la época de sequía se aumentaron las actividades fosfatasa ácida, alcalina, β -glucosidasa, proteasa y fosfodiesterasa, debido posiblemente al aumento de MO que estimula la actividad microbiana. En este sentido la actividad de muchas enzimas a menudo se ha correlacionado con la cantidad de MO, pues esta incide en la biomasa microbiana del suelo y

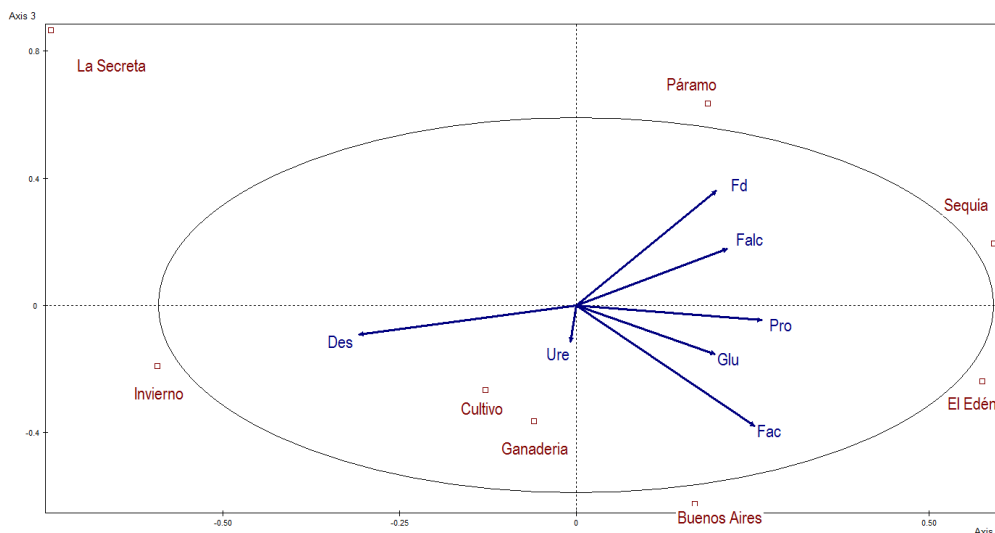
en la humedad. Así mismo, se han reportado correlaciones positivas entre la MO y la actividad β -glucosidasa, proteasa y fosfatasa (Gispert *et al.*, 2013), cambios en las actividades enzimáticas producto de la estacionalidad, sugiriendo que las fluctuaciones en las actividades enzimáticas se presentan en función de cambios estacionales y condiciones ambientales tales como temperatura del suelo y el contenido de humedad (Yuan *et al.*, 2012)

Figura 3-2: ACP actividades enzimáticas en suelos evaluados de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados. Ejes 1 y 2.



Glu: β -Glucosidasa; Fac: fosfatasa ácida; Falc: fosfatasa alcalina; Fd: fosfodiesterasa; Ure: ureasa; Proteasa: proteasa; Des: deshidrogenasa.

Figura 3-3: ACP actividades enzimáticas en suelos evaluados de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados. Ejes 1 y 3.



Glu: β -Glucosidasa; Fac: fosfatasa ácida; Falc: fosfatasa alcalina; Fd:fosfodiesterasa; Ure: ureasa; Proteasa: proteasa; Des: deshidrogenasa.

Los análisis de componentes principales de las actividades enzimáticas no indicaron una tendencia específica producto de la altura de las fincas. En general se reportó alta correlación entre fosfodiesterasa, fosfatasa alcalina, y β -glucosidasa, y entre proteasa y fosfatasa ácida.

3.4.4 Relaciones entre parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas

El análisis multivariado de las actividades enzimáticas presentó una varianza acumulada de 50.3% para los dos primeros ejes y de 62.1 % para los tres primeros ejes, por lo cual se decidió analizar la representación gráfica del eje 1 y 2 (Figura 3-4) y del eje 1 y 3 (Figura 3-5). En este análisis se observan diferencias en el comportamiento de las variables fisicoquímicas y la actividad enzimática entre los suelos de páramo, de cultivo de papa y de ganadería, análisis que confirma lo reportado en el ACP de fisicoquímicos y de actividades enzimáticas. Al realizar el análisis global y acuerdo con los eigenvector normados 1, las variables que están aportando mayor información al análisis son: Mg (0.36), CIC (0.34), Ca (0.32), NT (0.31), CO (0.30), fd (0.24) y β -gluc (0.21), observándose un incremento de estas variables en suelos bajo páramo con respecto a los que se encuentran bajo cultivo de papa y ganadería. Este proceso puede estar relacionado con las pérdidas de MO generadas producto de la cobertura vegetal y de las labores culturales asociadas al sistema papa-pastos. Varios estudios han confirmado las correlaciones entre actividad de estas enzimas y el CO (Dick *et al.*, 1988; Eivazi y Tabatabai, 1990; Frankenberger y Tabatabai, 1991; Santrucková *et al.*, 2004).

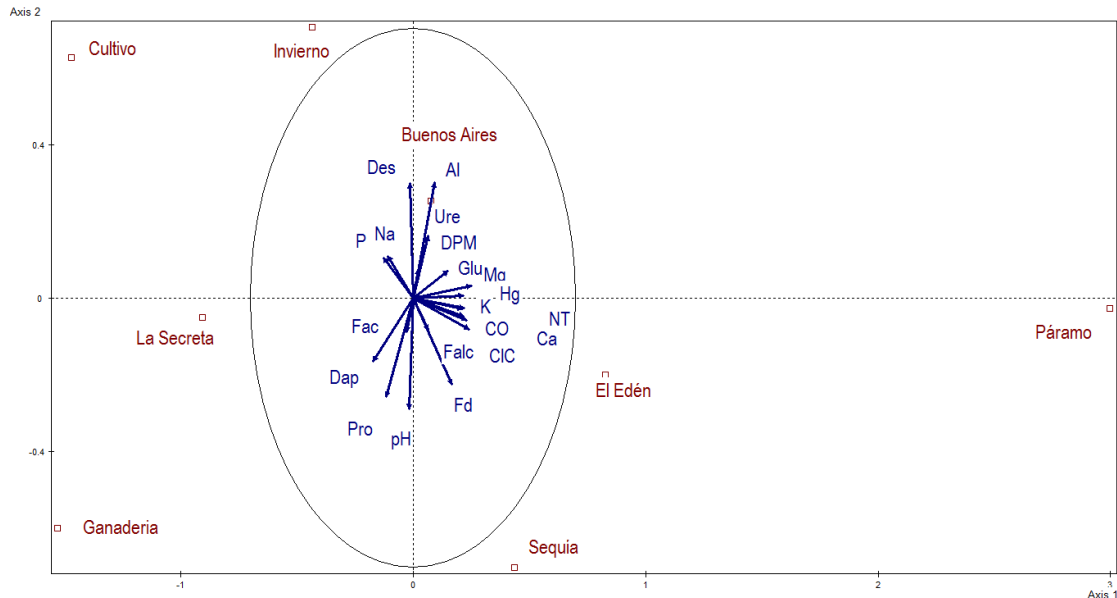
Cuando los sistemas naturales cambian a sistemas agrícolas se generan modificaciones en las propiedades biológicas del suelo, encontrándose actividades enzimáticas superiores (β -glucosidasa, β -glucosaminidasa, arilamidasa, alcalina y fosfatasa ácida, fosfodiesterasa y arilsulfatasa) en las zonas de conservación con respecto a las de uso agrícola (Karaca *et al.*, 2011). Estos resultados son consistentes con los hallazgos de muchos estudios que informaron una disminución de las actividades enzimáticas en suelos cultivados en comparación con los correspondientes no cultivados o menos perturbados (Gianfreda *et al.*, 2005; Acosta-Martínez *et al.*, 2008; Bonanomi *et al.*, 2011). Los sistemas de cultivo también afectan diferencialmente el comportamiento de las enzimas del suelo. En efecto se ha encontrado que la actividad deshidrogenasa, fosfatasas ácida y alcalina, la biomasa microbiana de carbono y los niveles de N fueron menores bajo el sistema de monocultivo que bajo el sistema orgánico y el de rotación de cultivos (Gajda y Martyniuk, 2005; Benintende *et al.*, 2008; Karaca *et al.*, 2011). Así mismo, se ha reportado que parcelas fertilizadas con compost mostraron incremento en actividades de las enzimas (deshidrogenasa, proteasa, β -glucosidasa, y fosfatasa alcalina) (Melero *et al.*, 2007).

Por otra parte se evidenciaron diferencias en los patrones de los parámetros fisicoquímicos y las actividades enzimáticas con respecto a la condición climática. Con relación a esto y de acuerdo con diferentes autores (Nearing *et al.*, 2005), los patrones de precipitación, los cambios climáticos extremos ocurridos en el último siglo en Colombia y otros como los de Otero *et al* (2011), indican un potencial significativo de influencia del cambio climático en la región y esto puede conducir a la creciente tasa de erosión de suelos globales y sus consecuencias, si no se toman con urgencia medidas de conservación para compensar esta preocupante tendencia.

Las mayores correlaciones entre actividades enzimáticas y parámetros fisicoquímicos se presentaron entre β -glu y Ca (0.67), Fd y Ca (0.56), Fd y K (0.58), Fd y CIC (0.68). Al respecto,

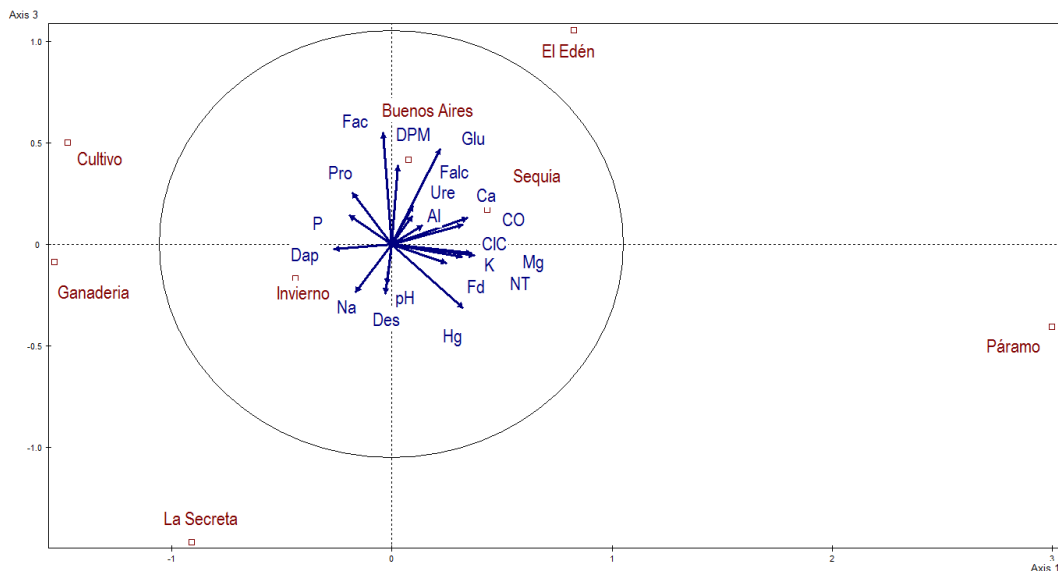
se ha planeado que las mayores correlaciones se presentan entre el CO y las diferentes actividades enzimáticas (Bonanomi *et al.*, 2011; Yuan *et al.*, 2012; Gispert *et al.*, 2013), en el presente estudio también se presentaron dichas correlaciones (en promedio 0.50).

Figura 3-4: ACP actividades enzimáticas y parámetros fisicoquímicos evaluados en suelos de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados. Ejes 1 y 2.



Hg: humedad gravimétrica; Dap: densidad aparente; DPM: diámetro ponderado medio; CO: carbono orgánico; CIC: capacidad de intercambio catiónico. Glu: β -Glucosidasa; Fac: fosfatasa ácida; Falc: fosfatasa alcalina; Fd: fosfodiesterasa; Ure: ureasa; Proteasa: proteasa; Des: deshidrogenasa.

Figura 3-5: ACP actividades enzimáticas y parámetros fisicoquímicos evaluados en suelos de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados. Ejes 1 y 3.



Hg: humedad gravimétrica; Dap: densidad aparente; DPM: diámetro ponderado medio; CO: carbono orgánico; CIC: capacidad de intercambio catiónico. Glu: β -Glucosidasa; Fac: fosfatasa ácida; Falc: fosfatasa alcalina; Fd: fosfodiesterasa; Ure: ureasa; Proteasa: proteasa; Des: deshidrogenasa.

3.5 Conclusiones

Los suelos analizados en la vereda El Bosque pertenecen al orden Andisol; Typyc Haplocryands para la finca Buenos Aires y Thaptic Hapludands para las fincas La Secreta y El Edén. Los parámetros físicos evaluados no presentaron diferencias estadísticamente significativas producto de los factores estudiados (uso, época climática y finca), sin embargo se presentaron diferencias debidas al cultivo de papa y ganadería que aunque no son significativas pueden ser un indicador temprano de cambios futuros en las propiedades físicas del suelo de continuar con las mismas prácticas agrícolas.

Cinco (CO, Ca, K, CIC y NH₄) de los 16 parámetros químicos evaluados presentaron diferencias estadísticamente significativas producto del cultivo de papa y ganadería en el páramo, siendo el principal indicador la disminución del CO.

Se encontró que cinco (β -glucosidasa, fosfodiesterasa, ureasa, fosfatasa ácida y proteasa) de las 7 enzimas evaluadas presentaron diferencias estadísticamente significativas producto del cultivo de papa y la ganadería. La fosfodiesterasa, la fosfatasa alcalina y la β -glucosidasa presentaron disminuciones en su actividad producto del cultivo de papa y la ganadería, mientras que en la proteasa y la fosfatasa ácida presentaron aumentos en su actividad por la misma razón. Al realizar el análisis global de las propiedades fisicoquímicas y actividades enzimáticas se determinó que los mayores indicadores de cambios producto del cultivo de papa y la ganadería son CO, CIC, Mg, Ca, NT, fosfodiesterasa y β -glucosidasa, presentándose disminuciones en lo suelos con el sistema de rotación papa-pastos.

Al analizar las diferencias en las propiedades fisicoquímicas y actividades enzimáticas producto del momento climático, siete (CO, N, CIC, CT, HT, C/N y NO₃) de 19 propiedades fisicoquímicas y dos (fosfodiesterasa y proteasa) de 7 actividades enzimáticas mostraron diferencias estadísticamente significativas. En general durante la sequía se detectaron mayores contenidos de CO, CIC y actividades enzimáticas. No se reportó una única tendencia producto de la altura de las fincas de muestreo.

Estos resultados sugieren la importancia de la participación de las comunidades, instituciones y académicos con miras a implementar procesos de transformación en las prácticas agrícolas que se desarrollan en la vereda El Bosque, de tal manera que se promueva el mejoramiento de las propiedades fisicoquímicas y estabilización de los procesos enzimáticos del suelo. Esto sugiere la relevancia de implementar modelos ecológicos asociados cultivo de papa, así como la implementación de modelos agrosilvopastoriles, labranza de conservación, rotación de cultivos y procesos enmarcados en la agricultura ecológica los cuales permitirían mejorar las propiedades fisicoquímicas del suelo a través del manejo de la materia orgánica y la biodiversidad edáfica. Para la implementación de las anteriores sugerencias cobra relevancia lo planteado por (Capítulo 1 y 2), en el sentido de desarrollar planes de manejo comunitario, con tiempo y financiación estatal pertinente y la importancia de la investigación y aplicación de modelos agrícolas enmarcados en la agroecología.

3.6 Bibliografía

Acosta-Martínez, V., Acosta-Mercado, D., Sotomayor-Ramírez, D., Cruz-Rodríguez, L., 2008. Microbial communities and enzymatic activities under different management in semiarid soils. *Applied Soil Ecology* 38, 249-260.

- Acosta-Martínez, V., Cruz, L., Sotomayor-Ramírez, D., Pérez-Alegría, L., 2007. Enzyme activities as affected by soil properties and land use in a tropical watershed. *Appl Soil Ecol* 35, 35-45.
- Acosta-Martínez, V., Tabatabai, M.A., 2000. Enzyme activities in a limed agricultural soil. *Biol. Fertil. Soils*. 31, 85-91.
- Ajwa, H.A., Tabatabai, M.A., 1994. Decomposition of different organic materials in soils. *Biol Fertil Soils* 18, 175-182.
- Alef, K., Nannipieri, P., 1995. *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Academic Press. Harcourt & Company, London.
- Aon, M.A., Cabello, M.N., Sarena, D.E., Colaneri, A.C., Franco, M.G., Burgos, J.L., Cortassa, S., 2001. I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology* 18, 239-254.
- Avellaneda-Torres, L.M., Melgarejo Muñoz, L.M., Narváez Cuenca, C.E., Sánchez Nieves, J., 2012. Actividades Enzimáticas en Consorcios Bacterianos de Suelos Bajo Cultivo de Papa con Manejo Convencional y Bajo Pastizal. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 65, 6349-6360.
- Avellaneda, L.M., Lozano de Yunda, A., Zamudio, A.M., 2005. Efecto del uso y la cobertura del suelo sobre el perfil de polidispersidad de ácidos húmicos extraídos de un andisol del Departamento de Caldas, Colombia. *Revista Colombiana de Química* 34, 189-200.
- Bakshi, M., Varma, A., 2011. Soil Enzyme: The State-of-Art. In: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), *Soil Enzymology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 1-23.
- Benintende, S.M., Benintende, M.C., Sterren, M.A., De Battista, J.J., 2008. Soil microbiological indicators of soil quality in four rice rotations systems. *Ecological indicators* 8, 704-708.
- Bonanomi, G., D'Ascoli, R., Antignani, V., Capodilupo, M., Cozzolino, L., Marzaioli, R., Puopolo, G., Rutigliano, F.A., Scelza, R., Scotti, R., Rao, M.A., Zoina, A., 2011. Assessing soil quality under intensive cultivation and tree orchards in Southern Italy. *Applied Soil Ecology* 47, 184-194.
- Browman, M.G., Tabatabai, M.A., 1978. Phosphodiesterase Activity of Soils. *Soil Sci Soc Am J* 42, 284-290.
- Buytaert, W., Deckers, J., Wyseure, G., 2007. Regional variability of volcanic ash soils in south Ecuador: The relation with parent material, climate and land use. *CATENA* 70, 143-154.
- Cleef, A.M., 1981. *The vegetation of the páramos of the Colombian Cordillera Oriental*. *Dissertationes Botanicae*. J. Cramer Vaduz.
- Das, S., Varma, A., 2011. Role of Enzymes in Maintaining Soil Health. In: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), *Soil Enzymology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 25-42.
- de Groot, R.S., Wilson, M.A., Boumans, R.M.J., 2002. A typology for the classification, description and valuation of ecosystem functions, goods and services. *Ecological Economics* 41, 393-408.
- Dick, R.P., 1994. Soil enzyme activities as indicators of soil quality. In: Doran, J.W., Coleman, D.C., Bezdicek, D.F., Steward, B.A. (Eds.), *Defining Soil Quality for a Sustainable Environment*. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 107-124.
- Dick, R.P., Rasmussen, P.E., Kerle, E.A., 1988. Influence of long-term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. *Biol. Fertil. Soils*. 6, 159-164.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A., 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil Biol. Biochem.* 20, 601-606.
- Eivazi, F., Tabatabai, M.A., 1990. Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 22, 891-897.
- Esen, A., 1993. *b-Glucosidases-biochemistry and molecular biology*. ACS symposium series, 533, American Chemical Society, Washington, DC.

- FEDEPAPA, MAVDT, CORPOBOYACÁ, HUMBOLDT, I., 2004. Guía ambiental para el cultivo de papa. FEDEPAPA, MAVDT, Bogotá. Colombia.
- Frankenberger, W., Tabatabai, M., 1991. Factors affecting L-glutaminase activity in soils. *Soil Biology and Biochemistry* 23.
- Gajda, A., Martyniuk, S., 2005. Microbial biomass C and N and activity of enzymes in soil under winter wheat grown in different crop management systems. *Polish Journal of Environmental Studies* 14, 159-163.
- Galiano, F., 1991. Capacidad de intercambio catiónico y aniónico bases de cambio y saturaciones. In: Silva, F. (Ed.), *Fundamentos para la interpretación de análisis de suelos, plantas y aguas para riego*. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Bogotá, pp. 164-185.
- García, C., Hernández, T., Costa, F., Ceccanti, C., Gianni, A., 1993. Hydrolases in the organic matter fractions of sewage sludge: changes with composting. *Bioresource Technology* 45 47–52.
- Gianfreda, L., Antonietta Rao, M., Piotrowska, A., Palumbo, G., Colombo, C., 2005. Soil enzyme activities as affected by anthropogenic alterations: intensive agricultural practices and organic pollution. *Science of The Total Environment* 341, 265-279.
- Gianfreda, L., Rao, M., 2011. The Influence of Pesticides on Soil Enzymes. In: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), *Soil Enzymology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 293-312.
- Gispert, M., Emran, M., Pardini, G., Doni, S., Ceccanti, B., 2013. The impact of land management and abandonment on soil enzymatic activity, glomalin content and aggregate stability. *Geoderma* 202–203, 51-61.
- Hanke, F., 1991. Los elementos mayores N, P y K en el suelo. In: Silva, F. (Ed.), *Fundamentos para la interpretación de análisis de suelos, plantas y aguas para riego*. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Bogotá, pp. 186-196.
- Henry, A., Mabit, L., Jaramillo, R.E., Cartagena, Y., Lynch, J.P., 2013. Land use effects on erosion and carbon storage of the Río Chimbo watershed, Ecuador. *Plant Soil* 367, 477-491.
- Hofstede, R.M., 1995. The effects of grazing and burning on soil and plant nutrient concentrations in Colombian páramo grasslands. *Plant Soil* 173, 111-132.
- ICA, 1992. Fertilización en diversos cultivos. Instituto Colombiano Agropecuario, Bogotá.
- IGAC, 2004. Estudio General de Suelos del Departamento de Risaralda. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá.
- IGAC, 2006. Métodos analíticos del laboratorio de suelos. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá.
- IGAC, 2007. Manual de campo para levantamiento de suelos y tierras. Instituto Geográfico Agustín Codazzi, Bogotá.
- Jaramillo, J., Daniel, F., 2002. Introducción a la Ciencia del Suelo. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias Medellín.
- Karaca, A., Cetin, S., Turgay, O., Kizilkaya, R., 2011. Soil Enzymes as Indication of Soil Quality. In: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), *Soil Enzymology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 119-148.
- Ladd, J.N., Butler, J.H.A., 1972. Short-term assays of soil proteolytic enzyme activities using proteins and dipeptide derivatives as substrates. *Soil Biology and Biochemistry* 4, 19-30.
- Lal, R., 2004. Soil Carbon Sequestration Impacts on Global Climate Change and Food Security. *Science* 304, 1623-1627.
- López-Bellido, R.J., Fontán, J.M., López-Bellido, F.J., López-Bellido, L., 2010. Carbon Sequestration by Tillage, Rotation, and Nitrogen Fertilization in a Mediterranean Vertisol
- All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, or

- any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher. *Agron. J.* 102, 310-318.
- López-Piñero, A., Muñoz, A., Zamora, E., Ramírez, M., 2013. Influence of the management regime and phenological state of the vines on the physicochemical properties and the seasonal fluctuations of the microorganisms in a vineyard soil under semi-arid conditions. *Soil and Tillage Research* 126, 119-126.
- Luteyn, J., 1992. Páramos, Why study them? In: Balslev, H., Luteyn, J.L. (Eds.), *Paramo; an andean ecosystem under human influence*. Academic Press, London, pp. 1-14.
- Madejón, E., Burgos, P., López, R., Cabrera, F., 2001. Soil enzymatic response to addition of heavy metals with organic residues. *Biol Fertil Soils* 34, 144-150.
- Madhuri, R.J., Rangaswamy, V., 2002. Influence of selected insecticides on phosphatase activity in groundnut (*Arachis hypogaeae* L.) soils. *J Environ Biol* 23, 393-397.
- Marcinkeviciene, A., Boguzas, V., Balnyte, S., Pupaliene, R., Velicka, R., 2013. Influence of crop rotation, intermediate crops, and organic fertilizers on the soil enzymatic activity and humus content in organic farming systems. *Eurasian Soil Sc.* 46, 198-203.
- Martinez, C.E., Tabatabai, M.A., 1997. Decomposition of Biotechnology By-Products in Soils. *J. Environ. Qual.* 26, 625-632.
- Melero, S., López-Bellido, R.J., López-Bellido, L., Muñoz-Romero, V., Moreno, F., Murillo, J.M., 2011. Long-term effect of tillage, rotation and nitrogen fertiliser on soil quality in a Mediterranean Vertisol. *Soil and Tillage Research* 114, 97-107.
- Melero, S., Madejón, E., Ruiz, J.C., Herencia, J.F., 2007. Chemical and biochemical properties of a clay soil under dryland agriculture system as affected by organic fertilization. *European Journal of Agronomy* 26, 327-334.
- Monasterio, M., Sarmiento, L., 1991. Adaptive radiation of *Espeletia* in the cold andean tropics. *Trends in Ecology & Evolution* 6, 387-391.
- Montenegro, H., 1991. Interpretación de las propiedades físicas del suelo. In: Silva, F. (Ed.), *Fundamentos para la interpretación de análisis de suelos, plantas y aguas para riego*. Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Bogotá, pp. 99-127.
- Nannipieri, P., Grego, S., Ceccanti, B., Bollag, J., Stotzky, G., 1990. Ecological significance of the biological activity in soil. *Soil biochemistry*. Volume 6., 293-355.
- Ndakidemi, P.A., 2006. Manipulating legume/cereal mixtures to optimize the above and below ground interactions in the traditional African cropping systems. *African Journal of Biotechnology* 5, 2526 - 2533.
- Nearing, M., Jetten, V., Baffaut, C., Cerdan, O., Couturier, A., Hernandez, M., Le Bissonnais, Y., Nichols, M., Nunes, J., Renschler, C., 2005. Modeling response of soil erosion and runoff to changes in precipitation and cover. *CATENA* 61, 131-154.
- Öhlinger, R., 1996. Dehydrogenase activity with the substrate TTC. In: Schinner, F., Öhlinger, R., Kandeler, E., Margasin, R. (Eds.), *Methods in soil biology*. Springer, Berlin, pp. 241-243.
- Otero, J.D., Figueroa, A., Muñoz, F.A., Peña, M.R., 2011. Loss of soil and nutrients by surface runoff in two agro-ecosystems within an Andean paramo area. *Ecological Engineering* 37, 2035-2043.
- PNNN, 2010. Restauración ecológica en páramos del Parque Nacional Natural de Los Nevados. Editorial Andina.
- Post, W.M., Kwon, K.C., 2000. Soil carbon sequestration and land-use change: processes and potential. *Global Change Biology* 6, 317-327.
- Poulenard, J., Podwojewski, P., Janeau, J.-L., Collinet, J., 2001. Runoff and soil erosion under rainfall simulation of Andisols from the Ecuadorian Páramo: effect of tillage and burning. *CATENA* 45, 185-207.

- Rani, M., Lakshmi, K., Devi, P., Madhuri, R., Devi, S., Jyothi, K., 2008. Impact of chlorpyrifos on soil enzyme activities in agricultural soil. *Asian J Microbiol Biotechnol Environ Sci* 10, 295-300.
- Sainju, U.M., Whitehead, W.F., Singh, B.P., 2003. Agricultural Management Practices to Sustain Crop Yields and Improve Soil and Environmental Qualities. *TheScientificWorldJOURNAL* 3, 768-789.
- Salazar, S., Sánchez, L.E., Alvarez, J., Valverde, A., Galindo, P., Igual, J.M., Peix, A., Santa-Regina, I., 2011. Correlation among soil enzyme activities under different forest system management practices. *Ecological Engineering* 37, 1123-1131.
- Santrucková, H., Vrba, J., Pícek, T., Kopáček, J., 2004. Soil biochemical activity and phosphorus transformations and losses from acidified forest soils. *Soil Biol. Biochem.* 36, 1569-1576.
- Six, J., Elliott, E.T., Paustian, K., Doran, J.W., 1998. Aggregation and Soil Organic Matter Accumulation in Cultivated and Native Grassland Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62, 1367-1377.
- SSS, 2010. Keys to Soil Taxonomy,. United States Department of Agriculture Natural Resources Conservation Service.
- Svirskene, A., 2003. Microbiological and Biochemical Indicators of Anthropogenic Impacts on Soils *Eurasian Soil Sc.* 36, 192-200.
- Tabatabai, M., 1994. Enzymes. In: Weaver, R., Augle, S., Bottomly, P., Bezdicek, D., Smith, S., Tabatabai, A., Wollum, A. (Eds.), *Methods of soil analysis. Microbiological and biochemical properties* Soil Science Society of America, Madison, pp. 775-833 Part 772., N°775.
- Tabatabai, M.A., Bremner, J.M., 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biology and Biochemistry* 1, 301-307.
- Tisserant, B., Gianinazzi-Pearson, V., Gianinazzi, S., Gollotte, A., 1993. In planta histochemical staining of fungal alkaline phosphatase activity for analysis of efficient arbuscular mycorrhizal infections. *Mycological Research* 97, 245-250.
- Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C., Seoane, S., Gil-Sotres, F., 2000. Limitations of soil enzymes as indicators of soil pollution. *Soil Biology and Biochemistry* 32, 1867-1875.
- Trevors, J., 1984. Dehydrogenase activity in soil: a comparison between the INT and TTC assay. *Soil Biology and Biochemistry* 16, 673-674.
- Van Reeuwijk, L.P., 1989. Andosols. In: Driessen, P.M., Dijkdal, R. (Eds.), *Lecture Notes on the Major Soils of the World*. Pudoc, Wageningen, pp. 47-54.
- van Beelen, P., Doelman, P., 1997. Significance and application of microbial toxicity tests in assessing ecotoxicological risks of contaminants in soil and sediment. *Chemosphere* 34, 455-499.
- Wada, K., 1980 Mineral characteristics of Andisols. In: Theng, B.K.G. (Ed.), *Soils with variable Charge*. Offset Publishers, Palmerston North, pp. 87-107.
- Wright, A.L., Reddy, K.R., 2001. Phosphorus Loading Effects on Extracellular Enzyme Activity in Everglades Wetland Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 65, 588-595.
- Yuan, J., Ouyang, Z., Zheng, H., Xu, W., 2012. Effects of different grassland restoration approaches on soil properties in the southeastern Horqin sandy land, northern China. *Applied Soil Ecology* 61, 34-39.
- Zúñiga-Escobar, O., Uribe V, A., Torres-González, A.M., Cuero-Guependo, R., Peña-Óspina, J.A., 2013. Assessment of the impact of anthropic activities on carbon storage in soils of high montane ecosystems in Colombia. *Agronomía Colombiana* 31, 112-119.

4. Capítulo 4. Biodiversidad de grupos funcionales de microorganismos asociados a suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo en el Parque Nacional Natural de Los Nevados, Colombia⁴

Citación del recurso. Avellaneda-Torres, L.M., Torres-Rojas, E. (2013). Biodiversidad de grupos funcionales de microorganismos del suelo asociados a cultivo de papa, ganadería y páramo del Parque Nacional Natural de Los Nevados, 1060 registros, En línea, http://ipt.sibcolombia.net/sib/resource.do?r=unal_gebix, publicado el 23/07/2013. http://ipt.sibcolombia.net/sib/resource.do?r=unal_gebix

4.1 Resumen

El presente artículo reporta 1,060 morfotipos microbianos (bacterias y hongos) aislados de medios selectivos para grupos funcionales del suelo, como son fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos. Los aislamientos se realizaron en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo con la menor intervención antrópica posible de la vereda El Bosque del Parque Nacional Natural Los Nevados. Para cada morfotipo se reporta la identificación taxonómica realizada mediante marcadores moleculares, el grupo funcional al que pertenece, la georreferenciación del lugar de aislamiento y el uso del suelo asociado. De esta manera se contribuye a la caracterización de la biodiversidad de bacterias y hongos de los páramos colombianos, situación relevante dado el poco conocimiento que existe al respecto y las condiciones ambientales extremas en las que se encuentran dichos microorganismos.

Palabras clave: fijador de nitrógeno, solubilizador de fosfato, celulolítico, páramo, cultivo de papa, ganadería, microbiota cultivable del suelo

⁴ El presente artículo se encuentra escrito bajo las instrucciones de autor para *DataPaper* de la *Revista Biota Colombiana*

4.2 Introducción

Propósito. El páramo presta a la sociedad servicios ambientales como la continua provisión de agua, la regulación hidrológica, la estabilidad de suelos, el mantenimiento de la biodiversidad, el almacenamiento de carbono y su valor paisajístico y cultural. Al interior del páramo y específicamente en la vereda El Bosque del Parque Nacional Natural de Los Nevados (PNN Los Nevados) se desarrollan actividades productivas entre las que se destacan el cultivo de papa y la ganadería.

En el marco del proyecto general titulado "Caracterización de comunidades microbianas asociadas a prácticas agrícolas y usos del suelo de la vereda El Bosque - PNN Los Nevados" que buscó avanzar en el conocimiento de los efectos del cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad microbiana del suelo, se realizó la presente base de datos de microorganismos cultivables de grupos funcionales asociados a los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno, fósforo y carbono: fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos respectivamente. Lo anterior con el objetivo de contribuir al conocimiento y así mismo ser una herramienta de consulta para la comunidad científica, las instituciones académicas y gubernamentales y sectores de la sociedad interesados en la biodiversidad microbiana de los páramos colombianos.

4.3 Datos del proyecto

Título. Caracterización de comunidades microbianas asociadas a prácticas agrícolas y usos del suelo de la vereda El Bosque - Parque Nacional Natural de Los Nevados

Nombre. Lizeth Manuela Avellaneda-Torres (Investigador Principal)

Fuentes de financiación. La presente investigación fue financiada por COLCIENCIAS (Contrato 246-2011) y fue llevada a cabo bajo el contrato de acceso a recursos genéticos No 15 de 2008 del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Territorial (MAVDT) y el permiso de investigación de la Unidad Administrativa Especial del Sistema de Parques Naturales (UAESPNN) número DTNO-N-20/2007. Los autores también agradecen al Centro Colombiano en Genómica y Bioinformática en Ambientes Extremos (GEBIX) y a la Universidad Nacional de Colombia por la financiación de la presente investigación.

Descripción del área estudio. El PNN Los Nevados constituye una región de alto interés biológico en Colombia y el mundo. Es una de las principales áreas protegidas de carácter nacional que hace parte de los procesos de ordenamiento ambiental del territorio, donde se viene consolidando un Sistema Regional de áreas protegidas para la ecorregión del eje cafetero. El parque incluye diversos ecosistemas como nieves perpetuas, superpáramo, páramo y bosques altoandinos, andinos y subandinos siendo el páramo y superpáramo los ecosistemas más representativos en área (Fandiño y Wyngaarden 2002). El PNN Los Nevados hace parte del macizo Ruiz-Tolima el cual alinea de sur a norte 8 volcanes principales: Cerro Machín, Nevado del Tolima, Páramo de Santa Rosa, Paramillo del Quindío, Nevado Santa Isabel, Paramillo del Cisne, Nevado del Ruiz y Cerro Bravo (PNN Los Nevados, 2010).

Al interior del PNN Los Nevados se encuentra la vereda El Bosque, del municipio de Pereira, la cual presenta páramos y bosques altoandinos asociados a la cuenca alta del río Otún, presentando ecosistemas de alta montaña ecuatorial que conservan poblaciones vegetales y animales de gran diversidad (Chiquito y Zuluaga 2007).

4.4 Descripción del proyecto

El objetivo general del proyecto fue caracterizar las comunidades microbianas de suelos de diferentes agroecosistemas de la vereda El Bosque – PNN Los Nevados, con el fin de determinar posibles relaciones entre las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad microbiana del suelo. En el marco de este proyecto se estableció la presente colección de microorganismos del suelo pertenecientes a grupos funcionales cultivables aislados mediante medios selectivos asociados a los ciclos biogeoquímicos del nitrógeno, fósforo y carbono, siendo estos fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos respectivamente, en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo con la menor intervención antrópica posible.

El cultivo de papa desarrollado en la zona se realiza en ciclos bianuales con periodos de barbecho superiores a los 7 años. De esta manera se aplica un sistema de cultivo de papa en rotación con pastos, el cual aplica tecnologías provenientes de la Revolución Verde (como son aplicación de fertilizantes y plaguicidas de síntesis química) así como saberes locales de la comunidad campesina de la zona.

4.5 Cobertura taxonómica 1

Descripción. Las bacterias identificadas pertenecen a cuatro filos diferentes entre los que se encuentran: *Bacteroidetes*, *Actinobacteria*, *Proteobacteria* y *Firmicutes*. Así mismo se encuentran distribuidas en seis clases diferentes: *Sphingobacteriia*, *Actinobacteria*, *Betaproteobacteria*, *Gammaproteobacteria*, *Bacilli* y *Alphaproteobacteria*. Se identificaron nueve ordenes: *Sphingobacteriales*, *Actinomycetales*, *Burkholderiales*, *Pseudomonadales*, *Bacillales*, *Enterobacteriales*, *Rhodospirillales*, *Xanthomonadales* y *Rhizobiales*. De igual forma se identificaron 19 familias: *Sphingobacteriaceae*, *Streptomycetaceae*, *Micrococcaceae*, *Burkholderiaceae*, *Pseudomonaceae*, *Bacillaceae*, *Nocardiaceae*, *Paenibacillaceae*, *Moraxallaceae*, *Trichocomaceae*, *Rhizobiaceae*, *Santomonadaceae*, *Cellulomanadaceae*, *Micromonosporaceae*, *Comamonadaceae*, *Chitinophagaceae*, *Acetobacteraceae*, *Microbacteria* y *Enterobacteriaceae*. Se identificaron 25 géneros y 18 especies, entre los géneros se encuentran: *Pedobacter*, *Streptomyces*, *Arthrobacter*, *Burkholderia*, *Pseudomonas*, *Paenibacillus*, *Bacillus*, *Rhodococcus*, *Brevibacillus*, *Acinetobacter*, *Kaistia*, *Stenotrophomonas*, *Micromonospora*, *Sthaphylococcaceae*, *Oerskovia*, *Enterobacter*, *Chitinophaga*, *Pantoea*, *Roseomonas*, *Leucobacter*, *Rahnella*, *Escherichia*, *Bionectria*, *Comamonas* y *Microbacterium*.

Categorías

Género. *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Bacillus*, *Brevibacillus*, *Burkholderia*, *Chitinophaga*, *Comamonas*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Kaistia*, *Leucobacter*, *Microbacterium*, *Micromonospora*, *Oerskovia*, *Paenibacillus*, *Pantoea*, *Pedobacter*, *Pseudomonas*, *Rahnella*, *Rhodococcus*, *Roseomonas*, *Staphylococcus*, *Stenotrophomonas*, *Streptomyces*

4.6 Cobertura taxonómica 2

Descripción. Las hongos identificados pertenecen a cuatro Phylum diferentes entre los que se encuentran: *Ascomycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota* y *Glomeromycota*. Así mismo se encuentran distribuidos en ocho clases diferentes: *Eurotiomycetes*, *Sordariomycetes*, *Zygomycetes*, *Dothideomycetes*, *Tremellomycetes*, *Leotiomycetes*, *Glomeromycetes* y

Mucormycotina. Se identificaron 12 órdenes: *Eurotiales*, *Hypocreales*, *Saccharomycetes*, *Xilariales*, *Mortierellales*, *Pleosporales*, *Tremellales*, *Helotiales*, *Dothideales*, *Glomerales*, *Mucorales* y *Sordariales*. De igual forma se identificaron 14 familias: *Hypocraceae*, *Saccharomycetaceae*, *Amphisphariaceae*, *Mortierellaceae*, *Leptosphaeriaceae*, *Trichosporanaceae*, *Nectriaceae*, *Cordycipitaceae*, *Myxotrichaceae*, *Dothioraceae*, *Glomeraceae*, *Mucoraceae*, *Sporomiaceae* y *Sordariaceae*. Se identificaron 23 géneros y 25 especies, entre los géneros se encuentran: *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Bionectria*, *Coniothyrium*, *Diplogelasinospora*, *Drechslera*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Hypocrea*, *Leptosphaeria*, *Mortierella*, *Mucor*, *Neonectria*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Preussia*, *Torula*, *Trichoderma*, *Trichosporon*, *Truncatella*, *Umbelopsis*.

Categorías

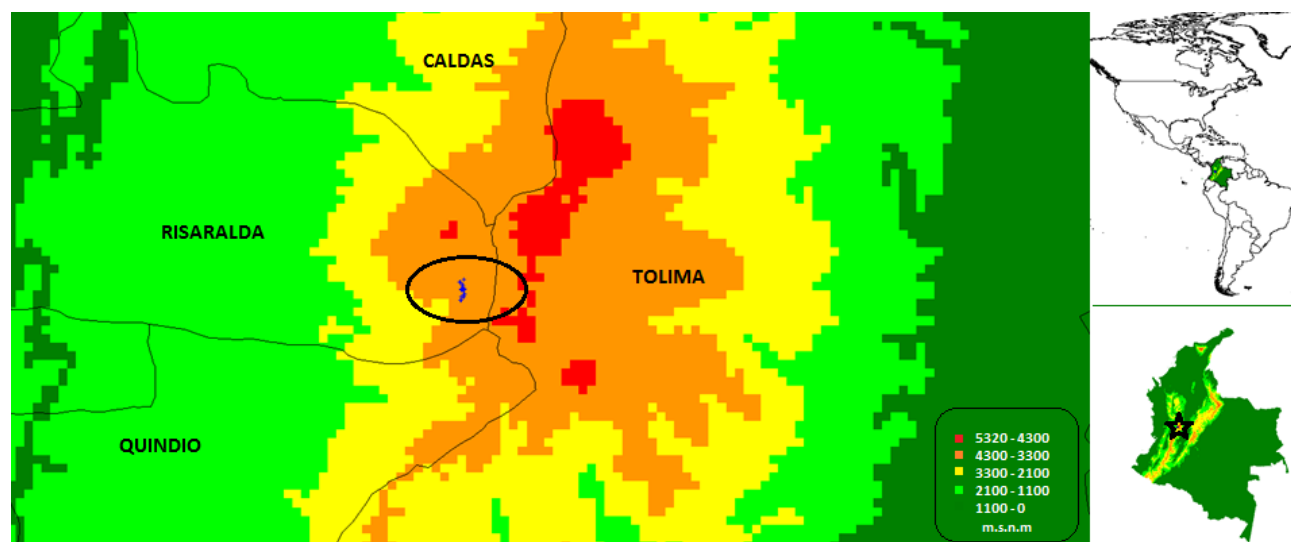
Género. *Aspergillus*, *Aureobasidium*, *Beauveria*, *Bionectria*, *Coniothyrium*, *Diplogelasinospora*, *Drechslera*, *Fusarium*, *Geomyces*, *Hypocrea*, *Leptosphaeria*, *Mortierella*, *Mucor*, *Neonectria*, *Paecilomyces*, *Penicillium*, *Preussia*, *Torula*, *Trichoderma*, *Trichosporon*, *Truncatella*, *Umbelopsis*.

4.7 Cobertura geográfica

Descripción. El PNN Los Nevados se encuentra localizado en la Cordillera Central de Colombia, entre las vertientes oriental y occidental, con alturas entre los 2,600 y 5,321 m.s.n.m. (Figura 4-1). Comprende un área aproximada de 58,300 hectáreas, en jurisdicción de los departamentos de Caldas (Municipio de Villamaría), Risaralda (Municipios de Santa Rosa de Cabal y Pereira), Quindío (Municipio de Salento) y Tolima (Municipios de Ibagué, Anzoátegui, Santa Isabel, Murillo, Villahermosa, Casabianca y Herveo) (PNNN 2007).

Coordenadas. 4°43'55.2"N y 4°45'3.6"N Latitud; 75°26'49.2"W y 75°26'31.2"W Longitud.

Figura 4-1: Ubicación del Parque Nacional Natural de Los Nevados.



Los puntos al interior del círculo representan la zona de muestreo.

4.8 Cobertura temporal

8 de junio de 2011 - 10 de noviembre de 2012

4.9 Materiales y métodos

Descripción del muestreo

Se tomaron muestras de suelos rizosféricos en las fincas Buenos Aires (3,769 msnm), El Edén (3,590 msnm) y La Secreta (3,432 msnm) en la vereda El Bosque, municipio de Pereira, Risaralda. En cada sitio se evaluaron los usos del suelo: páramo, cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) y ganadería en épocas seca y húmeda. En cada uno de los tipos de uso de suelo se evaluaron tres ventanas de observación, compuestas por 10 submuestras cada una. En total se evaluaron tres usos del suelo por tres fincas por dos épocas por tres ventanas de observación, para un total de 54 muestras. En cada muestra se determinó la abundancia y diversidad de microorganismos fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos.

Control de calidad

La validación y depuración de la información geográfica, taxonómica y los datos adicionales asociados con las muestras de suelo y los morfotipos aislados fueron incorporados en varios pasos del proyecto como un componente esencial del proceso de digitalización. La identificación de los morfotipos se realizó mediante Basic Local Alignment Search Tool (Altschul et al. 1990, Benson et al. 2000) y Genius PRO 5.1.5. y la confirmación de los nombres científicos de los especímenes se realizó utilizando las bases de datos: NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), Ribosomal Database Project (<http://rdp.cme.msu.edu/>) y Catalog of Life (<http://www.catalogueoflife.org/>). Los departamentos Colombianos fueron codificados teniendo en cuenta la división político administrativa de Colombia suministrada por el Departamento Administrativo Nacional de Estadística - DANE (<http://190.25.231.237/dvpbuscar/dvpbuscar.html>).

Descripción metodológica paso a paso

Se realizó el recuento de las unidades formadoras de colonia por gramo de suelo (UFC/g ss) de los microorganismos asociados a los grupos funcionales.

Para los microorganismos fijadores de nitrógeno se realizó conteo y aislamiento utilizando el medio selectivo carente de nitrógeno según (Rennie 1981) con modificaciones: 5.0 g manitol; 5.0 g ácido málico; 0.5 mL lactato de sodio (60%, v/v); 0.8 g K₂HPO₄; 0.2 g KH₂PO₄; 0.2 g MgSO₄·7H₂O; 0,06 g CaCl₂; 0,1 g NaCl; 0.001 g extracto de levadura; 0.0025 g Na₂MoO₄·2H₂O; 0.0024 g Na₂EDTA; 0.0018 g FeSO₄; 5 µg biotina; 10 µg ácido p-aminobenzoico; 18.0 g agar; 2.0 ml azul de bromotimol (0.5% en etanol 95%), 1 L de agua destilada, pH 7.

Para el conteo y aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosfatos se utilizó el medio según Sundara y Sinha (1963) modificado: 0.5 g (NH₄)₂SO₄; 0.2 g KCl; 0.3 g MgSO₄·7H₂O; 0.004 g MnSO₄; 0.002 g FeSO₄·7H₂O; 0.2 g NaCl; 10 g glucosa; 0.5 g extracto de levadura, 0.1 g púrpura de bromocresol; 5.0 g Ca₃(PO₄)₂; 15 g agar; 1 L de agua destilada, pH 7.2.

El conteo y aislamiento de los microorganismos celulolíticos se realizó utilizando el medio con carboximetilcelulosa al 1% como única fuente de carbono así: 0.5 g KH_2PO_4 ; 0.2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.1 g NH_4NO_3 ; 0.02 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0.05 g $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 15 g agar, 10 g carboximetilcelulosa, 1 L de agua destilada. Se utilizó pH 7.0 para bacterias y pH 5.0 para hongos con adición de 34 g/L de cloranfenicol. Todos los conteos fueron realizados por triplicado.

Para esto se tomaron 10 g de las respectivas muestras de suelo y se suspendieron en 90 ml de solución salina al 0.85 %, se agitaron en vórtex por 10 min. A partir de 100 μl de la suspensión anterior se realizaron diluciones seriadas de 10^{-1} hasta 10^{-8} . Las bacterias y hongos se cultivaron de manera independiente en condiciones de aerobiosis. En el caso de las bacterias se incubaron a 25 °C durante 48 h y los hongos a temperatura ambiente de durante cinco – siete días. Se realizó conteo de células viables en las placas que contenían entre 30 y 300 UFC. Se realizó aislamiento y purificación de los morfotipos encontrados.

Los diferentes morfotipos de bacterias y hongos aislados se caracterizaron macroscópicamente, microscópicamente, y usando marcadores moleculares. Para bacterias se determinó la secuencia del 16S del ADNr de acuerdo a los procedimientos de Lane (1991). Para los hongos se extrajo ADN con base en lo reportado por Melo et al. (2006), GEBIX (2009, 2010) y Plaza et al. (2004) y se usaron iniciadores ITS1 y ITS4 de acuerdo con el procedimiento descrito por Vargas et al. (2008) y GEBIX (2010). Las secuencias se analizaron mediante Basic Local Alignment Search Tool (Altschul et al. 1990, Benson et al. 2000) y utilizando Genius PRO 5.1.5.

4.10 Resultados

Descripción del conjunto de datos

Nombre. Archivo Darwin Core Biodiversidad de grupos funcionales de microorganismos asociados a suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo en el Parque Nacional Natural de Los Nevados, Colombia

Idioma. Español

Codificación de caracteres. UTF-8

URL del archivo. Para acceder a la versión del conjunto de datos descrita en este artículo:

Formato del archivo. Darwin Core

Versión del formato del archivo. 1.0

Nivel de jerarquía. Dataset

Fecha de publicación de los datos. 2014-07-21

Idioma de los metadatos. Español

Fecha de creación de los metadatos. 2013-05-21

4.11 Discusión

Existen pocos reportes acerca de los microorganismos del suelo en los ecosistemas de páramo. En Colombia esta información es aún más restringida. Al respecto se encuentran los reportes de Moratto et al., (2005) quienes evaluaron la abundancia de hongos solubilizadores de fosfato y bacterias diazotróficas en el páramo de Guerrero. Los citados autores realizaron identificación de los microorganismos mediante claves taxonómicas (para los hongos) y pruebas bioquímicas (para las bacterias diazotróficas). Por otro lado Bernal et al., (2006) reportan microorganismos celulolíticos cultivables y endomicorizas en hojarasca de bosque del páramo de Guerrero, los cuales fueron identificados mediante claves taxonómicas y pruebas bioquímicas. A pesar de la importancia de estos reportes, las citadas publicaciones no se encuentran asociadas a registros biológicos con los respectivos metadatos complementarios.

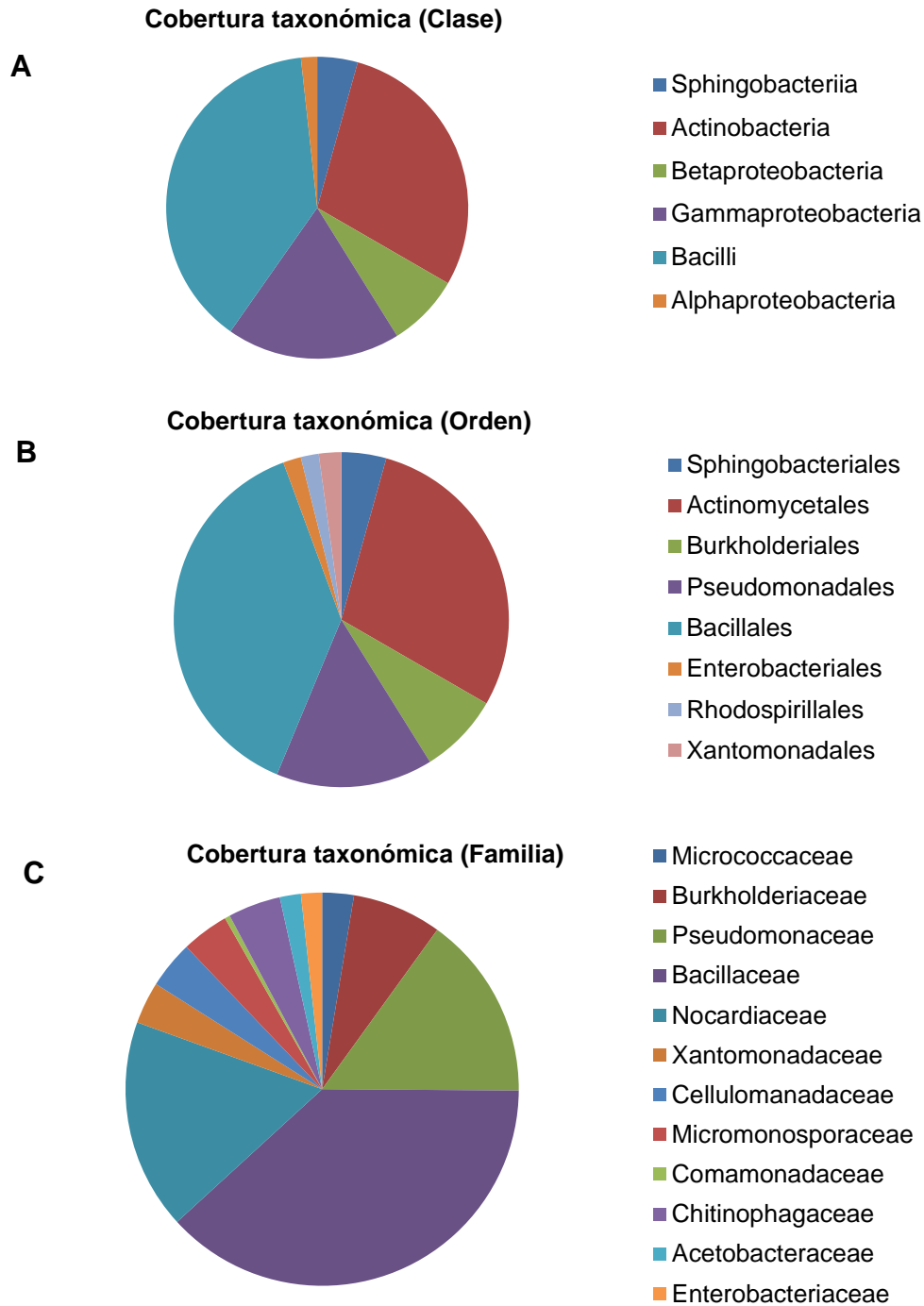
No obstante los reportes mencionados en el párrafo anterior, a la fecha de la escritura del presente artículo no se encontró ninguna publicación reconocida de registros biológicos de microorganismos cultivables aislados de suelos de páramos colombianos. Tampoco se reporta esta información para el PNN Los Nevados. Por lo cual la publicación de estos registros microbianos reviste especial importancia, dada la poca información que se tiene al respecto y la importancia de los páramos como ecosistemas estratégicos, considerados *hotspots*, debido a que cumplen con la doble condición de presentar por una parte alta biodiversidad y por otra, que esta se encuentra altamente amenazada.

En las Figuras 4-2, 4-3 y 4-4 se presenta la distribución de los niveles taxonómicos aislados en cada uno de los medios selectivos para los grupos funcionales de microorganismos del suelo en ciclos biogeoquímicos del nitrógeno, fósforo y carbono: fijadores de nitrógeno (Figura 4-2), solubilizadores de fosfato (Figura 4-3) y celulolíticos (Figura 4-4) en el PNN Los Nevados.

Esta colección de microorganismos contribuye a la caracterización de la biodiversidad de bacterias y hongos de los páramos colombianos, específicamente en el PNN Los Nevados, donde el ecosistema más representativo es el páramo. Situación relevante sí se tiene encuentra que estos ecosistemas de alta montaña se pueden considerar extremos debido a las características ambientales que presentan (i.e., alta radiación solar, baja presión atmosférica, cambios diarios extremos de temperatura, presencia de zonas volcánicas), por lo cual es de esperar presencia de microorganismos extremófilos, los cuales podrían ser evaluados a futuro y ser de utilidad a la hora de explorar sus potencialidades ante las diversas problemáticas ambientales que se presentan en la actualidad, así como su posible aplicación biotecnológica.

Igualmente y aunque no es el objetivo de este artículo de datos aporta registros biológicos que son un insumo para el conocimiento acerca de los impactos que genera el cultivo de papa y la ganadería sobre la biodiversidad de microorganismos de grupos importantes como los fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos. Esto permite ampliar el entendimiento de la dinámica agroecológica de los microorganismos del suelo en los ecosistemas de alta montaña

Figura 4-2: Cobertura taxonómica fijadores de nitrógeno.

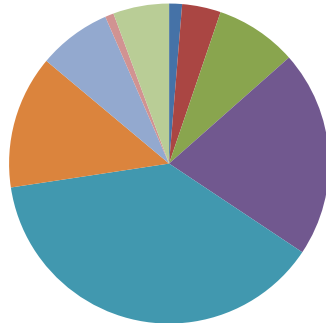


A Clase B Orden C Familia.

Figura 4-3: Cobertura taxonómica solubilizadores de fosfato.

A

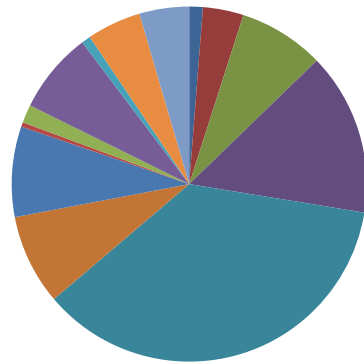
Cobertura taxonómica (Clase)



- Sphingobacteriia
- Actinobacteria
- Betaproteobacteria
- Gammaproteobacteria
- Bacilli
- Sordariomycetes
- Zygomycetes
- Dothideomycetes
- Mucormycotina

B

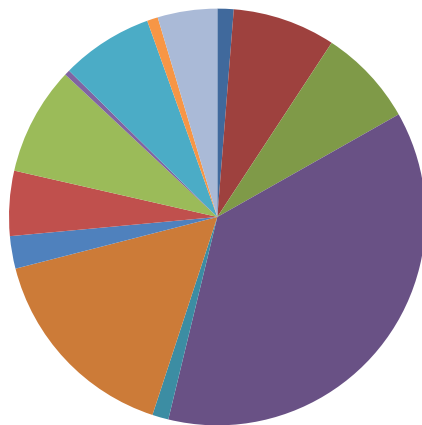
Cobertura taxonómica (Orden)



- Sphingobacteriales
- Actinomycetales
- Burkholderiales
- Pseudomonadales
- Bacillales
- Eurotiales
- Hypocreales
- Saccharomycetes
- Xilariales
- Mortierellales
- Pleosporales
- Mucorales
- Sordariales

C

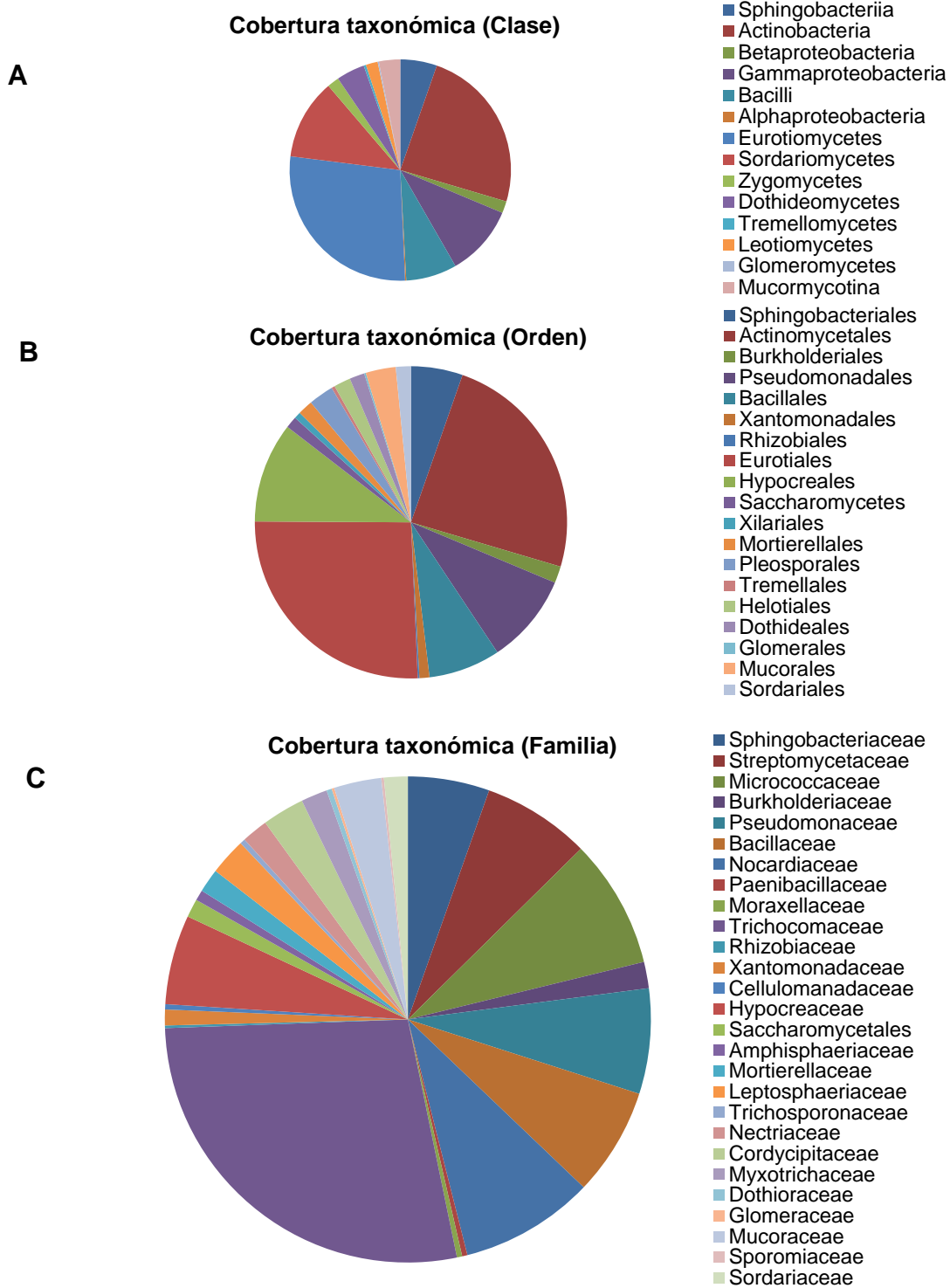
Cobertura taxonómica (Familia)



- Sphingobacteriaceae
- Burkholderiaceae
- Pseudomonaceae
- Bacillaceae
- Nocardiaceae
- Trichocomaceae
- Microbacteria
- Enterobacteriaceae
- Hypocreaceae
- Saccharomycetales
- Mortierellaceae
- Sporomiaceae
- Sordariaceae

A Clase **B** Orden **C** Familia.

Figura 4-4: Cobertura taxonómica celulolíticos.



A Clase B Orden C Familia.

4.12 Bibliografía

- Altschul S, W. Gish, W. Miller, y L. Myersew. 1990. Basic Local alignment search tool. *Journal Molecular Biology* 215 (3):403-410. [http://dx.doi.org/10.1016/S0022-2836\(05\)80360-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0022-2836(05)80360-2)
- Anacona, A. 2008. Efecto del manejo agrícola sobre la composición microbiana y actividad enzimática de suelos provenientes de agroecosistemas de papa (*Solanum spp.*) Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Benson, D., L. Karsch-Mizrachi, D. Lipman, J. Ostell, M. Rap, y D. Wheeler. 2000. GenBank. *Nucleic Acids Res* 28:15-18. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC102453/>
- BID, CORPOCALDAS, CAR-RISARALDA, CAR-QUÍNDIO, CAR-TOLIMA, y UAESPNN. 2002. Plan de Manejo Parque Nacional Los Nevados y su zona amortiguadora.
- CAR y UAESPNN. 2002. Cartilla Técnica del Plan de Manejo del Parque Nacional Natural de los Nevados y su Zona Amortiguadora. Dirección Editotial: Diego Miguel Garcés, Cali. Colombia. <http://koha.ideam.gov.co/cgi-bin/koha/opac-detail.pl?biblionumber=19470>
- Chiquito, S. y S. Zuluaga. 2007. Plan de acción ambiental Vereda El Bosque cuenca alta del río Otún. Universidad Tecnológica de Pereira, Pereira. Colombia. <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/812/1/33373CH541p.pdf>
- Cooper, R. y R. Wood. 1980. Cell wall degrading enzymes of vascular kilt fungi. *Physiological plant pathology* 16:285-300.
- GEBIX. 2009. Second Progress Report - Colciencias. Colombian Center for Genomics and Bioinformatics of Extreme Environments, Bogotá, Colombia.
- GEBIX. 2010. Third progress report and final report – Phase I. Centro Colombiano en Genómica y Bioinformática en Ambientes Extremos, Bogotá.
- Hendricks, C., J. Doyle, y B. Hugley. 1995. A new solid medium for enumerating cellulose utilizing bacteria in soil. *Applied Soil Ecology* 61(5):2016-2019. <http://aem.asm.org/content/61/5/2016.full.pdf>
- Lane, D. J. 1991. 16S/23S rRNA sequencing. Pages 115-175 En E. Stackebrandt and M. Goodfellow, editors. *Nucleic acid techniques in bacterial systematics*. John Wiley and Sons, New York.
- Melo, S., C. Pungartnik, J. Cascardo, y M. Brendel. 2006. Rapid and efficient protocol for DNA extraction and molecular identification of the basidiomycete *Crinipellis perniciosus*. *Genetics and Molecular Research* 5(4):851-855. http://www.funpecrp.com.br/gmr/year2006/vol4-5/gmr0284_abstract.htm
- PNN Los Nevados. 2007. Plan de Manejo Parque Nacional Natural de Los Nevados 2007-2011. Parques Nacionales Naturales de Colombia, Manizales, Colombia.
- Ortíz, M. L. 2007. Aislamiento y selección por actividad enzimática de hongos degradadores de lignina y celulosa, a partir de suelos con dos usos (sabana de pastoreo y bosque secundario) de sabana inundable (Puerto López, Meta). Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.

- Plaza, G. A., R. Upchurch, R. L. Brigmon, W. B. Whitman, y K. Ulfing. 2004. Rapid DNA Extraction for Screening Soil Filamentous Fungi Using PCR Amplification. 13(3):315-318. <http://www.pjoes.com/pdf/13.3/315-318.pdf>
- Pramer, D. y E. Schmidt. 1964. Experimental Soil Microbiology. Burgess Publishing Company, Mineapolis, Minesota USA.
- Rennie, R., J. 1981. A single medium for the isolation of acetilene-reducting (Dinitrogen-fixing) bacteria from soils. Canadian Journal o Microbiology 27:8-14. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7214234>
- Vargas, A. M., A. Correa, D. C. Lozano, A. González, A. J. Bernal, S. Restrepo, y P. Jiménez. 2009b. First Report of Late Blight Caused by Phytophthora infestans on Cape Gooseberry (Physalis peruviana) in Colombia. Pages 464-464.
- Sundara, R. y M. Sinha. 1963. Organisms phosphate solubilizers in soil. Soil Science and Plant Nutrition. 9(2), 45-49.
- PNN Los Nevados. 2010. Restauración ecológica en páramos del Parque Nacional Natural de Los Nevados. Editorial Andina, Manizales, Colombia
- 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). Agronomía Colombiana. 23(2):299 - 309
- Bernal, E., Celis, S., Galíndez, X., Moratto, C., Sánchez, D, García, D. 2006. Microflora cultivable y endomicorrizas obtenidas en hojarasca de bosque (Páramo Guerrero - finca Puente de Tierra) Zipaquirá, Colombia. Acta Biologica Colombiana. 11(2): 125-130.

5. Capítulo 5. Grupos funcionales de microorganismos en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo del Parque Nacional Natural de los Nevados, Colombia⁵

5.1 Resumen

Con el objetivo de evaluar posibles cambios asociados al cultivo de papa y la ganadería sobre los grupos funcionales de microorganismos del suelo en páramos del Parque Nacional Natural de Los Nevados (PNN Los Nevados), Colombia, se aislaron microorganismos asociados a diferentes grupos funcionales (fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos) de suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo en conservación (con la menor intervención antrópica). Esto se realizó para dos momentos climáticos (sequía-humedad) y en tres agroecosistemas ubicados a diferentes alturas (Buenos Aires, El Edén y La Secreta). Una vez obtenida la abundancia e identificación de los microorganismos aislados, se realizaron análisis de diversidad microbiana haciendo uso de herramientas estadísticas del análisis multivariado de datos. Los resultados indican que se presentan cambios en la diversidad de grupos funcionales de microorganismos cultivables por efecto del cultivo de papa y ganadería sobre los suelos de páramo, cambios que fueron dependientes de la altura y condición climática en la que fueron evaluados. En las tres fincas estos cambios son estadísticamente significativos en la época de invierno y en una de las tres fincas (La Secreta) en la época de sequía. Así mismo, los resultados indican que las condiciones climáticas están teniendo un mayor impacto sobre las comunidades microbianas evaluadas que el uso del suelo. Los cambios en las comunidades microbianas muestran diferencias significativas en la mayoría de las veces entre cultivo de papa y páramo y en algunos casos entre ganadería y páramo, sin embargo las diferencias entre cultivo de papa y ganadería son de menor dimensión. Esto refleja el impacto de las prácticas agrícolas asociadas al cultivo de papa sobre los microorganismos, indicando en la ganadería un estado de transición entre el cultivo y el páramo. No se presentan diferencias estadísticamente significativas en la riqueza microbiana por cuenta de los diferentes

⁵ El presente artículo se encuentra escrito bajo las instrucciones de autor de la revista *Agriculture, Ecosystems & Environment*.

factores evaluados, sin embargo se presentan leves aumentos en la riqueza microbiana producto de las actividades agropecuarias.

Palabras clave: fijadores de nitrógeno, solubilizador de fosfato, celulolíticos, diversidad microbiana

5.2 Introducción

El PNN Los Nevados constituye una región de alto interés en Colombia y el mundo; se encuentra localizado en la cordillera central de Colombia, vertientes oriental y occidental, con alturas entre los 2.600 y 5.321 msnm (UAESPNN *et al.*, 2007). Incluye diversos ecosistemas como nieves perpetuas, superpáramo, páramo y bosques altoandinos, andinos y subandinos entre 5.300 y 400 m.s.n.m, siendo el páramo y superpáramo los ecosistemas más representativos en área (Fandiño y Wyngaarden, 2002).

Los páramos son ecosistemas neotropicales que cubren áreas extensas ubicadas entre la línea del bosque alto andino (3000 - 3800 msnm) y el límite de las nieves (4400 - 4800 msnm) en el norte de los Andes (Luteyn, 1999; Hofstede, 2008). Se encuentran en el Ecuador, Venezuela, Costa Rica y Colombia, país en donde tienen su principal extensión (Hofstede, 2003). Los páramos son considerados ecosistemas estratégicos, por su alto potencial en la regulación hídrica y el almacenamiento de carbono. En ellos, se genera y nace gran parte de las fuentes de agua que comprende la compleja red hidrológica de diversas regiones andinas; por lo cual prestan servicios ambientales muy importantes para las comunidades rurales y urbanas (Cleef *et al.*, 1983; Hofstede, 1995; Estupiñán *et al.*, 2009) y por otro lado, recientemente, han cobrado importancia en el almacenamiento de carbono, además de su valor paisajístico y cultural para el desarrollo del ecoturismo (UAESPNN *et al.*, 2007).

Diversos autores han hecho hincapié en las similitudes entre los páramos y los ecosistemas árticos, con referencia a las condiciones de frío, la lenta descomposición de la materia orgánica y la estructura vegetativa presente (Billings, 1973; Smith y Young, 1987). Así mismo los páramos presentan temperaturas durante el día de hasta 25°C y durante la noche de hasta 0°C, y menor presión atmosférica comparada con la de ecosistemas de menor altura, por lo cual se ha considerado que estos ecosistemas se encuentran sujetos a condiciones extremas (Hofstede, 1995). No obstante, a diferencia de los ecosistemas árticos, los páramos son considerados puntos calientes o *hotspots* dentro de zonas *hotspots* por su ubicación dentro de la cordillera de los Andes (Myers *et al.*, 2000; Madriñán *et al.*, 2013). Esto debido a su doble condición de ser ecosistemas con altos niveles de biodiversidad y endemismo pero que simultáneamente se encuentran altamente amenazados.

A pesar de la importancia ambiental de los páramos, estos se encuentran sometidos a diferentes amenazas que atentan contra su estabilidad ecológica, dentro de las que se encuentran las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería, debido a que hay remoción de la vegetación característica, acciones mecánicas, aplicación de agroquímicos y alteración del suelo por el pisoteo del ganado sobre el mismo. Sin embargo, los efectos de estas prácticas aún no se encuentran suficientemente estudiados, en particular de los impactos que el cultivo de papa y la ganadería generan sobre diversidad de microorganismos presentes en los suelos del páramo.

La diversidad microbiana edáfica es esencial para mantener el funcionamiento de los ecosistemas (Bissett *et al.*, 2007; Brussaard *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2013). Los

microorganismos del suelo hacen parte de los ciclos biogeoquímicos, así como de la descomposición de la materia orgánica y de los flujos de energía, por lo cual son de gran importancia para el desarrollo de las funciones ecológicas del suelo (Doran y Zeiss, 2000; Sotomayor-Ramírez *et al.*, 2009; Shi *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2013). La protección de la diversidad microbiana del suelo contribuye en gran medida a su sostenibilidad y a la reducción de riesgos y degradación de los ecosistemas (Wasaki *et al.*, 2005; Zhang *et al.*, 2013). Se considera que las comunidades microbianas son sensibles a los cambios debidos a prácticas agrícolas tales como sistema de cultivo, labranza, riego, fertilización (Doran y Zeiss, 2000; Chaparro *et al.*, 2012; Shi *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2014), aplicación de plaguicidas, intensidad en la producción, homogeneidad en los sistemas agrícolas y a factores ambientales (Nazih *et al.*, 2001).

En este contexto se considera relevante el papel de grupos funcionales edáfico como son los fijadores de nitrógeno, los solubilizadores de fosfato y los celulolíticos. Al respecto se ha estimado que la contribución de los procariotes fijadores de nitrógeno de vida libre para la entrada de N al alcance del suelo es de $60 \text{ kg ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$ (60%) (Burns, 1982). De esta manera la fijación biológica de nitrógeno provee la mayor fuente externa de nitrógeno para los diferentes ecosistemas (Poly *et al.*, 2001; Mantilla-Paredes *et al.*, 2009). El fósforo, después del nitrógeno, es el segundo macronutriente más limitante para el crecimiento de las plantas (Yadav y Dadarwal, 1997) por lo que los procesos de solubilización microbiana de fosfatos fijados en los suelos es particularmente importante (Nesme *et al.*, 2014). Así mismo la celulosa es uno de los componentes mayoritarios de la estructura de las plantas, por lo que su descomposición provee una fuente relevante de carbono para el mejoramiento de los suelos, su fertilidad y balance ecológico (Yang *et al.*, 2014), por lo que los microorganismos celulolíticos juegan un rol importante en la transformación de los residuos celulósicos en los suelos para la generación de energía (Talia *et al.*, 2012; Yang *et al.*, 2014).

En este mismo sentido se ha sugerido que las búsquedas acerca de los impactos de las prácticas agrícolas sobre los microorganismos del suelo debe centrarse en una mayor investigación y conocimiento acerca de la diversidad funcional de las comunidades microbianas, esto con el fin de promover mayor sostenibilidad en los sistemas agrícolas (Bainard *et al.*, 2013). El objetivo de la presente investigación fue evaluar posibles efectos del cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad de grupos funcionales de los microorganismos cultivables, relacionados con la fijación de nitrógeno, la solubilización de fosfato y el ciclo del carbono presentes en los suelos de páramo del PNN Los Nevados.

5.3 Materiales y métodos

5.3.1 Descripción de la zona de estudio

La presente investigación se desarrolló en la vereda El Bosque del PNN Los Nevados, Colombia, donde se colectaron muestras de suelo rizosférico bajo tres sistemas de uso del suelo: cultivo de papa, ganadería y páramo con la menor intervención posible, los cuales fueron evaluados en tres agroecosistemas: Buenos Aires (N $04^{\circ}44'58.3$ - W $075^{\circ}26'40.4$; 3769 msnm), El Edén (N $04^{\circ}44'32.3$ - W $075^{\circ}26'37.9$; 3590 msnm) y La Secreta (N $04^{\circ}44'08.5$ - W $075^{\circ}26'34.7$; 3432 msnm). El cultivo de papa en los diferentes agroecosistemas evaluados se caracteriza por desarrollarse en rotación con pastos (ganadería), en ciclos bianuales y con

periodos de barbecho superiores a los siete años. Se desarrolla bajo manejo convencional, adoptando prácticas provenientes de la revolución verde, como son, la aplicación masiva de agroquímicos, entre los que se encuentran Furadan, Parathiom, Monitor, Lorsban, Curacron, Manzate, Fitoraz, Ridomil, Anvil y fertilizantes de síntesis química tipo N:P:K. Los pastos característicos de la zona de ganadería son Orchoro (*Dactylis glomerata* sp), Raygras (*Lolium* sp) y Plegadera (*Lachemilla* sp.). Las zonas de páramo con el menor nivel de intervención humana fueron seleccionadas como zonas control y presentan una vegetación característica de *Cortaderia selloana*, *Pernettya prostrata*, *Buddleja* sp., *Lupinus albus* sp, *Dendropanax* sp., y *Chusquea* sp. Si bien los tres usos del suelo se encuentran en el ecosistema de páramo, para efectos del presente estudio y para facilidad en nomenclatura hemos denominado páramo a la zona con la menor intervención antrópica posible de acuerdo con la triangulación de los resultados de: a) aplicación de herramientas del diagnóstico rural participativo; b) cuestionarios estructurados; y c) la descripción de la vegetación característica de la zona (Capítulo 2), por lo que se han identificado dichas áreas como páramo en conservación.

5.3.2 Diseño de muestreo

En el presente estudio se asumió que el uso del suelo altera la diversidad de microorganismos cultivables pertenecientes a grupos funcionales de diferentes ciclos biogeoquímicos (C, N y P). En este sentido, se evaluó la hipótesis nula de no diferencia en la diversidad de microorganismos en suelos bajo cultivo de papa y ganadería respecto a los de páramo con la menor intervención antrópica posible.

En aras de identificar la generalidad espacial sobre el efecto del uso de tierra, la hipótesis nula fue evaluada simultáneamente en tres fincas ubicadas en diferentes altitudes. En cada una de las fincas se evaluaron los tres usos del suelo, tomando en cada uno aleatoriamente tres ventanas de observación de 10 x 10 m. Dentro de cada una de las ventanas de observación se tomaron 10 submuestras a partir de las cuales se conformó una muestra compuesta. Paralelamente y en aras de evaluar la generalidad de la hipótesis nula, este diseño de muestreo se ejecutó en dos oportunidades: época seca y de lluvias. En total se evaluaron 3 usos del suelo x 3 fincas x 2 épocas de muestreo x 3 ventanas de observación para un total de 54 muestras que fueron analizadas por triplicado.

En cada muestra de suelo se evaluó la diversidad de microorganismos cultivables con base a dos descriptores de diversidad: riqueza (medido como número de especies) y estructura (medido con la composición y abundancia de cada especie).

5.3.3 Aislamiento, cultivo y determinación de abundancia de microorganismos cultivables pertenecientes a grupos funcionales del suelo

Para cada una de las muestras de suelo se realizó el recuento de unidades formadoras de colonia (ufc/g⁻¹suelo) con el método de diluciones seriadas y siembra en placa para los siguientes grupos de microorganismos: bacterias y hongos totales, fijadores biológicos de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos. Para el conteo de bacterias totales se utilizó agar nutritivo y para hongos totales agar papa dextrosa con cloranfenicol 50mg/L.

El conteo y aislamiento de los microorganismos fijadores de nitrógeno se realizó utilizando el medio selectivo carente de nitrógeno (Rennie, 1988) con las siguientes modificaciones: 5.0 g

manitol; 5.0 g ácido málico; 0.5 mL lactato de sodio (60%, v/v); 0.8 g K_2HPO_4 ; 0.2 g KH_2PO_4 ; 0.2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0,06 g $CaCl_2$; 0,1 g $NaCl$; 0.001 g extracto de levadura; 0.0025 g $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$; 0.0024 g Na_2EDTA ; 0.0018 g $FeSO_4$; 5 ug biotina; 10 ug ácido p-aminobenzoico; 18 g agar; 2.0 ml azul de bromotimol (0.5% en etanol 95%) en 1L de agua destilada y ajustado a pH 7.0. Para el conteo y aislamiento de microorganismos solubilizadores de fosfato se utilizó el medio propuesto por (Sundara y Sinha, 1963) modificado de la siguiente manera: 0.5 g $(NH_4)_2SO_4$; 0.2 g KCl ; 0.3 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.004 g $MnSO_4$; 0.002 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.2 g $NaCl$; 10 g glucosa; 0.5 g extracto de levadura, 0.1 g púrpura de bromocresol; 5.0 g $Ca_3(PO_4)_2$; 15 g agar en 1 L de agua destilada y ajustado a pH 7.2. El conteo y aislamiento de los microorganismos celulolíticos se realizó utilizando el medio con carboximetilcelulosa (CMC) al 1% como única fuente de carbono 0.5 g KH_2PO_4 ; 0.2 g $MgSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.1 g NH_4NO_3 ; 0.02 g $FeSO_4 \cdot 7H_2O$; 0.05g $Ca(NO_3)_2 \cdot 4H_2O$; 15 g agar, 10 g CMC en 1L de agua destilada (Avellaneda-Torres *et al.*, 2014). Se utilizó pH 7.0 para bacterias y pH 5.0 para hongos con adición de 34 g/L de cloranfenicol. Todos los conteos fueron realizados por triplicado y los microorganismos fueron subsecuentemente aislados, purificados y preservados.

5.3.4 Identificación taxonómica de los microorganismos aislados

Los diferentes morfotipos de bacterias y hongos aislados se caracterizaron macro-microscópicamente y usando marcadores moleculares. Para bacterias, se utilizó la secuencia del 16S del rDNA. Para ello, se realizó una suspensión de cada una de las colonias en 200 μ l de TE 2X con 1% de Tween 20 y ebullición por 10 min. y se centrifugó por dos minutos a 14000 rpm. Posteriormente, se tomaron 5 μ l de sobrenadante y se realizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) usando los iniciadores 1492R y 27F de acuerdo a los procedimientos de (Lane D, 1991) y según (Avellaneda-Torres, Guevara y Torres, 2014). Para hongos se extrajo ADN y se realizó la amplificación del espaciador interno del transcripto (ITS, Internal Transcribed Spacer región por sus siglas en inglés,) del rDNA ribosomal utilizando 5 μ l para un volumen final de 50 μ l en agua, el cual contenía tampón de PCR 1X, 2.0 mM $MgCl_2$ y 0.25 mM de dNTP (Promega), 0.2 μ M de los iniciadores ITS1 y ITS4 y 2.5 U/ μ l de Taq DNA polimerasa alta eficiencia (Invitrogen) (Płaza *et al.*, 2004). Las secuencias mediante Basic Local Alignment Search Tool, BLAST (Altschul S *et al.*, 1990; Benson *et al.*, 2000) y utilizando Genius PRO 5.1.5.

5.3.5 Análisis de diversidad y estadístico

La variación en la diversidad de microorganismos cultivables se analizó con un modelo lineal de efectos mixtos y cuatro factores, con la finalidad de someter a prueba las hipótesis nulas en que la diversidad no difiere entre usos de la tierra y que el efecto del uso de tierra es independiente de la finca y del momento de muestreo. En el modelo lineal, el uso de la tierra es un factor fijo con tres niveles (i. e. páramo, cultivo, ganadería), que genera interacciones de primer y segundo orden. Similarmente, las fincas se consideraron como un factor fijo con tres niveles (i. e. Buenos Aires, El Edén, La Secreta) lo que generó dos tipos de interacciones. El muestreo también se consideró como un factor fijo por sus dos niveles, generando dos interacciones de primer y segundo orden. Finalmente, las réplicas espaciales definidas como ventanas de observación, corresponden a un factor aleatorio de tres niveles anidados a la interacción de segundo orden Finca x Uso x Muestreo. En este modelo, los residuales corresponden a las diez muestras de suelo recolectadas en cada ventana.

La diversidad de microorganismos por muestra de suelo se describió en dos componentes: riqueza de especies y estructura microbiana (i. e. composición y abundancia de cada especie). Para el primer descriptor se empleó el número de especies presentes en cada muestra, y un análisis de varianza de efectos mixtos explicado previamente. Por otra parte, para la estructura microbiana, se preservó la identidad y abundancia de las especies por muestra. Esta información se organizó en una matriz especies x muestra, cuyas entradas fueron valores de abundancia de cada microorganismo en la muestra respectiva. Seguidamente, se analizó la similitud en composición y abundancia de microorganismos entre cada par de muestras con el índice de similitud Bray-Curtis (Clarke, 1993) previa transformación raíz cuarta a las abundancias. Tal transformación permite disminuir el peso de las especies muy dominantes y aumenta la importancia relativa de las especies raras en el cálculo del índice de similitud. Una vez generada la matriz de similitudes, la variación total en ella fue descompuesta usando el modelo lineal previamente propuesto y un análisis de varianza multivariado basado en permutaciones y matrices de similitud (PERMANOVA) (Anderson, 2001). En ambos análisis de varianza (i. e. riqueza y estructura microbiana), la significancia probabilística de cada fuente de variación se estimó usando 9999 permutaciones de los residuales considerando el modelo nulo reducido.

Adicionalmente, se aplicaron pruebas de dispersión multivariada (PERMDISP) (Anderson *et al.*, 2006) para someter a prueba la hipótesis nula de igual variabilidad en la estructura microbiana entre los tres tipos de uso de suelo. Este análisis se efectuó para cada una de las fincas en cada muestreo. También se produjeron ordenaciones multivariadas no métricas (nMDS) (Clarke, 1993) para proyectar las similitudes en la estructura microbiana entre los tipos de suelo, para cada finca por cada muestreo. Finalmente, se emplearon análisis canónicos discriminantes basados en matrices de similitud (CAP) (Anderson y Willis, 2003) para identificar las especies características de cada tipo de suelo. Todos los análisis multivariados se realizaron con el programa PRIMER v6 & PERMANOVA *add on* (Clarke y Warwick, 2001; Anderson *et al.*, 2008).

5.4 Resultados

5.4.1 Riqueza microbiana

Se realizó registro biológico de 1060 microorganismos del suelo asociados a los grupos funcionales fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato (bacterias y hongos) y celulolíticos (bacterias y hongos) (Avellaneda-Torres y Torres-Rojas, 2013), los cuales pertenecieron a 190 morfotipos microbianos aislados en los diferentes medios selectivos: 98 celulolíticos (59 hongos, 39 bacterias), 57 solubilizadores de fosfato (22 hongos, 35 bacterias) y 35 fijadores de nitrógeno. En general, no se detectaron diferencias en la riqueza promedio entre los tres tipos de uso del suelo (Tablas 5-1 y 5-2), en ninguna de las fincas, ni en ninguno de los muestreos (Factor Uso, y sus interacciones de primer y segundo orden, con $p > 0,05$). Se detectaron un promedio de 20 filotipos de microorganismos por muestra de suelo (± 3.9).

Tabla 5-1: PERMANOVAS de riqueza y estructura microbiana para el conjunto de datos

Factor	g.l.	Riqueza			Estructura microbiana		
		SC	Pseudo-F	P(perm)	SC	Pseudo-F	P(perm)
Uso (U)	2	133,05	3,01	0,073	0106	4,59	0,0001
Finca (F)	2	51,49	1,17	0,340	73940	33,59	0,0001

Época (E)	1	0,01	0,00	0,980	61622	55,99	0,0001
U x F	4	105,32	1,19	0,383	10120	2,29	0,0001
U x E	2	17,20	0,39	0,676	6560	2,97	0,0001
F x E	2	431,57	9,77	0,001	50443	22,92	0,0001
U x F x E	4	155,84	1,76	0,156	11519	2,62	0,0001
Ventana (U x F x E)	36	795,33	3,02	0,001	39623	2,92	0,0001
Residuales	108	789,33			40705		
Total	161	2479,10			3.0464E5		

g.l.: grados de libertad, SC: sumatoria cuadrática

Tabla 5-2: Riqueza microbiana (S) promedio por muestra de suelo según el uso, finca y muestreo

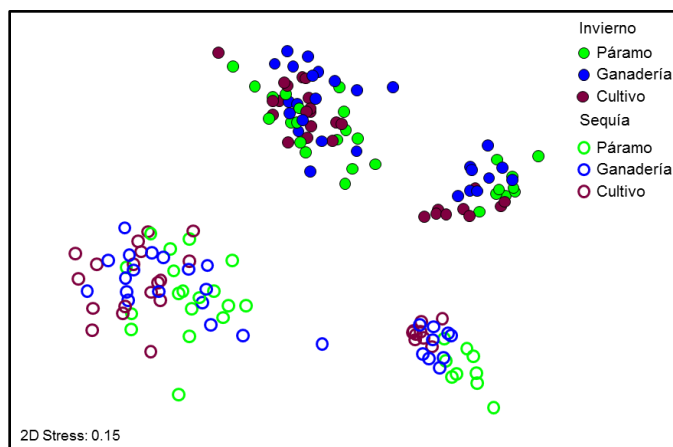
S	Buenos Aires		Total Buenos Aires	El Edén		Total El Edén	La Secreta		Total La Secreta	Total general
	Invierno	Sequía		Invierno	Sequía		Invierno	Sequía		
Cultivo	19,9a	20,4a	20,2a	21,7a	19,7a	20,7a	20,2a	24,1a	22,2a	21,0a
Ganadería	19,9a	24,2a	22,1a	25,9a	19,9a	22,9a	21,0a	20,3a	20,7a	21,9a
Páramo	17,9a	18,3a	18,1a	23,8a	18,0a	20,9a	17,4a	22,6a	20,0a	19,7a
Total general	19,2a	21,0a	20,1a	23,8a	19,2a	21,5a	19,6a	22,3a	20,9a	20,8a

5.4.2 Estructura microbiana

A partir del análisis PERMANOVA surgen tres resultados importantes: el primero es que existe variación significativa en la composición y abundancia de microorganismos cultivables (fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos) entre las diferentes ventanas sujetas a la misma combinación de tratamientos (U x F x E, $p < 0,05$, Tabla 5-1). Esto es indicativo de una alta variación de la diversidad en la estructura microbiana de los suelos a pequeña escala espacial. El segundo y más importante resultado, es la significancia de la interacción de segundo orden U x F x E ($p < 0,05$, Tabla 5-1). Esto implica que el efecto del uso del suelo sobre los grupos funcionales de microorganismos no es independiente de la finca y fluctúa en el tiempo, lo cual indica que para estimar adecuadamente las diferencias en estructuras microbianas entre suelos de distinto uso se debe evaluar independientemente cada agroecosistema. En todos los casos las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

El tercer resultado a destacar se interpreta conjuntamente con el MDS, (Figura 5-1), en el cual se aprecia que el efecto del uso (cultivo de papa, ganadería y páramo con mayor conservación) parece ser menor que los cambios en función de la fecha de muestreo (i.e. lluvias y sequía). Esta apreciación se puede confirmar al evaluar las magnitudes de los componentes de variación, estimados en el PERMANOVA (Tabla 5-1). En este sentido, para poder medir con precisión el tamaño de las diferencia entre los tipos de uso de suelo, se realizaron los análisis por separado para cada una de las fincas en los respectivos muestreos.

Figura 5-1: MDS de matriz global de similitudes Bray-Curtis de grupos funcionales cultivables (fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos)



5.4.2.1 Finca Buenos Aires

El análisis PERMANOVA para el agroecosistema Buenos Aires (Anexo C) indica que las diferencias en los grupos funcionales de microorganismos cultivables entre los suelos con distinto uso no son independientes de la época de muestreo (época x uso, $p < 0,05$), razón por la cual se realizaron comparaciones pareadas entre los usos del suelo para cada uno de los momentos de muestreo. El análisis PERMANOVA también indica que la variación asociada a las ventanas es significativa (Interacción ventana (E x U), $p < 0,05$). En el primer muestreo se detectaron diferencias significativas entre suelos de cultivo de papa y páramo, así como entre ganadería y páramo son significativos ($p < 0,05$) (Tabla 5-3). Por otra parte, no hay evidencia estadística para indicar que la composición y abundancia de microorganismos difiere significativamente entre suelos donde se practica cultivo de papa respecto a suelos donde se desarrolla la ganadería ($p > 0,05$). Adicionalmente, durante el segundo muestreo no se observó que las diferencias entre abundancia y composición de microorganismos entre cultivo de papa, ganadería y páramo fueran significativamente diferentes ($p > 0,05$) (Tabla 5-3). Esto indicaría que en el agroecosistema Buenos Aires las diferencias debidas al uso del suelo sobre las comunidades microbianas evaluadas son mayores durante la época de lluvias con respecto a la época de sequía.

Tabla 5-3: Comparaciones múltiples entre suelos bajo distinto uso, en la finca Buenos Aires, El Edén y La Secreta.

Época	Finca	Buenos Aires	El Edén	La Secreta
	Uso	<i>P</i>	<i>P</i>	<i>p</i>
Invierno	Páramo, Cultivo	0.0039	0.0087	0.0091
	Páramo, Ganadería	0.0398	0.0206	0.0195
	Cultivo, Ganadería	0.1526	0.0022	0.446
Sequía	Páramo, Cultivo	0.0794	0.049	0.0066
	Páramo, Ganadería	0.1169	0.0671	0.0035
	Cultivo, Ganadería	0.4302	0.0571	0.0215

Los valores de probabilidad se obtuvieron con simulaciones tipo Monte Carlo

En la Figura 5-2 se puede apreciar la notable diferencia temporal en la estructura microbiana del suelo, así como las diferencias entre el suelo de páramo respecto a los suelos intervenidos en el muestreo en época de lluvias. La figura también resalta que, para el muestreo de sequía, las diferencias entre los tratamientos siguieron estando presentes, pero la dispersión dentro de

los tratamientos fue mucho mayor que en el primer muestreo. Este análisis también reveló que la dispersión intragrupal fue menor en el muestreo de época de lluvias con respecto al de sequía (Tabla 5-4). Durante la época de lluvias, la dispersión fue significativamente menor en los suelos de cultivo respecto al páramo y ganadería (PERMDISP, prueba pareada, valores de t con $p < 0,05$) (Tabla 5-4). Estos últimos, sin embargo, presentaron una dispersión similar (PERMDISP, $p < 0,05$). Estos resultados indican un mayor impacto generado por el cultivo de papa sobre los grupos funcionales de microorganismos, mientras que en el caso de la ganadería estaría indicando un menor impacto. Durante el muestreo en época de sequía, los tres tipos de suelo presentaron la misma dispersión (PERMDISP, prueba pareada, valores de t con $p > 0,05$). En los tres casos, fue significativamente superior a los reportados en época de lluvias.

Figura 5-2: MDS de matriz de similitudes Bray-Curtis de grupos funcionales cultivables para la finca Buenos Aires.

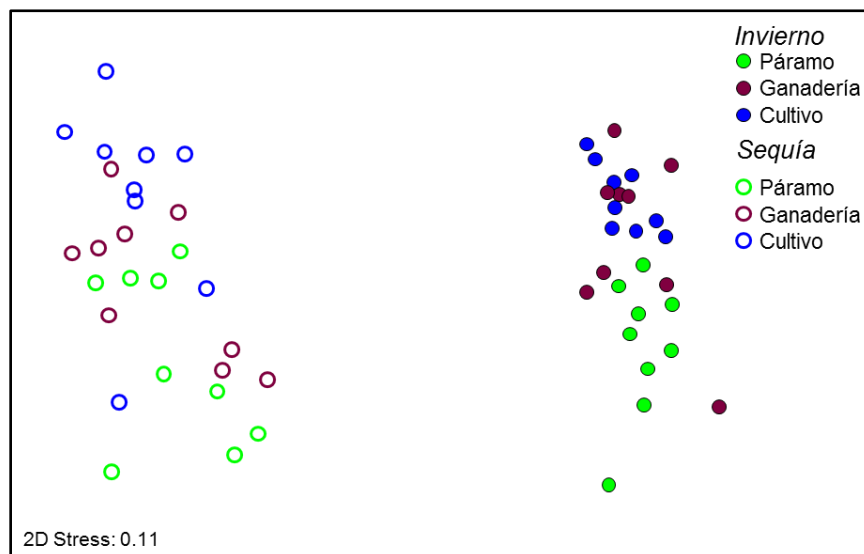


Tabla 5-4: Promedios en la dispersión multivariada según época y uso del suelo en las fincas Buenos Aires, El Eden y La Secreta

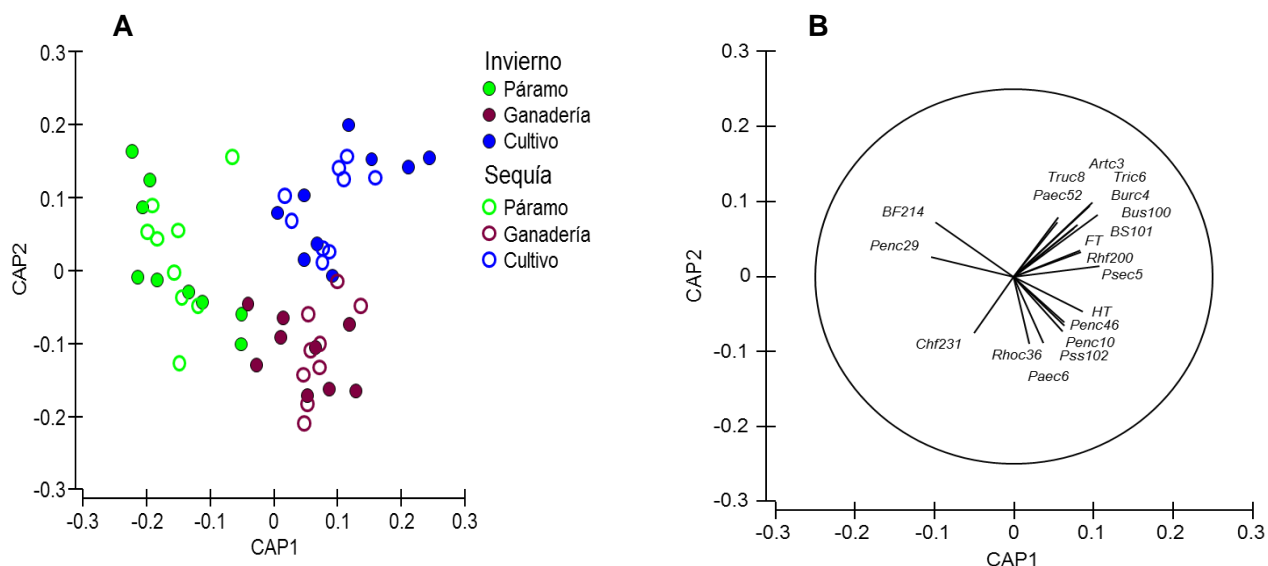
Época	Buenos Aires		El Edén		La Secreta		
	Uso	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
Invierno	Páramo	22.766	0.99177	19.704	1.1938	20.667	1.1922
	Cultivo	17.055	0.83005	17.33	0.89335	21.588	1.5107
	Ganadería	23.581	2.391	17.708	1.3908	21.449	1.0074
Sequia	Páramo	24.641	1.2473	22.064	2.4916	20.986	1.1454
	Cultivo	26.288	1.8022	14.415	1.3278	24.383	2.0795
	Ganadería	27.086	0.96415	14.05	0.85364	30.463	2.3724

En segundo lugar se puede analizar que los niveles de variación dentro de cada grupo (a nivel de época y a nivel de uso) aumentan la dispersión intragrupal durante la época de sequía. Por lo cual se realizó análisis de dispersión multivariada para cada una de las épocas en la finca Buenos Aires.

El CAP-A (Figura 5-3) muestra la separación canónica de los tres grupos de estructura de microorganismos según el tipo de uso del suelo: cultivo de papa, ganadería y páramo. Se observa una mayor distancia entre las muestras de cultivo de papa y páramo que entre las de ganadería y páramo, patrón que sugiere un proceso de transición páramo-ganadería-cultivo de papa, reflejando los periodos de descanso durante el cultivo de papa para dar paso a la ganadería. Esto coincide con la disminución de las prácticas de aplicación de fertilizantes y plaguicidas de síntesis química y el manejo mecánico del suelo propio del cultivo de papa. Esto podría interpretarse como posible un reestablecimiento de la comunidad microbiana durante este periodo de descanso.

En el CAP-B (Figura 3) se identifican las especies que están teniendo mayor correlación con los ejes canónicos en donde se representan las muestras asociadas al cultivo de papa, la ganadería y el páramo, lo cual se puede interpretar como la presencia de especies que están presentando mayor incidencia en las características de los grupos funcionales de cada uso del suelo. En la Tabla 5-5 se indica el significado de las abreviaturas utilizadas en los diferentes CAPS. En el caso de páramo las especies o grupos microbianos con mayor correlación son: *Penicillium glabrum*, *Chitinophaga arvensicola* y la bacteria fijadora 214; en cultivo de papa: *Paenibacillus* sp C3, *Truncatella angustata*, *Arthrobacter* sp, *Trichoderma* sp C1, *Burkholderia glathei*, Bacteria solubilizadora 101, *Rhodococcus* sp, *Pseudomonas* sp C1 y fijadores totales; en ganadería: *Pseudomonas fluorescens*, *Penicillium canescens*, *Penicillium* sp C2, *Paenibacillus* sp, *Rhodococcus* sp y hongos totales.

Figura 5-3: CAP grupos funcionales de microorganismos en la finca Buenos Aires.



A. Comportamiento grupos funcionales finca Buenos Aires. B. Especies con mayor correlación sobre CAP figura A

Tabla 5-5: Abreviación de las especies o grupos indicadores proyectados en el CAP

Abreviatura	Descripción	GF	Abreviatura	Descripción	GF
Penc29	<i>Penicillium glabrum</i>	C	Pss102	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	SP
Rhoc36	<i>Rhodococcus</i> sp	C	Pes138	<i>Penicillium</i> sp S5	SP
Paec6	<i>Paenibacillus</i> sp	C	Pas106	<i>Paenibacillus</i> sp	SP
Penc10	<i>Penicillium</i> sp C2	C	Pes108	<i>Penicillium</i> sp S2	SP
Penc46	<i>Penicillium canescens</i>	C	BS621	BS621	SP
Psec5	<i>Pseudomonas</i> sp C1	C	Bus100	<i>Burkholderia glathei</i>	SP
BC900	BC900	C	Pas143	<i>Paenibacillus</i> sp S2	SP
Burc4	<i>Burkholderia glathei</i>	C	BS101	Bacteria Solubilizadora101	SP
Paec42	<i>Paenibacillus</i> sp C3	C	Mps134	<i>Mortierella</i> sp S2	SP
Strc20	<i>Streptomyces aureus</i>	C	HST	Hongos solubilizadores totales	SP
Pac403	<i>Paenibacillus</i> sp C4	C	Rhs126	<i>Rhodococcus</i> sp	SP
Tric6	<i>Trichoderma</i> sp C1	C	Dis811	<i>Diplogelasinospora</i> sp S2	SP
Truc8	<i>Truncatella angustata</i>	C	Bs122	<i>Bacillus</i> sp S3	SP
Artc3	<i>Arthrobacter</i> sp	C	BST	Bacterias solubilizadoras totales	SP
Rhoc11	<i>Rhodococcus</i> sp C1	C	Chf231	<i>Chitinophaga arvensicola</i>	FN
Bac400	<i>Bacillus</i> sp C2	C	Paf222	<i>Paenibacillus</i> sp	FN
Oec905	<i>Oerskovia</i> sp	C	Rhf200	<i>Rhodococcus</i> sp	FN
Asc500	<i>Aspergillus fumigatus</i>	C	BF224	BF224	FN
HC505	HC505	C	Baf236	<i>Bacillus</i> sp F4	FN
Psec34	<i>Pseudomonas putida</i>	C	BF214	BF214	FN
Arc901	<i>Arthrobacter nicotinovorans</i>	C	Baf234	<i>Bacillus</i> sp F2	FN
HC511	HC511	C	Oef713	<i>Oerskovia</i> sp	FN
Beac44	<i>Beauveria</i> sp	C	Rof718	<i>Roseomonas gilardii</i>	FN
Pac519	<i>Paecilomyces</i> sp C1	C	Arf216	<i>Arthrobacter</i> sp	FN
HC510	HC510	C	FT	Fijadores totales	FN
HT	Hongos totales	NA	PT	Procariotas totales	NA

GF: grupo funcional, C: celulolítico, SP: solubilizador de fosfato, FN: fijador de nitrógeno, NA: no aplica

5.4.2.2 Finca El Edén

El análisis del PERMANOVA para el agroecosistema El Edén (Anexo C) indica que las diferencias en los grupos funcionales de microorganismos cultivables entre los suelos con distinto uso no son independientes de la época de muestreo (época x uso, $p < 0,05$), razón por la cual se realizaron comparaciones pareadas entre los usos del suelo para cada uno de los momentos de muestreo. El análisis PERMANOVA también indica que la variación asociada a las ventanas es significativa [ventana (E x U), $p < 0,05$]. En el primer muestreo (lluvias) se detectaron diferencias significativas entre los suelos de cultivo de papa, ganadería y páramo ($p < 0,05$), indicando el impacto de las prácticas agropecuarias asociadas al cultivo de papa y ganadería sobre la composición y abundancia de grupos funcionales de microorganismos. No obstante, en el segundo muestreo (sequía) al igual que en la finca Buenos Aires, no se observó que las diferencias entre abundancia y composición de microorganismos entre cultivo de papa, ganadería y páramo fueran significativamente diferentes ($p > 0,05$). Esto indicaría que en la finca Buenos Aires y el Edén las diferencias por el uso del suelo sobre las comunidades microbianas evaluadas es mayor durante la época de lluvias con respecto a la época de sequía.

El MDS de la finca El Edén (Figura 5-4) al igual que en la finca Buenos Aires refleja las diferencias entre los momentos de muestreo sobre la estructura de la comunidad microbiana,

las cuales se perciben mayores a las generadas por el uso del suelo. Por otro lado, se observa que durante el primer muestreo (época de lluvias) hay una mayor diferenciación de las muestras por el uso del suelo que en la época de sequía, representando gráficamente lo discutido previamente sobre el análisis PERMANOVA. En el caso de esta finca no se aprecia diferencias de dispersión tan altas con respecto a la finca Buenos Aires, posiblemente debido a la mayor homogeneidad en la pendiente de los suelos de la finca El Edén con respecto a la finca Buenos Aires. El análisis de dispersión para la época de lluvias (Tabla 5-4) indica que los suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo presentaron la misma dispersión (PERMDISP, prueba pareada, valores de t con $p > 0,05$). Durante el segundo muestreo (época de sequía) la dispersión fue significativamente mayor en los suelos bajo páramo respecto a los de cultivo de papa y ganadería (PERMDISP, prueba pareada, valores de t con $p < 0,05$).

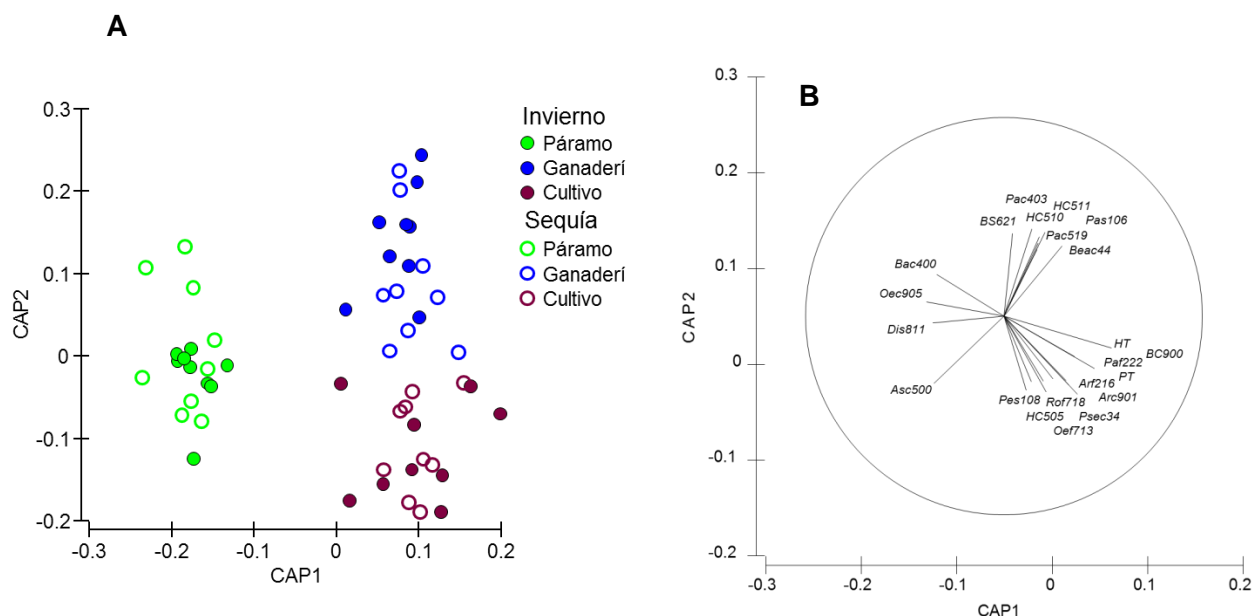
Figura 5-4: MDS de matriz de similitudes Bray-Curtis de grupos funcionales cultivables para la finca El Edén.



El CAP-A de la finca el Eden (Figura 5-5) al igual que el de la finca Buenos Aires muestra la separación canónica en tres grupos de la diversidad de microorganismos: cultivo de papa, ganadería y páramo, evidenciando las diferencias en la comunidad microbiana entre estos tres usos del suelo. Se puede observar mayor distancia entre las muestras de cultivo de papa y páramo que entre ganadería y páramo ilustrando nuevamente el proceso de transición páramo-ganadería-cultivo de papa que en las condiciones de la vereda El Bosque se desarrolla con periodos de descanso durante la ganadería, disminuyéndose las prácticas agropecuarias como se había discutido previamente, lo cual podría nuevamente interpretarse como un posible retorno en el comportamiento de la comunidad microbiana durante este periodo de descanso en ganadería.

En el CAP-B (Figura 5-5) se observa que las especies o grupos microbianos que están teniendo mayor correlación con los ejes canónicos para suelos de páramo son: *Bacillus sp* C2, *Oerskovia sp*, *Diplogelasinospora sp* S2, *Aspergillus fumigatus*; para suelos de cultivo de papa: Bacteria celulolítica 900, *Paenibacillus sp*, hongos totales, procariontas totales, *Arthrobacter sp*, *Arthrobacter nicotinovorans*, *Roseomonas gilardii*, *Pseudomonas putida*, hongo celulolítico 505, *Oerskovia sp*, *Penicillium sp* S2 y para suelos de ganadería: bacteria solubilizadora 621, *Paenibacillus sp* C4, hongo celulolítico 510, hongo celulolítico 511, *Paenibacillus sp*, *Paecilomyces sp* C1, *Beauveria sp*.

Figura 5-5: CAP para grupos funcionales de microorganismos en la finca El Edén.



A. Comportamiento grupos funcionales finca El Edén. B. Especies con mayor correlación sobre CAP figura A

5.4.2.3 Finca La Secreta

El análisis del PERMANOVA (Anexo C) para el agroecosistema La Secreta indica que las diferencias en la comunidad microbiana entre los usos del suelo (cultivo de papa, ganadería y páramo con la mayor conservación posible) al igual que en las fincas Buenos Aires y El Edén no es independiente de la época de muestreo (época x uso, $p < 0,05$), razón por la cual se realizaron comparaciones pareadas entre los usos para cada una de las épocas del año. El análisis PERMANOVA también indica que la variación asociada a las ventanas es significativa (ventana (E x U), $p < 0,05$).

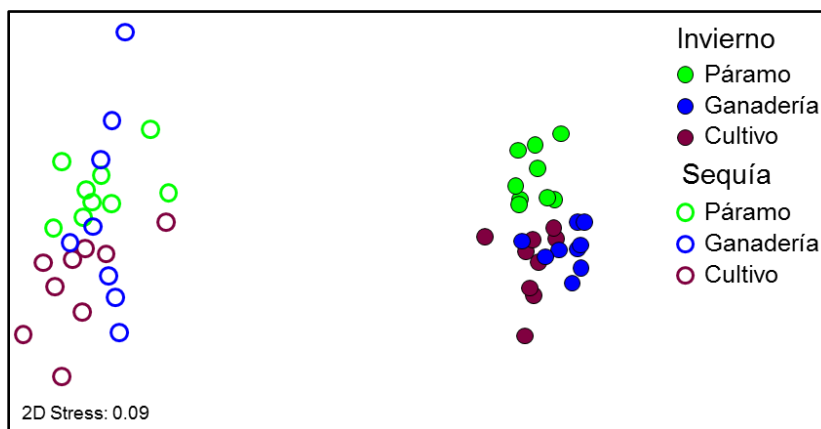
Al analizar las comparaciones pareadas (Tabla 5-3) entre los usos en la época de invierno se obtiene que las diferencias entre cultivo y páramo, así como ganadería con páramo, son estadísticamente significativas ($p < 0,05$); por otra parte, no hay evidencia estadística para indicar que la composición y abundancia de microorganismos difiere significativamente entre suelos donde se practica cultivo de papa respecto a suelos donde se desarrolla la ganadería ($p > 0,05$), comportamiento similar al reportado para la finca Buenos Aires.

En la época de sequía, se observa que las diferencias entre abundancia y composición de microorganismos entre cultivo de papa, ganadería y páramo son estadísticamente significativas ($p < 0,05$), en las tres comparaciones pareadas. Esto indicaría que en la finca La Secreta el impacto del uso del suelo sobre las comunidades microbianas evaluadas sí genera diferencias estadísticamente significativas tanto en la época de invierno como en la época de sequía, lo cual es diferente con respecto a las otras dos fincas, dado que en ellas las diferencias en las comparaciones pareadas fueron estadísticamente significativas solo en la época de invierno. Esto podría indicar una mayor capacidad para mitigar cambios por el uso del suelo en las fincas

de mayor altura durante la época de sequía con respecto a La Secreta que fue afectada en ambas condiciones climáticas y se encuentra a una menor altura.

En el MDS para la finca La Secreta (Figura 5-6) al igual que en la finca Buenos Aires y El Edén se reflejan mayores diferencias entre las épocas de muestreo sobre la comunidad microbiana con respecto al impacto que genera el uso del suelo. El análisis PERMDISP mediante comparaciones pareadas para la época de invierno y sequía indican que dispersión en las muestras de cultivo de papa, ganadería y páramo no presentan diferencias estadísticamente significativas (PERMDISP, prueba pareada, valores de t con $p > 0,05$).

Figura 5-6: MDS de matriz de similitudes Bray-Curtis de grupos funcionales cultivables para la finca La Secreta.

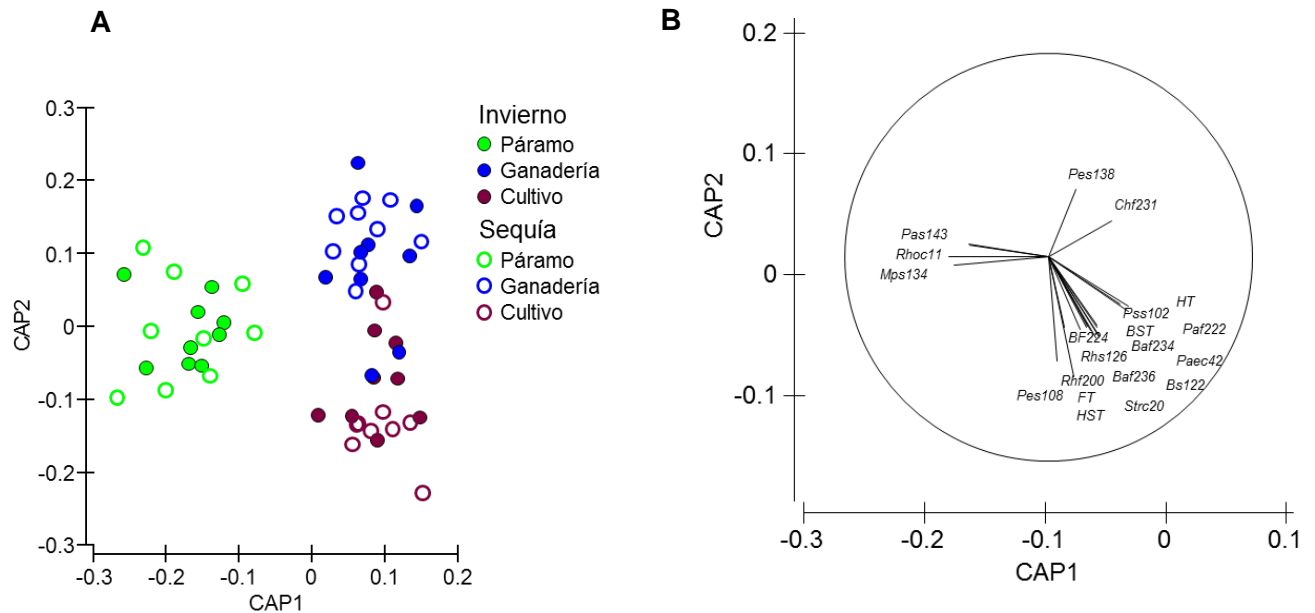


El CAP-A de la finca La Secreta (Figura 5-7) al igual que el de las fincas Buenos Aires y El Edén muestran la separación canónica en tres grupos de la diversidad de microorganismos: cultivo de papa, ganadería y páramo, evidenciando las diferencias entre estos tres usos del suelo. Se puede observar menor distancia entre las muestras de ganadería y entre cultivo de papa, que entre estos dos grupos y el páramo.

En el CAP-B (Figura 5-7) se puede observar que las especies o grupos microbianos que están teniendo mayor correlación con los ejes canónicos para páramo son: *Paenibacillus sp* S2, *Rhodococcus sp* C1, *Mortierella sp* S2; para el cultivo de papá: hongos totales, *Pseudomonas fluorescens*, *Paenibacillus sp*, bacterias solubilizadoras totales, hongos solubilizadores totales, fijadores totales, *Bacillus sp* F2, *Paenibacillus sp* C3, *Bacillus sp* S3, *Rhodococcus sp*, *Bacillus sp* F4, *Rhodococcus sp*, *Penicillium sp* S2 y para ganadería están: *Penicillium sp* S5, *Chitinophaga arvensicola*.

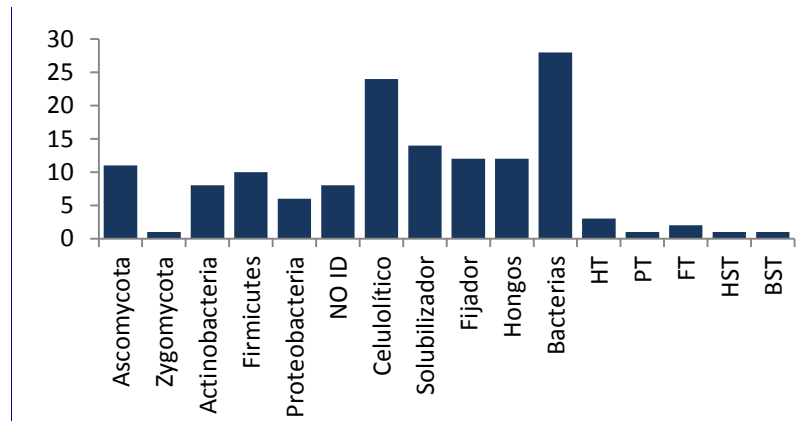
Al hacer un análisis global a nivel de filo de las especies y grupos de microorganismos que actuaron como indicadores de cambios en las tres fincas (Figura 5-8), se puede ver que predominaron los hongos Ascomycota sobre los Zygomycota. A nivel de bacterias los filotipos indicadores se ubican en cuatro filos: actinobacteria, firmicures, proteobacterias y los no identificados. Por otro lado se encuentra una predominancia de los celulolíticos sobre los otros grupos y de las bacterias sobre los hongos como indicadores. También se observa que los conteos globales de grupos funcionales se presentan como indicadores en las tres fincas.

Figura 5-7: CAP para grupos funcionales de microorganismos en la finca La Secreta.



A. Comportamiento grupos funcionales finca La Secreta B. Especies con mayor correlación sobre CAP1 figura A.

Figura 5-8: Frecuencia de distribución filotipos indicadores en las tres fincas.



En el eje Y frecuencia. HT: Hongos totales; PT: Procariotas totales; FT; Fijadores de nitrógeno totales; HST; Hongos solubilizadores totales; Bacterias solubilizadoras totales.

5.5 Análisis

Diversas investigaciones reportan el posible impacto de los cultivos agrícolas y sus prácticas asociadas sobre las comunidades microbianas. Se ha planteado por ejemplo, que el cultivo continuo del mismo producto sobre el mismo terreno podría afectar negativamente su rendimiento y la calidad del suelo, fenómeno conocido como “enfermedad del suelo” (Kreye et

al., 2009; Nayyar *et al.*, 2009; Gentry *et al.*, 2013; Zhou *et al.*, 2014). No obstante, en los páramos y particularmente en el PNN Los Nevados se desconoce el impacto que genera el cultivo de papa en rotación con ganadería sobre las comunidades microbianas del suelo. Esta falta de información se complejiza aún más si se tiene en cuenta que en el PNN Los Nevados el cultivo de papa se desarrolla en el marco de procesos de agricultura familiar campesina, presentando continuidad durante máximo dos años consecutivos y luego se permiten periodos de descanso de 7 a 10 o más años en ganadería. La ganadería del PNN Los Nevados se caracteriza por una baja relación en el número de cabezas de ganado con respecto a la extensión de las fincas (0.24 – 0.36 cabezas de ganado/ha). Por lo tanto, las prácticas agropecuarias al interior del PNN Los Nevados presentan diferencias con las desarrolladas en otras zonas de Colombia de menor altura, donde el cultivo de papa y la ganadería se encuentran enmarcados en la agricultura comercial, caracterizada además por mayor intensidad en la producción y las prácticas agrícolas (Capítulo 2).

Al realizar el análisis del conjunto de datos de abundancia y diversidad de grupos funcionales de microorganismos en la vereda El Bosque – PNNN Los Nevados, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en todos los tratamientos (uso, altura y época de muestreo). Sin embargo, también se encontró que estas diferencias dependen de la altura y condición climática en la que se haya realizado la respectiva evaluación. Esto implicaría que las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería sí modifican la comunidad microbiana de fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos, pero este impacto está fuertemente influenciado por los otros factores de análisis. Al respecto, se conoce por ejemplo, que la vegetación y la temporada ejercen una influencia evidente sobre la diversidad de bacterias y hongos del suelo (Kowalchuk *et al.*, 2002; He *et al.*, 2008; Zhang *et al.*, 2013). Así mismo, se han reportado experimentos en los que durante una hora de simulación de lluvia, la abundancia bacteriana y de hongos se reduce significativamente (en un 17,2 y 28,4 % respectivamente) en suelos cultivados de zonas montañosas de la región subtropical China (Huang *et al.*, 2013). También se ha reportado que durante el crecimiento de maíz en rotación con soya durante 18 años en Canadá, las fluctuaciones estacionales afectaban en mayor medida las propiedades microbiológicas del suelo, más que las prácticas de labranza y la fertilización con fósforo, concluyendo que la fecha de muestreo fue el factor de impacto predominante sobre las diferentes propiedades microbianas y fisicoquímicas evaluadas (Shi *et al.*, 2013). Los microorganismos del suelo responden a la variación climática, el contenido de humedad del suelo, la porosidad y, en particular, al contenido de materia orgánica, y todos están interrelacionados y dependen, en parte, de la gestión del suelo (Spedding *et al.*, 2004; Hamel *et al.*, 2006; Shi *et al.*, 2013). Por lo tanto, la respuesta de los microorganismos frente al cultivo de papa y la ganadería es un resultado complejo producto de la interacción de las condiciones climáticas, de la altura, de las características taxonómicas del suelo y las prácticas agropecuarias en sí mismas. Este resultado es concordante con otros estudios que informaron cambios en la estructura de la comunidad microbiana por efecto de las condiciones al momento del muestro y que muestran mayor variabilidad que la asociada con las prácticas de los cultivos, tales como fertilización, rotación, drenaje, labranza o residuos dejados en el suelo (Spedding *et al.*, 2004; Shi *et al.*, 2013).

Los análisis PERMANOVA para las tres fincas evaluadas indican que durante la época de lluvias se presentan diferencias estadísticamente significativas en la abundancia y composición de las comunidades microbianas de los suelos bajo páramo con respecto al cultivo de papa y del páramo con respecto a los suelos en ganadería, más no entre aquellos bajo cultivo de papa y ganadería. Sin embargo, en dos de las tres fincas: Buenos Aires y El Eden (agroecosistema que se encuentran a mayor altura) estas diferencias no fueron estadísticamente significativas

durante la época de sequía. Esto indica que durante el invierno los impactos de las prácticas agrícolas como la remoción de la capa vegetal, aplicación de agroquímicos y presencia del ganado son más fuertes que durante la época de sequía, en lo que a las comunidades microbianas evaluadas se refiere. Así mismo, indica que los agroecosistemas que se encuentran a mayor altura tienen mayor capacidad de atenuar estos impactos durante época de sequía. Esto puede ser debido a la mayor humedad y disminución en la temperatura que se presenta en las fincas de mayor altura.

Al analizar el MDS del conjunto de los datos (Figura 5-1) y los MDS de cada una de las fincas evaluadas (Figura 5-2,5-4,5-6) se observa que el impacto por las condiciones climáticas del muestreo es mayor que las generadas por el cultivo de papa y la ganadería, lo que permitiría presumir que las diferencias en precipitación, temperatura y humedad asociados a fenómenos como el cambio climático estarían teniendo mayor incidencia sobre las comunidades microbianas que las prácticas agrícolas desarrolladas por los campesinos de la vereda El Bosque. Esto permite recomendar estudios posteriores que profundicen en el impacto de las condiciones climáticas sobre los grupos funcionales, con el fin de tener mayores elementos de análisis que refuercen o contradigan esta hipótesis. Al respecto se ha reportado que los factores climáticos como la humedad, las fluctuaciones de temperatura, los ciclos de deshielo y la radiación ultravioleta tienen gran impacto sobre las comunidades microbianas del suelo (Lipson, 2007; Albert *et al.*, 2008; Bell *et al.*, 2008; Zumsteg *et al.*, 2013).

Al analizar los CAP de las tres fincas evaluadas (Figura 5-3, 5-5, 5-7) se observa la separación de las muestras por efecto del cultivo de papa, ganadería y páramo con la mayor conservación posible. Dada la ausencia de resultados que comparen la riqueza y estructura microbiana en los ecosistemas de páramo que han sido intervenidos con actividades agropecuarias, se hace necesario comparar con otros tipos de cultivos. Con relación a esto, diversos autores han reportado modificaciones en las comunidades microbianas producto de las actividades agrícolas, como cambios significativos en las comunidades microbianas por efecto del monocultivo continuo de pepino (*Cucumis sativus L.*) (Zhou *et al.*, 2014). Resultados similares se han encontrado en cultivos de arveja (Nayyar *et al.*, 2009; Lupwayi *et al.*, 2012), soya (Li *et al.*, 2010) y algodón (Acosta-Martínez *et al.*, 2010). Estos impactos pueden ser inducidos en primera medida por los cambios en la vegetación de cobertura del suelo, que ha pasado de coberturas de vegetación propia del páramo para dar paso a las relacionadas con el cultivo de papa y los pastos de la ganadería. Por lo tanto, el tipo de planta es uno de los principales determinantes de las comunidades microbianas del suelo, dado que la hojarasca y las rizodeposiciones (metabolitos de bajo peso molecular, aminoácidos, enzimas secretadas, mucílagos y lisados de células) son los principales proveedores de fuentes específicas de carbono y energía (Garbeva *et al.*, 2004; Dennis *et al.*, 2010) y las especies de plantas difieren en sus composiciones bioquímicas (Zak *et al.*, 2003; Nilsson *et al.*, 2008) lo que genera diferencias en las comunidades microbianas que crecen en los respectivos suelos rizosféricos.

La interacción entre las plantas y microorganismos del suelo es compleja, pues por un lado, las plantas podrían influir en la actividad y composición de la comunidad de microorganismos del suelo mediante la liberación de compuestos orgánicos (Bais *et al.*, 2006; Bever *et al.*, 2012) y por otro, los microorganismos del suelo proporcionan a las plantas nitrógeno, fósforo y otros minerales a través de la descomposición de la materia orgánica del suelo (Singh *et al.*, 2004). Por lo tanto, los cambios en los microorganismos edáficos pueden ser tanto una causa como un reflejo de las modificaciones en los cultivos (Zhou *et al.*, 2014), como es el caso del cultivo

de papa de la vereda El Bosque que después de 2 años continuos, presenta una baja significativa en la producción, razón por la cual los campesinos de la zona deciden dejarlo en descanso entre 7 a 10 años. Para el caso del cultivo de pepino (*Cucumissativus L.*) se sugiere por ejemplo, que el monocultivo continuo no debe realizarse por más de cinco cosechas (de acuerdo con las condiciones experimentales reportadas por los investigadores) (Zhou *et al.*, 2014). En este mismo sentido, se ha indicado que la restauración de la vegetación aumenta la diversidad genética de las bacterias del suelo y genera un cambio en la estructura de la comunidad bacteriana del suelo (Zhang *et al.*, 2013).

Así mismo aunque se ha sugerido que una gran diversidad de plantas podría promover mayor riqueza de especies microbianas debido al mayor número de nichos en la rizosfera o interacciones específicas entre las plantas y los microorganismos y que por tanto una baja diversidad de plantas puede estar asociado con una diversidad microbiana reducida (Brodie *et al.*, 2003), existen otros estudios en los que no se encuentran diversidades menores en ambientes con menor diversidad vegetal, como es el caso de la comparación entre suelos bajo pastos, cultivos agrícolas y bosques del Amazonas, donde se reporta que la conversión de bosques a pastizales y a procesos agrícolas no redujo la diversidad bacteriana ni la de hongos (Jesus *et al.*, 2009; Fracetto *et al.*, 2013). Esto iría en la misma línea de lo reportado en la presente investigación en donde el análisis global de riquezas, presenta leves aumentos de la riqueza de especies en suelos bajo cultivo y ganadería con respecto al páramo y riquezas muy similares entre las tres fincas, aunque estas diferencias no son estadísticamente significativas. Esto indicaría que los cambios en cobertura del suelo en la vereda El Bosque no han incidido lo suficiente sobre la riqueza de las comunidades microbianas para generar diferencias significativas, lo cual puede obedecer a la baja intensidad de manejo propia de la agricultura familiar que se desarrolla en la zona.

Por otro lado, adicional al cambio de cobertura del suelo, los cambios encontrados en la estructura de la comunidad microbiana producto del uso del suelo pueden ser atribuidos a la aplicación de agroquímicos (fertilizantes y plaguicidas). Al respecto se ha estimado que sólo el 0,1 % de plaguicidas aplicados alcanza las plagas objetivo y que el restante 99,9 % se acumula en los suelos y afecta directa o directamente su densidad microbiana y sus actividades enzimáticas (Singh y Singh, 2005; Das y Debnath, 2006; Pal *et al.*, 2006; Angelini *et al.*, 2013). Por ejemplo, se ha reportado que la adición de plaguicidas en los suelos agrícolas afecta negativamente a la población de bacterias de fijadoras de nitrógeno (Angelini *et al.*, 2013). En el mismo sentido se conoce que las comunidades microbianas del suelo son altamente influenciadas por el manejo y que pueden ser reducidas por la aplicación de fertilizantes inorgánicos y plaguicidas durante el cultivo (Moeskops *et al.*, 2010). También se sabe que la abundancia, composición y actividad de los microorganismos se ve afectado por diversos factores como la fertilización del suelo, la rotación, el manejo de residuos y la acidez del suelo (Perucci *et al.*, 1997; Peixoto *et al.*, 2010; Shen *et al.*, 2010; Jorquera *et al.*, 2014).

Aunque los plaguicidas podrían inducir disminuciones en la diversidad microbiana, en este estudio, los leves aumentos en riqueza y la mayor correlaciones de especies con el cultivo y la ganadería estarían indicando que la diversidad puede ser mayor en los suelos bajo cultivo de papa y ganadería en las condiciones en que se desarrollan en la vereda El Bosque, sin embargo estos aumentos no fueron estadísticamente significativos. Esto puede ser atribuido a que los agroquímicos aplicados pueden en una primera instancia ser fuente de nutrientes para los microorganismos y dado que el cultivo se presenta solo por dos años y luego hay periodos de descanso los plaguicidas no logran una disminución significativa de las especies características del páramo y durante los periodos de descanso la estructura microbiana se

recupera. En este sentido también se han encontrado estudios en los que se reporta el aumento de recuentos bacterianos en suelos tratados con fungicidas (Martinez-Toledo *et al.*, 1998; Monkiedje y Spiteller, 2002; Cycoñ *et al.*, 2006; Cycoñ *et al.*, 2010). La respuesta de los microorganismos en los suelos es compleja, porque poseen diferentes mecanismos de acción frente a la aplicación de agroquímicos. Por ejemplo, algunos microorganismos crecen en presencia de fungicidas, tomando fuentes de energía y nutrientes de hifas de hongos sin vida. Ello puede atribuirse también a que al eliminar los hongos del suelo las bacterias enfrentan menores competencias o inhibiciones antagónicas por la falta de metabolitos sintetizados por los hongos, por lo que se genera aumento en el número de bacterias (Chen *et al.*, 2003; Cycoñ *et al.*, 2010). Existen bacterias cultivables con capacidad relativamente alta de responder rápidamente a eventos de contaminación (Ellis *et al.*, 2002), que pueden utilizar algunos componentes de los agroquímicos para sobrevivir e incluso multiplicarse en los suelos con aplicación de plaguicidas (Cycoñ *et al.*, 2010).

Los resultados de la presente investigación se encuentran en concordancia con aquellos que han reportado que las condiciones ambientales pueden inducir diferentes comportamientos en los microorganismos, generando diferentes respuestas microbianas de acuerdo a los ecotipos. Varios estudios indican que las bacterias cultivables responden a los fungicidas en el suelo cambiando la proporción de sus poblaciones, que conducen a un mayor número de bacterias tolerantes y a la dominancia en el suelo de ecotipos especiales (De Leij *et al.*, 1994; Cycoñ *et al.*, 2010), de acuerdo con la capacidad de los microorganismos para degradar los plaguicidas aplicados y su estrategia de adaptación utilizada para sobrevivir bajo condiciones de estrés con procesos específicos. Estos procesos dependen de diferentes características tales como propiedades de los microorganismos, su función en el suelo y la intensidad del estrés ambiental (De Leij *et al.*, 1994; Cycoñ *et al.*, 2010), por lo que el entendimiento de su funcionamiento y particularmente el análisis de los impactos en el PNN Los Nevados se hace más compleja.

El análisis de los CAP y sus vectores evidencia que en general en las tres fincas se presentan menores números de microorganismos que correlacionan con el suelo bajo páramo, en relación con los que se presentan bajo cultivo de papa y ganadería. Al respecto se ha encontrado que la estructura genética de las comunidades bacterianas de los suelos sin labranza (que en este caso podría ser una aproximación a los suelos bajo páramo) presentan mayores modificaciones por el estrés hídrico y exhiben tasas de recuperación más lentas que las que sí han presentado labranza, lo que sugiere que las prácticas asociadas al uso del suelo pueden aumentar la resistencia funcional microbiana a través de la creación de comunidades bacterianas con capacidades metabólicas especiales (Kaisermann *et al.*, 2013). Sin embargo, es de aclarar que este comportamiento es posible dados los periodos de descanso acerca de la aplicación de agroinsumos que no permiten la eliminación total de los microorganismos que se encuentran en proceso de adaptación a las nuevas condiciones bioquímicas del suelo. Por tanto, los impactos generados por el cultivo de papa y la ganadería en los suelos de la vereda El Bosque serían de menores proporciones si se comparan con los sistemas de manejo convencional que se presentan para el cultivo de papa en otras zonas del país, donde este monocultivo permanece a lo largo de los años sobre el mismo terreno.

Por otro lado, del total de microorganismos que están siendo indicadores de cambios por efecto del cultivo de papa y la ganadería, 24 fueron celulolíticos, 14 solubilizadores de fosfato y 12 fijadores de nitrógeno. Sin embargo, no se presenta ninguna tendencia específica de la presencia o ausencia de dichos grupo funcionales en alguno de los usos del suelo evaluados.

Al analizar la distribución de los microorganismos por agroecosistema se puede notar que el número de celulolíticos disminuyó para el agroecosistema La Secreta, siendo ésta la de menor altura. Los microorganismos celulolíticos son muy sensibles para detectar cambios producidos inmediatamente después de un disturbio intenso como los laboreos del suelo (Abril, 2003). Se podría plantear que estos cambios en organismos fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fosfato pueden ser una respuesta debida principalmente a las aplicaciones de fertilizantes del tipo N:P:K, los cuales, al tener alta composición de nitrógeno y fósforo, afectan la dinámica de los microorganismos asociados a dichos ciclos geoquímicos. Sin embargo, los cambios en microorganismos celulolíticos pueden ser atribuidos a cambios relacionados con el ciclo del carbono, en los cuales elementos como el tipo de materia orgánica y la cobertura vegetal pueden ser más relevantes. Esto en concordancia con lo reportado en el Capítulo 3 en donde se afirma que las modificaciones más relevantes en los aspectos fisicoquímicos se presentaron en la materia orgánica, lo cual se atribuía a los cambios de cobertura vegetal y a las acciones mecánicas sobre el suelo, causadas por el cultivo de papa y la ganadería.

Adicionalmente, se encontraron microorganismos que fueron redundantes por su presencia como indicadores de cambio en las tres fincas, como los hongos totales en las tres fincas cuya presencia correlaciona con el cultivo de papa y la ganadería. Los microorganismos fijadores totales también fueron redundantes en dos de las fincas, aumentando su correlación con respecto al cultivo de papa. Los dos casos indican una posible promoción del crecimiento de hongos totales y fijadores de nitrógeno por acción de las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería. Al respecto (Madrinán *et al.*, 2013) reportaron que en suelos en descanso y de bosque se presentan mayores números de morfotipos de hongos, con relación a suelos cultivados con dos variedades de papa. En este caso lo autores argumentan posible inhibición de ciertos grupos por efecto de los agroquímicos empleados y retoman a otros autores como Wardle *et al* (1994) quienes también registraron una reducción de las poblaciones de hongos activos en suelos cultivados, con aplicación de plaguicidas y fertilizantes y una alta presencia de hongos en estados latentes, como propágulos de resistencia (Wardle *et al.*, 1994). Por otro lado, la redundancia de los hongos totales y los fijadores de nitrógeno como indicadores de cambio por el uso del suelo estaría sugiriendo su uso para posteriores análisis, evitando la posible discriminación e identificación de cada uno de los microorganismos involucrados.

La bacteria solubilizadora *Pseudomonas fluorescens* también se presentó como indicadora en dos fincas, mostrando correlación con los suelos bajo cultivo de papa y ganadería. Algunos estudios señalan a *Pseudomonas fluorescens* como inductora de eficiencia de la solubilización del fósforo junto con *Pseudomonas striata* y *Trichoderma harzianum* en suelos neutros, sin embargo los suelos del presente estudio son ácidos y extremadamente ácidos para los cuales se ha reportado *Pseudomonas striata* y *Trichoderma harzianum* en suelos alcalinos *Pseudomonas fluorescens* y *Trichoderma harzianum* (Shen *et al.*, 2013). La bacteria fijadora *Chitinophaga arvensicola* fue redundante en dos fincas, en una ocasión en correlación con la ganadería y en otra con el páramo, indicaría una posible especie de transición. La bacteria fijadora de nitrógeno *Rhodococcus sp* fue redundante en dos fincas y en ambos casos con alta correlación con cultivo de papa, lo que indicaría que las prácticas asociadas en este caso están aumentando su abundancia. La mayoría de los microorganismos indicadores fueron celulolíticos, aunque ninguno de ellos presentó redundancia en su aparición, como si sucedió con los fijadores de nitrógeno y solubilizadores de fosfato citados previamente.

Otros resultados han indicado que la incorporación de enmiendas orgánicas y la labranza mínima aumentan la diversidad relativa de poblaciones fúngicas y la riqueza de especies bacterianas (Rames *et al.*, 2013), por lo que la recomendación para los cultivos desarrollados al

interior del PNN Los Nevados para evitar que se presenten mayores cambios producto de las prácticas agrícolas es realizar procesos de transición hacia prácticas ecológicas en las que sustratos provenientes del páramo puedan ser usados como fuente de nutrientes, de tal manera que se busque imitar los ciclos naturales del páramo en conservación. Las enmiendas orgánicas estimulan una variedad de organismos debido a las entradas de carbono y otros nutrientes (Chaudhry *et al.*, 2012; Rames *et al.*, 2013) y existen evidencias que indican que los insumos orgánicos aplicados por un largo periodo de tiempo poseen efectos positivos tanto en los hongos como en las comunidades bacterianas en suelos de Kenya (Kamaa *et al.*, 2012). También se han encontrado aumentos en la diversidad microbiana y el rendimiento de cultivos orgánicos en comparación con los tratamientos convencionales (Girvan *et al.*, 2004; Melero *et al.*, 2006; Sharma *et al.*, 2011). Como resultado, se sugiere que la riqueza y la diversidad de la comunidad microbiana en suelos tratados con estiércol se mejoran y ello correlaciona positivamente con la productividad del suelo (Parham *et al.*, 2003).

5.6 Conclusiones

Se presentan cambios en la diversidad de grupos funcionales de microorganismos por efecto del cultivo de papa y ganadería sobre los suelos de páramo, y estos cambios son dependientes de la altura y la condición climática en la que fueron evaluados. Para los tres agroecosistemas estudiados estos cambios son estadísticamente significativos en la época de invierno y en una de las tres fincas (La Secreta) en la época de sequía. Los resultados indican que las condiciones climáticas están teniendo un mayor impacto sobre las comunidades microbianas evaluadas que el uso del suelo. Los cambios en las comunidades microbianas muestran diferencias significativas en la mayoría de las veces entre cultivo de papa y páramo y en algunos casos entre ganadería y páramo, sin embargo las diferencias entre cultivo de papa y ganadería son de menor dimensión. Esto refleja el impacto de las prácticas agrícolas asociadas al cultivo de papa sobre los microorganismos, indicando en la ganadería un estado de transición entre el cultivo y el páramo. No se presentan diferencias estadísticamente significativas en la riqueza microbiana por cuenta de los diferentes factores evaluados, pero se registraron leves aumentos en la riqueza microbiana producto de las actividades agropecuarias. Los mejores indicadores de cambio fueron los hongos totales, los microorganismos fijadores de nitrógeno, la bacteria solubilizadora *Pseudomonas fluorescens*, las bacterias fijadoras *Chitinophaga arvensicola* y *Rhodococcus* sp las cuales, en general, aumentaron su presencia en los suelos bajo cultivo de papa y la ganadería (con excepción de *Chitinophaga arvensicola* que también aumentó en páramo).

5.7 Bibliografía

- Abril, A., 2003. ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología austral* 13, 195-204.
- Acosta-Martinez, V., Burow, G., Zobeck, T., Allen, V., 2010. Soil microbial communities and function in alternative systems to continuous cotton. *Soil Science Society of America Journal* 74, 1181-1192.

- Albert, K.R., Rinnan, R., Ro-Poulsen, H., Mikkelsen, T.N., Hakansson, K.B., Arndal, M.F., Michelsen, A., 2008. Solar ultraviolet-B radiation at Zackenberg: the impact on higher plants and soil microbial communities. *Advances in Ecological Research* 40, 421-440.
- Altschul S, Gish, W., Miller, W., Myersew, L., 1990. Basic Local alignment search tool. *Journal molecular Biology* 215 (3), 403-410.
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust Ecol* 26, 32-46.
- Anderson, M.J., Ellingsen, K.E., McArdle, B.H., 2006. Multivariate dispersion as a measure of beta diversity. *Ecology Letters* 9, 683-693.
- Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R., 2008. PERMANOVA for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK.
- Anderson, M.J., Willis, T.J., 2003. Canonical analysis of principal coordinates: a useful method of constrained ordination for ecology. *Ecology* 84, 511-525.
- Angelini, J., Silvina, G., Taurian, T., Ibáñez, F., Tonelli, M., Valetti, L., Anzuay, M., Ludueña, L., Muñoz, V., Fabra, A., 2013. The effects of pesticides on bacterial nitrogen fixers in peanut-growing area. *Arch Microbiol* 195, 683-692.
- Avellaneda-Torres, Guevara, Torres, 2014. Assessment of cellulolytic microorganisms in soils of Nevados Park, Colombia. *Brazilian Journal of Microbiology*. En prensa.
- Avellaneda-Torres, L.M., Torres-Rojas, E., 2013. Grupos funcionales de microorganismos del suelo asociados a cultivo de papa, ganadería y páramo del Parque Nacional Natural de Los Nevados, 1060 registros. En línea, http://ipt.sibcolombia.net/sib/resource.do?r=unal_gebix, publicado el 23/07/2013.
- Bainard, L.D., Koch, A.M., Gordon, A.M., Klironomos, J.N., 2013. Growth response of crops to soil microbial communities from conventional monocropping and tree-based intercropping systems. *Plant Soil* 363, 345-356.
- Bais, H.P., Weir, T.L., Perry, L.G., Gilroy, S., Vivanco, J.M., 2006. The role of root exudates in rhizosphere interactions with plants and other organisms. *Annu. Rev. Plant Biol.* 57, 233-266.
- Bell, C., McIntyre, N., Cox, S., Tissue, D., Zak, J., 2008. Soil microbial responses to temporal variations of moisture and temperature in a Chihuahuan Desert grassland. *Microb Ecol* 56, 153-167.
- Benson, D., Karsch-Mizrachi, L., Lipman, D., Ostell, J., Rap, M., Wheeler, D., 2000. GenBank. *Nucleic Acids Res* 28, 15-18.
- Bever, J.D., Platt, T.G., Morton, E.R., 2012. Microbial population and community dynamics on plant roots and their feedbacks on plant communities. *Annual review of microbiology* 66, 265.
- Billings, W., 1973. Arctic and alpine vegetations: similarities, differences, and susceptibility to disturbance. *BioScience* 23, 697-704.
- Bissett, A., Burke, C., Cook, P.L., Bowman, J.P., 2007. Bacterial community shifts in organically perturbed sediments. *Environmental microbiology* 9, 46-60.
- Brodie, E., Edwards, S., Clipson, N., 2003. Soil fungal community structure in a temperate upland grassland soil. *FEMS Microbiology Ecology* 45, 105-114.
- Brussaard, L., De Ruiter, P.C., Brown, G.G., 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 121, 233-244.
- Burns, R.G., 1982. Enzyme activity in soil: Location and a possible role in microbial ecology. *Soil Biology and Biochemistry* 14, 423-427.
- Chaparro, J.M., Sheflin, A.M., Manter, D.K., Vivanco, J.M., 2012. Manipulating the soil microbiome to increase soil health and plant fertility. *Biol Fertil Soils* 48, 489-499.

- Chaudhry, V., Rehman, A., Mishra, A., Chauhan, P.S., Nautiyal, C.S., 2012. Changes in bacterial community structure of agricultural land due to long-term organic and chemical amendments. *Microb Ecol* 64, 450-460.
- Chen, S.-K., Edwards, C.A., Subler, S., 2003. The influence of two agricultural biostimulants on nitrogen transformations, microbial activity, and plant growth in soil microcosms. *Soil Biology and Biochemistry* 35, 9-19.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Australian Journal of Ecology* 18, 117-143.
- Clarke, K.R., Warwick, R.M., 2001. Change in marine communities: An approach to statistical Analysis and Interpretation 2nd Edition. Plymouth Marine Laboratory, UK, Plymouth.
- Cleef, A.M., Rangel, O., Salamanca, S., 1983. Reconocimiento de la vegetación de la parte alta del transecto Parque Los Nevados. *Studies on neotropical andean ecosystems*, 150-173.
- Cycoń, M., Piotrowska-Seget, Z., Kaczyńska, A., Kozdrój, J., 2006. Microbiological characteristics of a sandy loam soil exposed to tebuconazole and λ -cyhalothrin under laboratory conditions. *Ecotoxicology* 15, 639-646.
- Cycoń, M., Piotrowska-Seget, Z., Kozdrój, J., 2010. Responses of indigenous microorganisms to a fungicidal mixture of mancozeb and dimethomorph added to sandy soils. *International Biodeterioration & Biodegradation* 64, 316-323.
- Das, A.C., Debnath, A., 2006. Effect of systemic herbicides on N₂-fixing and phosphate solubilizing microorganisms in relation to availability of nitrogen and phosphorus in paddy soils of West Bengal. *Chemosphere* 65, 1082-1086.
- De Leij, F., Whipps, J., Lynch, J., 1994. The use of colony development for the characterization of bacterial communities in soil and on roots. *Microb Ecol* 27, 81-97.
- Dennis, P.G., Miller, A.J., Hirsch, P.R., 2010. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS microbiology ecology* 72, 313-327.
- Doran, J.W., Zeiss, M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology* 15, 3-11.
- Ellis, R.J., Best, J.G., Fry, J.C., Morgan, P., Neish, B., Trett, M.W., Weightman, A.J., 2002. Similarity of microbial and meiofaunal community analyses for mapping ecological effects of heavy-metal contamination in soil. *FEMS Microbiology Ecology* 40, 113-122.
- Estupiñán, L.H., Gómez, J.E., Barrantes, V.J., Limas, L.F., 2009. Efecto de actividades agropecuarias en las características del suelo en el páramo El Granizo (Cundinamarca-Colombia). *Revista UDC A Actualidad & Divulgación Científica* 12, 79-89.
- Fandiño, M., Wyngaarden, V., 2002. Parque Nacional Natural Los Nevados. Un Caso de selección y zonificación de áreas de conservación biológica. IDEADE-DET, Bogotá. Colombia.
- Fracetto, G.G., Azevedo, L.C., Fracetto, F.J., Andreote, F.D., Lambais, M.R., Pfenning, L.H., 2013. Impact of Amazon land use on the community of soil fungi. *Scientia Agricola* 70, 59-67.
- Garbeva, P., van, Van Veen, J., Van Elsas, J., 2004. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243-270.
- Gentry, L.F., Ruffo, M.L., Below, F.E., 2013. Identifying factors controlling the continuous corn yield penalty. *Agronomy Journal* 105, 295-303.

- Girvan, M.S., Bullimore, J., Ball, A.S., Pretty, J.N., Osborn, A.M., 2004. Responses of active bacterial and fungal communities in soils under winter wheat to different fertilizer and pesticide regimens. *Applied and environmental microbiology* 70, 2692-2701.
- Hamel, C., Hanson, K., Selles, F., Cruz, A.F., Lemke, R., McConkey, B., Zentner, R., 2006. Seasonal and long-term resource-related variations in soil microbial communities in wheat-based rotations of the Canadian prairie. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 2104-2116.
- He, X.-Y., Wang, K.-L., Zhang, W., Chen, Z.-H., Zhu, Y.-G., Chen, H.-S., 2008. Positive correlation between soil bacterial metabolic and plant species diversity and bacterial and fungal diversity in a vegetation succession on Karst. *Plant Soil* 307, 123-134.
- Hofstede, R., 2003. Los Páramos en el mundo: su diversidad y sus habitantes. In: Hofstede, R., Segarra, P., Mena, P. (Eds.), *Los Páramos del mundo. Proyecto Atlas Mundial de los Páramos Global Peatland Initiative/NC--IUCN/EcoCiencia*, Quito, Ecuador.
- Hofstede, R., 2008. La gestión institucional del manejo de los páramos andinos: elementos del enfoque ecosistémico a nivel del paisaje regional. In: Agrarios, P.D.p.A.A.y. (Ed.), *Panorama y perspectivas sobre la gestión ambiental de los ecosistemas de páramo. Memorias. Procuraduría General de la Nación*, Bogota, Colombia.
- Hofstede, R.G., 1995. The effects of grazing and burning on soil and plant nutrient concentrations in Colombian páramo grasslands. *Plant Soil* 173, 111-132.
- Huang, J., Li, Z., Zeng, G., Zhang, J., Li, J., Nie, X., Ma, W., Zhang, X., 2013. Microbial responses to simulated water erosion in relation to organic carbon dynamics on a hilly cropland in subtropical China. *Ecological Engineering* 60, 67-75.
- Jesus, E., Marsh, T.L., Tiedje, J.M., Moreira, F.M., 2009. Changes in land use alter the structure of bacterial communities in Western Amazon soils. *The ISME journal* 3, 1004-1011.
- Jorquera, M., Martínez, O., Marileo, L., Acuña, J., Sagggar, S., Mora, M., 2014. Effect of nitrogen and phosphorus fertilization on the composition of rhizobacterial communities of two Chilean Andisol pastures. *World J Microbiol Biotechnol* 30, 99-107.
- Kaisermann, A., Roguet, A., Nunan, N., Maron, P.-A., Ostle, N., Lata, J.-C., 2013. Agricultural management affects the response of soil bacterial community structure and respiration to water-stress. *Soil Biology and Biochemistry* 66, 69-77.
- Kamaa, M.M., Mburu, H.N., Blanchart, E., Chibole, L., Chotte, J.L., Kibunja, C.N., Lesueur, D., 2012. Effects of Organic and Inorganic Applications on Soil Bacterial and Fungal Microbial Communities Diversity and Impacts of Earthworms on Microbial Diversity in the Kabete Long-Term Trial, Kenya. In: Bationo, A., Waswa, B., Kihara, J., Adolwa, I., Vanlauwe, B., Saidou, K. (Eds.), *Lessons learned from Long-term Soil Fertility Management Experiments in Africa*. Springer Netherlands, pp. 121-136.
- Kowalchuk, G.A., Buma, D.S., de Boer, W., Klinkhamer, P.G., van Veen, J.A., 2002. Effects of above-ground plant species composition and diversity on the diversity of soil-borne microorganisms. *Antonie van Leeuwenhoek* 81, 509-520.
- Kreye, C., Bouman, B., Faronilo, J., Llorca, L., 2009. Causes for soil sickness affecting early plant growth in aerobic rice. *Field Crops Research* 114, 182-187.
- Lane D, J.N.A.T.i.B.S., 1991. *Nucleic Acid Techniques in Bacterial Systematics*. Wiley Chichester, MA.
- Li, C., Li, X., Kong, W., Wu, Y., Wang, J., 2010. Effect of monoculture soybean on soil microbial community in the Northeast China. *Plant Soil* 330, 423-433.
- Lipson, D.A., 2007. Relationships between temperature responses and bacterial community structure along seasonal and altitudinal gradients. *FEMS Microbiology Ecology* 59, 418-427.
- Lupwayi, N.Z., Lafond, G.P., May, W.E., Holzapfel, C.B., Lemke, R.L., 2012. Intensification of Field Pea Production: Impact on Soil Microbiology. *Agronomy Journal* 104, 1189-1196.

- Luteyn, J.L., 1999. Páramos: a checklist of plant diversity, geographical distribution, and botanical literature. The New York Botanical Garden, New York.
- Madrinán, S., Cortés, A.J., Richardson, J.E., 2013. Páramo is the world's fastest evolving and coolest biodiversity hotspot. *Frontiers in genetics* 4.
- Mantilla-Paredes, A., Cardona, Peña-Venegas, C., Murcia, U., Rodríguez, M., Zambrano, M., 2009. Distribución de bacterias potencialmente fijadoras de nitrógeno y su relación con parámetros fisicoquímicos en suelos con tres coberturas vegetales en el sur de la Amazonia colombiana. *Rev. biol. trop [online]* 57, 915-927.
- Martinez-Toledo, M., Salmeron, V., Rodelas, B., Pozo, C., González-López, J., 1998. Effects of the fungicide Captan on some functional groups of soil microflora. *Applied Soil Ecology* 7, 245-255.
- Melero, S., Porras, J.C.R., Herencia, J.F., Madejon, E., 2006. Chemical and biochemical properties in a silty loam soil under conventional and organic management. *Soil and Tillage Research* 90, 162-170.
- Moeskops, B., Sukristiyonubowo, Buchan, D., Sleutel, S., Herawaty, L., Husen, E., Saraswati, R., Setyorini, D., De Neve, S., 2010. Soil microbial communities and activities under intensive organic and conventional vegetable farming in West Java, Indonesia. *Applied Soil Ecology* 45, 112-120.
- Monkiedje, A., Spiteller, M., 2002. Effects of the phenylamide fungicides, mefenoxam and metalaxyl, on the microbiological properties of a sandy loam and a sandy clay soil. *Biol Fertil Soils* 35, 393-398.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853-858.
- Nayyar, A., Hamel, C., Lafond, G., Gossen, B.D., Hanson, K., Germida, J., 2009. Soil microbial quality associated with yield reduction in continuous-pea. *Applied Soil Ecology* 43, 115-121.
- Nazih, N., Finlay-Moore, O., Hartel, P., Fuhrmann, J., 2001. Whole soil fatty acid methyl ester (FAME) profiles of early soybean rhizosphere as affected by temperature and matrix water potential. *Soil Biology and Biochemistry* 33, 693-696.
- Nesme, T., Colomb, B., Hinsinger, P., Watson, C.A., 2014. Soil Phosphorus Management in Organic Cropping Systems: From Current Practices to Avenues for a More Efficient Use of P Resources. *Organic Farming, Prototype for Sustainable Agricultures*. Springer, pp. 23-45.
- Nilsson, M.C., Wardle, D.A., DeLuca, T.H., 2008. Belowground and aboveground consequences of interactions between live plant species mixtures and dead organic substrate mixtures. *Oikos* 117, 439-449.
- Pal, R., Chakrabarti, K., Chakraborty, A., Chowdhury, A., 2006. Effect of pencycuron on microbial parameters of waterlogged soil. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 41, 1319-1331.
- Parham, J., Deng, S., Da, H., Sun, H., Raun, W., 2003. Long-term cattle manure application in soil. II. Effect on soil microbial populations and community structure. *Biol Fertil Soils* 38, 209-215.
- Peixoto, R., Chaer, G., Franco, N., Junior, F.R., Mendes, I., Rosado, A., 2010. A decade of land use contributes to changes in the chemistry, biochemistry and bacterial community structures of soils in the Cerrado. *Antonie van Leeuwenhoek* 98, 403-413.
- Perucci, P., Bonciarelli, U., Santilocchi, R., Bianchi, A., 1997. Effect of rotation, nitrogen fertilization and management of crop residues on some chemical, microbiological and biochemical properties of soil. *Biol Fertil Soils* 24, 311-316.

- Plaza, G.A., Upchurch, R., Brigmon, R.L., Whitman, W.B., Ulfing, K., 2004. Rapid DNA Extraction for Screening Soil Filamentous Fungi Using PCR Amplification. 13(3), 315-318.
- Poly, F., Monrozier, L.J., Bally, R., 2001. Improvement in the RFLP procedure for studying the diversity of nifH genes in communities of nitrogen fixers in soil. *Research in Microbiology* 152, 95-103.
- Rames, E.K., Smith, M.K., Hamill, S.D., Faveri, J., 2013. Microbial indicators related to yield and disease and changes in soil microbial community structure with ginger farm management practices. *Australasian Plant Pathol.* 42, 685-692.
- Rennie, R., J, 1988. A single medium for the isolation of acetilene-reducing (Dinitrogen-fixing) bacteria from soils. *Canadian Journal of Microbiology* 27, 8-14.
- Sharma, S., Ramesh, A., Sharma, M., Joshi, O., Govaerts, B., Steenwerth, K., Karlen, D., 2011. Microbial Community Structure and Diversity as Indicators for Evaluating Soil Quality. In: Lichtfouse, E. (Ed.), *Biodiversity, Biofuels, Agroforestry and Conservation Agriculture*. Springer Netherlands, pp. 317-358.
- Shen, C., Xiong, J., Zhang, H., Feng, Y., Lin, X., Li, X., Liang, W., Chu, H., 2013. Soil pH drives the spatial distribution of bacterial communities along elevation on Changbai Mountain. *Soil Biology and Biochemistry* 57, 204-211.
- Shen, J.-P., Zhang, L.-M., Guo, J.-F., Ray, J.L., He, J.-Z., 2010. Impact of long-term fertilization practices on the abundance and composition of soil bacterial communities in Northeast China. *Applied Soil Ecology* 46, 119-124.
- Shi, Y., Lalonde, R., Hamel, C., Ziadi, N., Gagnon, B., Hu, Z., 2013. Seasonal variation of microbial biomass, activity, and community structure in soil under different tillage and phosphorus management practices. *Biol Fertil Soils* 49, 803-818.
- Singh, B.K., Millard, P., Whiteley, A.S., Murrell, J.C., 2004. Unravelling rhizosphere-microbial interactions: opportunities and limitations. *Trends in microbiology* 12, 386-393.
- Singh, J., Singh, D.K., 2005. Dehydrogenase and phosphomonoesterase activities in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) field after diazinon, imidacloprid and lindane treatments. *Chemosphere* 60, 32-42.
- Smith, A.P., Young, T.P., 1987. Tropical alpine plant ecology. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 137-158.
- Sotomayor-Ramírez, D., Espinoza, Y., Acosta-Martínez, V., 2009. Land use effects on microbial biomass C, β -glucosidase and β -glucosaminidase activities, and availability, storage, and age of organic C in soil. *Biol Fertil Soils* 45, 487-497.
- Spedding, T., Hamel, C., Mehuys, G., Madramootoo, C., 2004. Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 499-512.
- Sundara, R., Sinha, M., 1963. Organisms phosphate solubilizers in soil. *Indian Journal of Agriculture Science* 33, 272-278.
- Talia, P., Sede, S.M., Campos, E., Rorig, M., Principi, D., Tosto, D., Hopp, H.E., Grasso, D., Cataldi, A., 2012. Biodiversity characterization of cellulolytic bacteria present on native Chaco soil by comparison of ribosomal RNA genes. *Research in Microbiology* 163, 221-232.
- UAESPNN, CARDER, varios, A., 2007. Recuperar el Páramo. Restauración Ecológica en la Laguna del Otún Parque Nacional Natural Los Nevados. In: Velasco-Linares, P. (Ed.), Pereira, Colombia.
- Wardle, D., Nicholson, K., Rahman, A., 1994. Influence of herbicide applications on the decomposition, microbial biomass, and microbial activity of pasture shoot and root litter. *New Zealand Journal of Agricultural Research* 37, 29-39.
- Wasaki, J., Rothe, A., Kania, A., Neumann, G., Römheld, V., Shinano, T., Osaki, M., Kandeler, E., 2005. Root exudation, phosphorus acquisition, and microbial diversity in the

- rhizosphere of white lupine as affected by phosphorus supply and atmospheric carbon dioxide concentration. *Journal of environmental quality* 34, 2157-2166.
- Yadav, K., Dadarwal, K., 1997. Phosphate solubilization and mobilization through soil microorganisms. *Biotechnological approaches in soil microorganisms for sustainable crop production.*, 293-308.
- Yang, J.-K., Zhang, J.-J., Yu, H.-Y., Cheng, J.-W., Miao, L.-H., 2014. Community composition and cellulase activity of cellulolytic bacteria from forest soils planted with broad-leaved deciduous and evergreen trees. *Appl Microbiol Biotechnol* 98, 1449-1458.
- Zak, D.R., Holmes, W.E., White, D.C., Peacock, A.D., Tilman, D., 2003. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecology* 84, 2042-2050.
- Zhang, H., Song, X., Wang, C., Liu, H., Zhang, J., Li, Y., Li, G., Yang, D., Zhao, S., 2013. The effects of different vegetation restoration patterns on soil bacterial diversity for sandy land in Hulunbeier. *Acta Ecologica Sinica* 33, 211-216.
- Zhou, X., Gao, D., Liu, J., Qiao, P., Zhou, X., Lu, H., Wu, X., Liu, D., Jin, X., Wu, F., 2014. Changes in rhizosphere soil microbial communities in a continuously monocropped cucumber (*Cucumis sativus* L.) system. *European Journal of Soil Biology* 60, 1-8.
- Zumsteg, A., Bååth, E., Stierli, B., Zeyer, J., Frey, B., 2013. Bacterial and fungal community responses to reciprocal soil transfer along a temperature and soil moisture gradient in a glacier forefield. *Soil Biology and Biochemistry* 61, 121-132.

6. Capítulo 6. Análisis de diversidad de la comunidad microbiana (región V5-V6 16S rRNA) presente en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo en el Parque Nacional Natural los Nevados, Colombia⁶.

6.1 Resumen

Con el objetivo de caracterizar la diversidad microbiana y las posibles relaciones asociadas al cultivo de papa y la ganadería en suelos de páramo del Parque Nacional Natural de Los Nevados (PNN Los Nevados), se realizó análisis de riqueza y estructura microbiana en resultados de pirosecuenciación de amplicones de la región hipervariable V5-V6 del gen 16S rRNA. Para esto se colectaron muestras en tres usos de suelo: cultivo de papa, ganadería y páramo en conservación localizadas en dos fincas de diferente altitud y en dos momentos de muestreo: época de lluvias y época de sequía. Los resultados sugieren que no existen diferencias estadísticamente significativas en las comunidades microbianas producto de las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería con respecto a los suelos bajo páramo del PNN Los Nevados. Sin embargo se encuentran diferencias estadísticamente significativas en los resultados comparando época de muestreo y altitud de las fincas. Los análisis canónicos discriminantes indican diferencias en la composición de las unidades taxonómicas operativas representativas (sigla en inglés OTUs) de la comunidad microbiana presente en el suelo del cultivo de papa y la ganadería. Dichos OTUs pueden constituir un indicador temprano de modificaciones en la estructura de la comunidad microbiana. Estos resultados pueden deberse a la aplicación de saberes propios de los campesinos de la zona que introducen largos periodos de barbecho (superiores a 7 años) entre cada cultivo de papa y baja cantidad de ganado con respecto a la extensión de tierra de las fincas, lo cual puede introducir factores atenuantes en estos impactos.

⁶ El presente artículo se encuentra escrito bajo las instrucciones de autor de la revista *Agriculture, Ecosystems & Environment*.

Palabras clave: riqueza microbiana, estructura microbiana, impacto prácticas agrícolas, áreas protegidas.

6.2 Introducción

Los páramos son considerados biomas exclusivos de las montañas neotropicales que se distribuyen sobre las cadenas montañosas de los andes de Colombia, Venezuela, Ecuador, el Norte de Perú, Costa Rica y Panamá (Luteyn, 1999). En Colombia, se encuentra el PNN Los Nevados el cual constituye una región de alto interés dado que el páramo es su ecosistema más representativo, ocupando 66.21 % del área total del parque (Nevados, 2007).

Al interior del PNN Los Nevados se desarrollan actividades productivas asociadas al cultivo de papa y la ganadería, producto de la aplicación del modelo de revolución verde en combinación con prácticas campesinas de los habitantes de la zona. No obstante la pesar de la importancia ecológica de este parque y de los suelos que allí se encuentran, aún se desconoce el impacto que generan las actividades agropecuarias sobre la biodiversidad de los microorganismos del suelo. La diversidad microbiana del suelo es esencial para mantener el funcionamiento de los ecosistemas (Ramsey *et al.*, 2005; Bissett *et al.*, 2007; Brussaard *et al.*, 2007) y es crucial para el desarrollo de los ciclos de nutrientes, en la descomposición de la materia orgánica, en los flujos de energía y demás funciones ecológicas del suelo (Doran y Zeiss, 2000; Zhang *et al.*, 2013a).

El aislamiento de los microorganismos del suelo, se ha realizado a través del uso de técnicas dependientes del cultivo, pero la mayoría de microorganismos no pueden cultivarse fácilmente, por lo cual su caracterización se vuelve un reto. Con el advenimiento de técnicas de secuenciación de alto rendimiento se han abierto nuevas oportunidades de exploración microbiana bajo enfoques de cultivo independientes, sin embargo, estas metodologías están en permanente construcción debido a la gran información generada, dado que se considera el suelo como el hábitat más diverso y densamente poblada del planeta, el cual puede contener hasta 1.000 Gpb de información genética por gramo de suelo (Pershina *et al.*, 2013).

En particular la subunidad ribosomal 16S se ha utilizado comúnmente para análisis filogenéticos, de clasificación porque la tasa de cambios evolutivos de esta secuencia permite la diferenciación a nivel de especie (Acinas *et al.*, 2004). En especial, la región V5-V6 se ha utilizado para estudios de diversidad bacteriana debido a la alta variabilidad que presenta a pesar de encontrarse rodeada por regiones altamente conservadas, reportando una alta discriminación y un alto número de amplicones clasificados correctamente (Andersson *et al.*, 2008; Claesson *et al.*, 2010).

Por otro lado, la pirosecuenciación o secuenciación 454 de las regiones variables del gen 16S rRNA (pyrotags 16S) es una metodología de secuenciación de segunda generación que es capaz de generar miles de secuencias de varias muestras simultáneamente (Keijsers *et al.*, 2008; Purnima *et al.*, 2011) y produce longitudes promedio de lectura de más de 200 pb (Liu *et al.*, 2007; Tringe y Hugenholtz, 2008) que han probado ser útiles en la descripción detallada de comunidades microbianas complejas. Por consiguiente, el presente estudio tuvo como objetivo evaluar los posibles cambios asociados al cultivo de

papa y la ganadería sobre la diversidad microbiana (pirosecuenciación de la región V5-V6 del gen 16S rRNA) presente en suelos de páramo del PNN Los Nevados.

6.3 Materiales y métodos

6.3.1 Descripción del lugar de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la vereda El Bosque, municipio de Pereira, Risaralda, al interior del PNN Los Nevados, Colombia. Esta vereda es el único asentamiento humano al interior del PNN Los Nevados (BID *et al.*, 2002). Allí se desarrollan actividades de cultivo de papa en rotación con pastos (ganadería), en ciclos bianuales y con períodos de barbecho superiores a los 7 años. El trabajo del cultivo de papa en la vereda se realiza de manera manual, sin ningún tipo de maquinaria especializada y con aplicación convencional de agroquímicos que incluyen Furadan, Parathion, Monitor, Lorsban, Curacron, Manzate, Fitoraz, Rldomil, Anvil y fertilizantes de tipo N:P:K. Los pastos que se siembran en la zona son Orchoro (*Dactylis glomerata*), Raygras (*Lolium sp*) y Plegadera (*Lachemilla sp.*) con el principal propósito de alimentar el ganado para la producción de leche y posterior elaboración de queso (Capítulo 2). Las áreas aledañas que se encuentran con la mayor conservación posible (páramo) tienen como vegetación predominante *Cortaderia selloana*, *Pernettya prostrata*, *Buddleja sp.*, *Lupinus albus*, *Dendropanax sp.*, *Chusquea sp.* Si bien los tres usos del suelo se encuentran en el ecosistema de páramo, para efectos del presente estudio y para facilidad en nomenclatura hemos denominado páramo a la zona con la menor intervención antrópica posible de acuerdo con la triangulación de los resultados de: a) Aplicación de herramientas del diagnóstico rural participativo, b) Cuestionarios estructurados y c) Descripción de la vegetación característica de la zona (Capítulo 2), por lo que se han identificado dichas áreas como páramo en conservación.

6.3.2 Muestreo de suelos

Se tomaron muestras de suelos rizosféricos en la vereda El Bosque, PNN Los Nevados, Colombia. Se evaluaron tres usos del suelo, cultivo de papa (*Solanum tuberosum*), ganadería y páramo (con la menor grado de intervención antrópica posible). Las muestras fueron colectadas en las Fincas Buenos Aires (N 04°44'58.3 - W 075°26'40.4; 3769 msnm) y La Secreta (N 04°44'08.5 - W 075°26'34.7; 3432 msnm), en dos épocas: seca y húmeda. Se realizaron tres ventanas de observación, en las cuales para la toma de cada una se realizó una compuesta por 10 submuestras. En total, se analizaron: tres usos del suelo, dos fincas, dos épocas y tres ventanas de observación correspondientes a 36 muestras.

6.3.3 Extracción ADN del suelo

El DNA de las muestras de suelo fue extraído y purificado a través del kit Power Soil DNA Isolation kit; MoBio, con las siguientes modificaciones: en los pasos iniciales se tomaron 0.5g de suelo, se adicionaron 50 µL de solución C1 y 50 µL de dodecilsulfato de sodio 10%. Se calentó a 70°C por 5 min y 1 min de agitación en vortex (este procedimiento se repitió tres veces). Se centrifugó a 1000 g, a 4°C, por 1 min. Posteriormente, la

incubación con la solución C2 se realizó por 10 min y la incubación con la solución C3 se realizó por 1 h. Una vez adicionada la solución C4 la centrifugación se realizó por 10 s y doble filtración. Posterior a la adición de la solución C5 cada una se centrifugó durante 10 s. Se adicionaron, 50 µL de la solución C6 y posteriormente se centrifugó durante 1 min a 4°C, se adicionaron 10 µL más de solución C6 y se centrifugó 1 min a 1000g y 4°C. Finalmente, el ADN extraído fue cuantificado en NanoDrop (Thermo Scientific) y se verificó su calidad a través de electroforesis en geles de agarosa al 1% teñidos con SYBR Safe (Invitrogen). Las imágenes fueron digitalizadas con el software Quantity One v.4.6.3 (BioRad). El DNA fue conservado a -20°C antes del proceso de amplificación.

6.3.4 Amplificación región hipervariable V5-V6 y pirosecuenciación

Las regiones V5-V6 del gen 16S rRNA fueron amplificadas de acuerdo con Bohórquez *et al* (2012), mediante PCR utilizando 25µl como volumen de reacción, que contenía aproximadamente 2µl (aprox 20ng) de DNA metagenómico, 0.75 µM de los primers 807F (5' GGATTAGATACCCBRGTAGTC) y 1050R (5' AGYTGDCGACRRCRTGCA), 2.5 unidades de Pfu Turbo DNA Polymerase (Stratagene, La Jolla, CA, USA), 1X de buffer de reacción Pfu, 0.6 mM dNTPs (Invitrogen), 5% v/v DMSO (Bohórquez *et al.*, 2012). Las condiciones usadas en la PCR fueron las siguientes: un paso inicial de denaturación de 2 min a 95°C, seguidos por 30 ciclos con temperatura en ciclo inicial de 60°C y touchdown de -0.2 °C cada ciclo, 72°C por 5 min. El producto PCR fue utilizado como plantilla para una segunda PCR que permitió etiquetar los amplicones con pirosecuenciación y disponer barcodes usando los primers 16S1050R-b1 (5'GCCTTGCCAGCCCGCTCAGAGBAGAGYTGDCGACRRCRTGCA 3') y 16S807F-b15 (5' GCCTCCCTCGCGCCATCAGTABGGATTAGATACCCBRGTAGTC 3'). La segunda PCR se llevó a cabo en las mismas condiciones de la primera, excepto por el número de ciclos (cinco) y la temperatura constante de annealing (53°C). Todos los productos PCR fueron verificados a través de electroforesis en geles de agarosa al 1% teñidos con EZ-Vision®. La secuenciación se llevó a cabo a partir del primer reverse (EnGenCore, University of South Carolina, Columbia, SC, USA) para cubrir prioritariamente la secuenciación de la región hipervariable V6.

6.3.5 Análisis de secuencias

El análisis de las pirosecuencias obtenidas a partir de la amplificación de la región V5-V6 del gen del 16S rRNA se realizó a través del uso de diversas herramientas informáticas y el paquete de software y flujo de análisis de QIIME (Caporaso *et al.*, 2010), MOTHUR (Schloss *et al.*, 2009), así como de las herramientas implementadas en el portal de diversidad de GeBiX (www.gebix.org.co/gbx_diversity). Se minimizaron errores por efecto de secuenciación de acuerdo con lo reportado por DeSantis *et al* (2006); Huse *et al* (2007); Kunin *et al* (2010). Se evaluó la calidad de las secuencias de acuerdo con lo reportado por Bohórquez *et al* (2012) y se seleccionó como tamaño mínimo de secuencias 150 pb, posterior a la eliminación de las bases correspondientes a barcodes, adaptadores y primers.

Las secuencias complementarias de cada una de las lecturas obtenidas por el *primer A* de pirosecuenciación se utilizaron para asignar su clasificación taxonómica empleando el

programa RDP CLASSIFIER (Wang *et al.*, 2007) con un umbral de confianza del 50%. El software DOTUR fue utilizado para calcular los índices de diversidad: Shannon (H) y Simpson (D), indicadores de riqueza: S_{CHAO} y S_{ACE} e índice de cobertura C_{ACE} .

Se realizó análisis de clustering de ambientes usando el método UPGMA (por sus siglas en inglés *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*) con el objetivo de evidenciar la agrupación de las muestras basada en las distancias calculadas por el cálculo derivado del uso de Unifrac a partir de las relaciones filogenéticas entre las secuencias de las diferentes muestras (Lozupone y Knight, 2005).

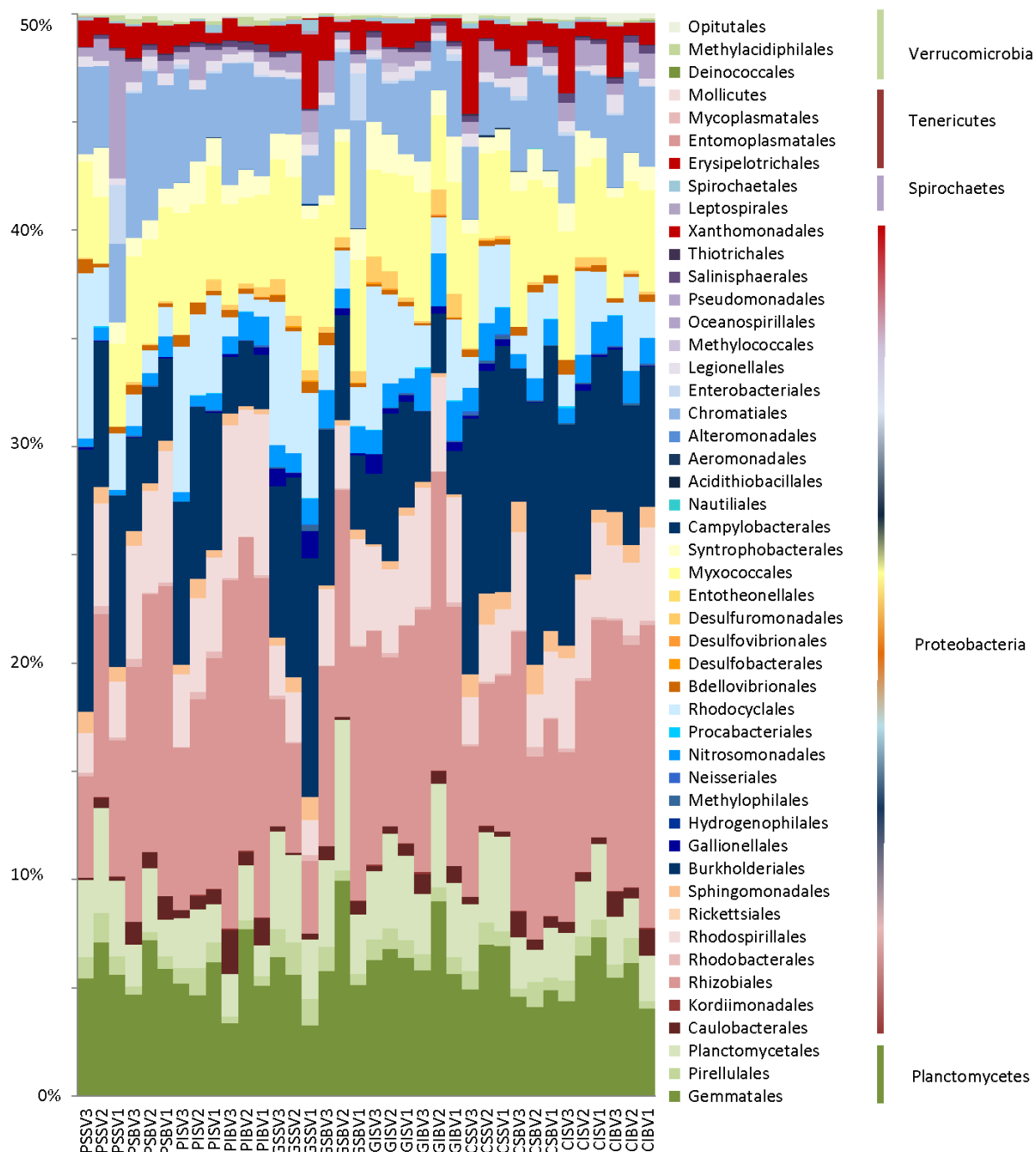
A partir de los resultados globales de diversidad microbiana (16S rRNA región V5-V6) a nivel de género y de los OTUs representativos se describió cada una de las muestras en dos componentes de la diversidad: riqueza de especies y estructura microbiana (i. e. composición y abundancia). Para el primer descriptor se empleó el número de filotipos (a nivel de género) presentes en cada muestra y un análisis de varianza de efectos mixtos (uso, finca, época de muestreo y ventana de observación). Para la estructura microbiana, se preservó la identidad y abundancia de cada uno de los filotipos y OTUs representativos por muestra. Esta información se organizó en dos matrices: 1. Filotipos a nivel de género x muestras y 2. OTUs representativo x muestra, cuyas entradas fueron valores de abundancia de cada filotipo/OTU en la muestra respectiva. Seguidamente, se analizó la similitud en composición y abundancia de microorganismos entre cada par de muestras con el índice de similitud Bray-Curtis (Clarke, 1993) previa transformación raíz cuarta a las abundancias. Tal transformación permite disminuir el peso de las especies muy dominantes y aumenta la importancia relativa de las especies raras en el cálculo del índice de similitud. Una vez generada la matriz de similitudes, esta fue analizada con un análisis de varianza multivariado basado en permutaciones y matrices de similitud (PERMANOVA) (Anderson, 2001). En ambos análisis de varianza (i. e. riqueza y estructura microbiana), la significancia probabilística de cada fuente de variación se estimó usando 9999 permutaciones de los residuales considerando el modelo nulo reducido.

Posteriormente, se produjeron ordenaciones multivariadas no métricas (nMDS) (Clarke, 1993) para proyectar las similitudes en la estructura microbiana de los OTUs representativos entre los usos del suelo. Finalmente, se emplearon análisis canónicos discriminantes basados en matrices de similitud (CAP) (Anderson y Willis, 2003) para identificar las especies características de cada uso de suelo. Estos análisis multivariados se realizaron con el programa PRIMER v6 & PERMANOVA *add on* (Clarke y Warwick, 2001; Anderson *et al.*, 2008).

6.4 Resultados

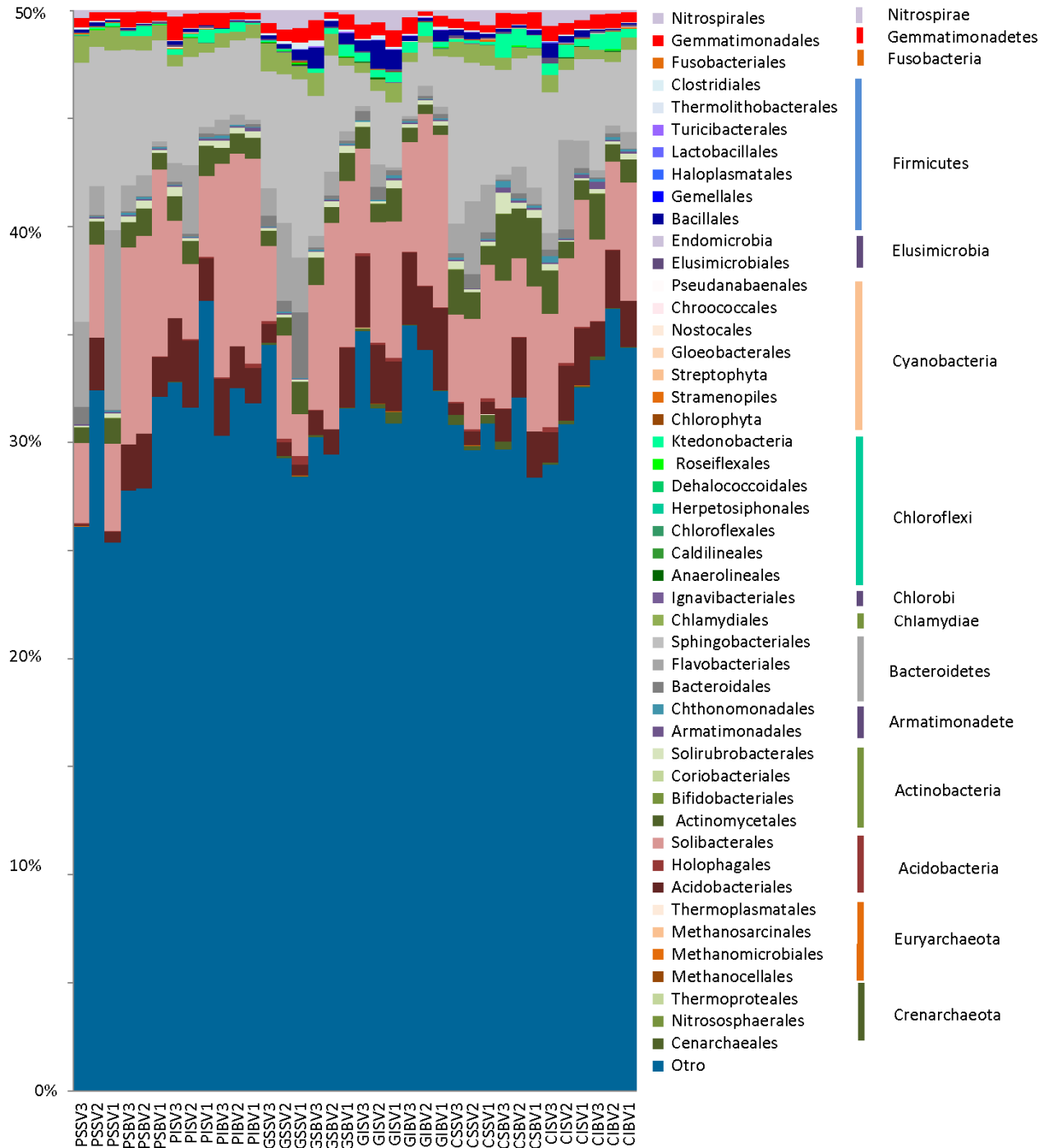
Al observar las Figura 6-1 y 6-2 que ilustran la diversidad a nivel de orden de las regiones V5-V6 del gen 16S rRNA para los suelos estudiados organizadas en función del uso del suelo: páramos, cultivo de papa y ganadería, se puede analizar que en general el comportamiento de la diversidad de las muestras es similar, sin que se presente algún patrón notorio a nivel taxonómico por efecto del uso del suelo. Al agrupar las muestras por finca o temporada de muestreo tampoco se evidenció algún patrón en particular.

Figura 6-1: Presentación primera parte de la estructura de la comunidad microbiana a nivel de orden en función de los usos del suelo: cultivo de papa y ganadería y páramo.



En el eje Y se presenta la abundancia relativa de acuerdo con la región V5-V6 del 16S rRNA y pirosecuenciación. En el eje X se presentan las muestras en donde la primera letra corresponde a: P: Páramo; G; Ganadería; C: Cultivo de papa; y las letras siguientes a: I: invierno; S: sequía; V: ventana; B: Buenos Aires; S: La Secreta.

Figura 6-2: Presentación segunda parte de la estructura de la comunidad microbiana a nivel de orden en función de los usos del suelo: cultivo de papa y ganadería y páramo.



En el eje Y se presenta la abundancia relativa de acuerdo con la región V5-V6 del 16S rRNA y pirosecuenciación. En el eje X se presentan las muestras en donde la primera letra corresponde a: P: Páramo; G; Ganadería; C: Cultivo de papa; y las letras siguientes a: I: invierno; S: sequía; V: ventana; B: Buenos Aires; S: La Secreta.

En las Figuras 6-1 y 6-2 se observa que el orden mayoritario en todas las muestras fue el no clasificado "Otro", seguido por elevada abundancia de *Solibacterales*, *Sphingobacteriales*, *Gemmatales*, *Rhizobiales*, *Rhodocyclales*, *Myxococcales* *Chromatiales*. Y a nivel de filo el que presentó mayor abundancia relativa fue *Proteobacteria*, seguido de *Acidobacteria*, *Bacteroidetes* y *Planctomycetes*. Del dominio Archea se encontraron los filos *Crenarcheota* y *Euryarcheota*.

Al analizar las curvas de rarefacción (Figura 6-3) para las diferentes muestras evaluadas se encontró una acumulación de 2.5 secuencias por OTUs, en los cuales se observa que todas las muestras tienen una riqueza de OTUs relativamente alta (de hasta 14000 OTUs), sí se compara con otros reportes en los que se ha evaluado el gen 16S rRNA en suelos, en los cuales se presenta una acumulación máxima de 1 secuencia por OTUS con un número máximo de OTUs de 600 (Bailey *et al.*, 2013), 500 (Bengtsson *et al.*, 2012), 120 (Lin *et al.*, 2012) y 1500 OTUs con acumulación de 2.5 secuencias por OTUs (Weber *et al.*, 2014) evidenciando que las muestras del presente estudio presentan una alta diversidad. No obstante, las curvas de rarefacción para los tres usos del suelo no muestran diferencias contrastantes entre sí. El mismo comportamiento se observa con respecto a la época de muestreo y la finca.

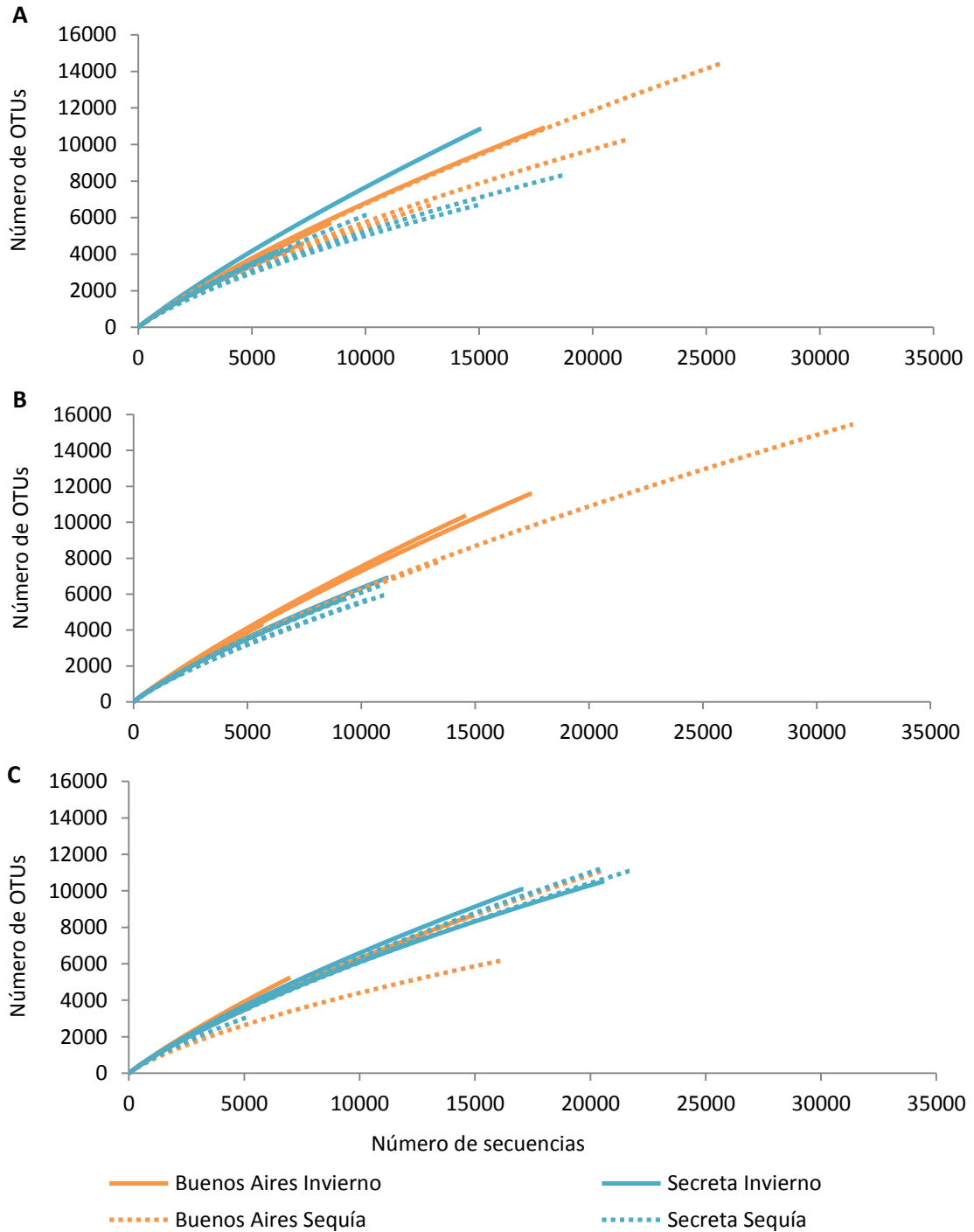
El análisis clustering para los suelos evaluados (Figuras 6-4, 6-5, 6-6) evidencia pocas agrupaciones específicas que puedan asociarse al uso del suelo, demostrando homogeneidad en la diversidad de las muestras, indicando que las prácticas agrícolas asociadas al cultivo de papa y la ganadería no presentan diferencias sobre este análisis. El análisis clustering que presenta las etiquetas de acuerdo con la finca presenta mayores agrupaciones con respecto a las que se observan en la gráfica por uso del suelo. Estas variaciones pueden deberse a diversos factores entre los que se encuentran la diferencias de altura de las dos fincas y el material parental de los respectivos suelos. En la Figura 6-6 se presenta el clustering de acuerdo a la época de muestreo, sin evidenciar alguna tendencia producto del momento de muestreo.

El análisis de riqueza a nivel de género de los filotipos encontrados (Tabla 6-1), indica que no se presentan diferencias estadísticamente significativas producto del uso del suelo, la finca y la temporada de muestreo sobre la riqueza a nivel de género. No obstante, al comparar la relación entre el uso del suelo y las riquezas totales en invierno, verano y en los dos muestreos, se observa que hay menor riqueza de especies en el páramo, con respecto al cultivo y a la ganadería. Sin embargo, estas diferencias no son estadísticamente significativas, lo que denota que las prácticas agropecuarias no han impactado lo suficiente a la comunidad microbiana y por tanto, no se evidencian diferencias significativas en los índices de diversidad microbiana, usando la región V5-V6 del gen rRNA .

La Tabla 6-2 presenta el análisis PERMANOVA para la estructura microbiana en la matriz de diversidad total a nivel género y la matriz de OTUs representativos. Este análisis indica que no hay cambios estadísticamente significativos asociados al uso del suelo de cultivo de papa, ganadería y páramo. Por lo tanto no existe evidencia suficiente para relacionar las prácticas agrícolas en la vereda El Bosque con diferencias significativas en la composición microbiana, la cual fue estimada por medio de la variabilidad detectada en amplicones de la región V5-V6 del gen 16S rRNA. No obstante los resultados indican cambios significativos en la matriz de diversidad general asociados a la finca y época de

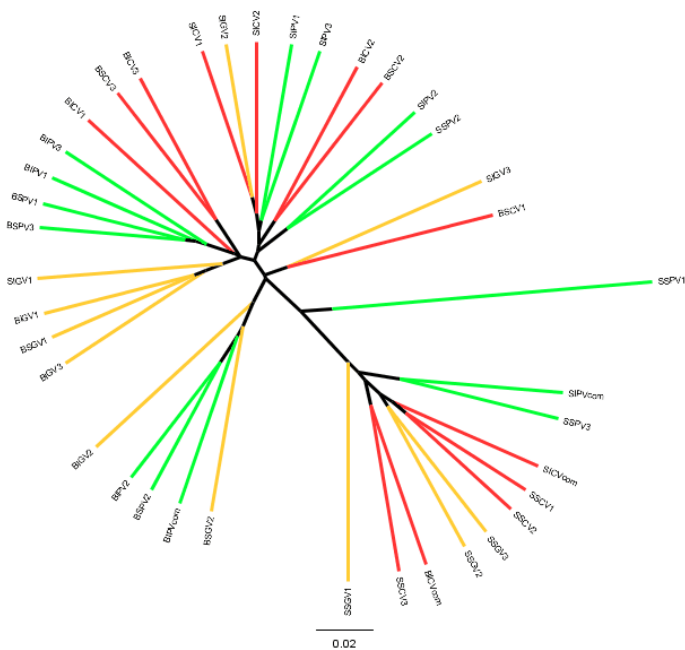
muestreo. En el caso de los OTUs representativos estos cambios significativos se mantienen en función de la finca (altitud) más no de la época de muestreo.

Figura 6-3: Análisis de rarefacción datos 16S rRNA región V5-V6 y pirosecuenciación de suelos evaluados.



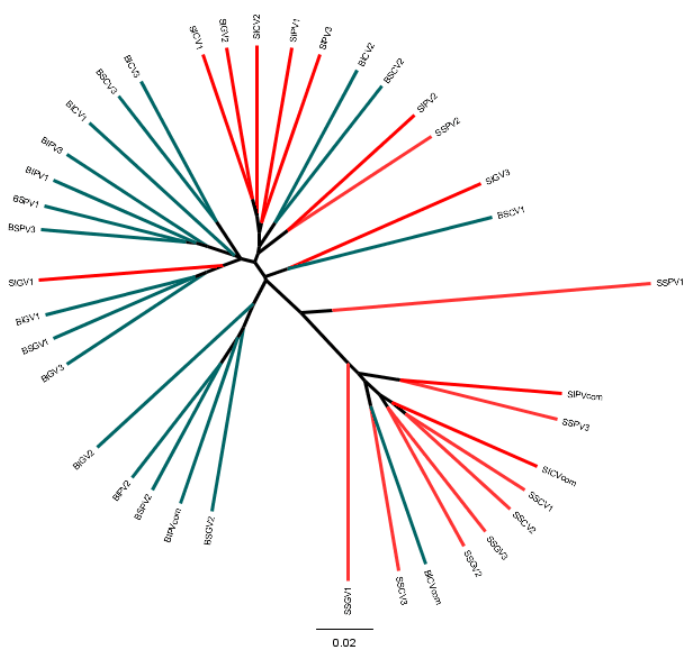
A. Páramo. B. Cultivo de papa. C. Ganadería

Figura 6-4: Clúster subrayado por uso del suelo.



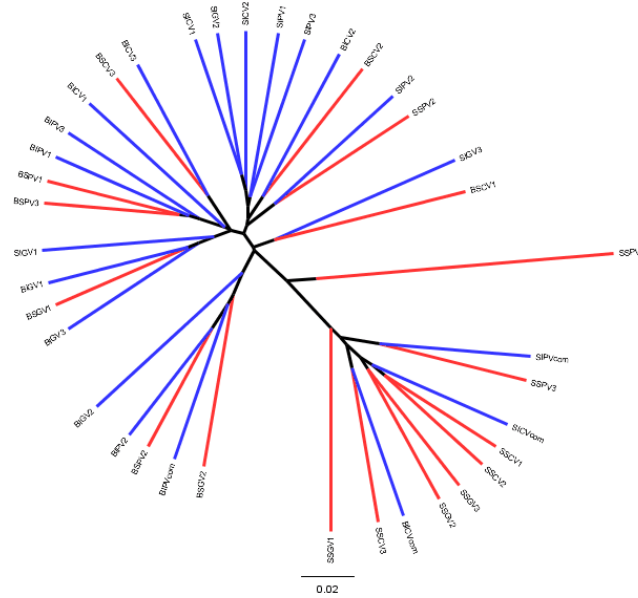
Páramo: verde; Cultivo de papa: rojo; Ganadería: amarillo.

Figura 6-5: Clúster subrayado por finca.



Buenos Aires: Azul; La Secreta: rojo.

Figura 6-6: Clúster subrayado por época de muestreo.



Sequía: rojo; Invierno: azul

Tabla 6-1: Riqueza microbiana promedio por muestra de suelo según el uso, finca y muestreo

S	Invierno			Sequía			Total general
	Buenos Aires	La Secreta	Total Invierno	Buenos Aires	La Secreta	Total Sequía	
Cultivo	285.3a	258.7 a	272.0 a	293.0 a	283.3 a	288.2 a	280.1 a
Ganadería	245.3 a	326.3 a	285.8 a	260.7 a	314.7 a	287.7 a	286.8 a
Páramo	228.3 a	271.7 a	250.0 a	273.0 a	282.7 a	277.8 a	263.9 a
Total general	253.0 a	285.6 a	269.3 a	275.6 a	293.6 a	284.6 a	276.9 a

Las letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas

El MDS de los OTUs representativos (Figura 6-7) no refleja representaciones específicas o diferencias producto del cultivo de papa, la ganadería y el páramo en conservación. Estos datos son confirmados con los resultados del análisis PERMANOVA para los suelos evaluados en los que las diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Esto permite sugerir de manera general que con el indicador taxonómico molecular muestreado no se evidencian diferencias en la diversidad microbiana asociadas al impacto del cultivo de papa y la ganadería.

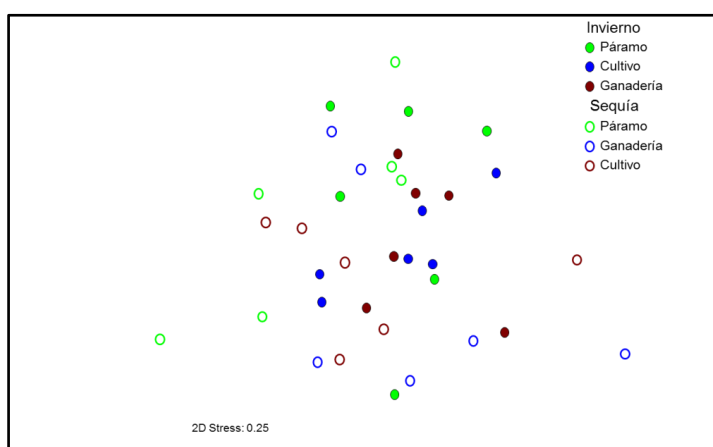
Al analizar el CAP (Figura 6-8 y 6-9) para los OTUs representativos en cada una de las fincas se puede observar que las diferencias producto del uso del suelo se hacen más notorias. En el caso de la finca Bueno Aires se observa mayor distancia entre las muestras de cultivo de papa y páramo, mientras que en la finca La Secreta estas diferencias se hacen menos notorias. Sin embargo, de acuerdo con el análisis PERMANOVA estas diferencias no son estadísticamente significativas, lo cual podría significar un estado de transición gradual y representaría un indicador temprano de los cambios que se pudiesen estar presentando en caso de continuar los mismos patrones asociados a las prácticas agrícolas.

Tabla 6-2: PERMANOVAS de estructura microbiana para los diferentes factores evaluados

Factor	g.l.	Matriz Género			Matriz OTUs representativos		
		SC	Pseudo-F	P(perm)	SC	Pseudo-F	P(perm)
Uso (U)	2	1208.8	1.634	0.1103	6164.6	1.3201	0.1068
Finca (F)	1	1107.7	2.9948	0.0253	8027.6	3.4381	0.0001
Época (E)	1	1164.1	3.1472	0.0282	3350.3	1.4349	0.1197
U x F	2	1635.4	2.2106	0.0533	5970	1.2784	0.1524
U x E	2	576.63	0.77946	0.5663	3980.6	0.8524	0.7085
F x E	1	325.85	0.88093	0.4106	2570.8	1.101	0.3587
U x F x E	2	456.44	0.61699	0.7721	5788.9	1.2396	0.1732
Residuales	24	8877.4			56038		
Total	35	15352			91890		

g.l.: grados de libertad, SC: sumatoria cuadrática

Figura 6-7: MDS de los OTUs representativos



En el agroecosistema Buenos Aires se observan siete OTUs que presentan una mayor correlación con el páramo, los cuales pertenecen al orden *Xanthomonadales* (2), *Rhizobiales* (1), *Planctomycetales* (1), *Myxococcales* (1) y a las clases *Spartobacteria* (1) y *Alphaproteobacteria* (1). Los OTUs que presentaron mayor correlación con la ganadería son tres y pertenecen al orden *Rhodocyclales* (1) y a los filos *Verrucomicrobia* (1) y *Firmicutes* (1). Los OTUs que presentaron mayor correlación con el cultivo de papa son mayores en número presentándose 13 entre los cuales se encuentran los órdenes, *Burkholderiales* (3), *Pseudomonadales* (2), *Sphingobacteriales* (2), *Rhizobiales* (1), *Acidimicrobiales* (1), *Cytophagales* (1), *Flavobacteriales* (1) y a la clase *Betaproteobacteria* (1) y al filo *Chloroflexi* (1).

En el agroecosistema La Secreta es menos clara la diferencia de OTUs que tiene mayor correlación con cada uno de los usos del suelo, esto debido a que las diferencias entre cultivo de papa, ganadería y páramo es menos notoria. Sin embargo, se observa que los OTUs (cinco) que presentan una mayor correlación con el páramo pertenecen a los órdenes *Pseudomonadales* (2), *Flavobacteriales* (2) y *Sphingobacteriales* (1). Los OTUs que presentaron mayor correlación con la ganadería son mayores en número (11), entre

los que se encuentran los órdenes *Burkholderiales* (1), *Actinomycetales* (1), *Rhizobiales* (1), *Bacillales* (1), *Rhodocyclales* (1), *Acidimicrobiales* (1), *Cytophagales* (1), *Sphingobacteriales* (1), la clase *Betaproteobacteria* (1) y los filos *Chloroflexi* (1) y *Firmicutes* (1). Los OTUs que presentaron mayor correlación con el cultivo de papa fueron cuatro y pertenecen a los órdenes *Burkholderiales* (2), *Myxococcales* (1) y *Rhodocyclales* (1).

Figura 6-8: CAP para los OTUs representativos de la finca Buenos Aires.

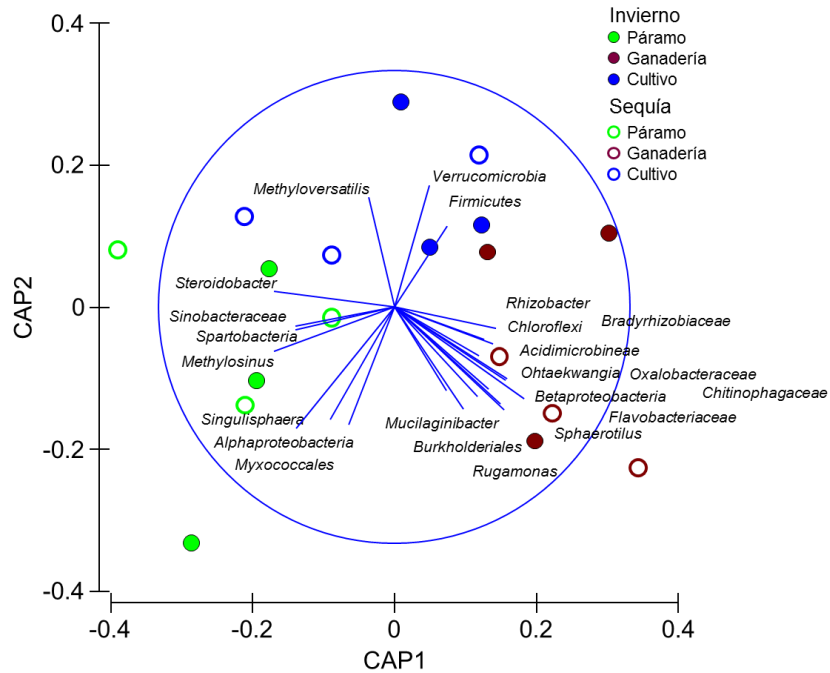
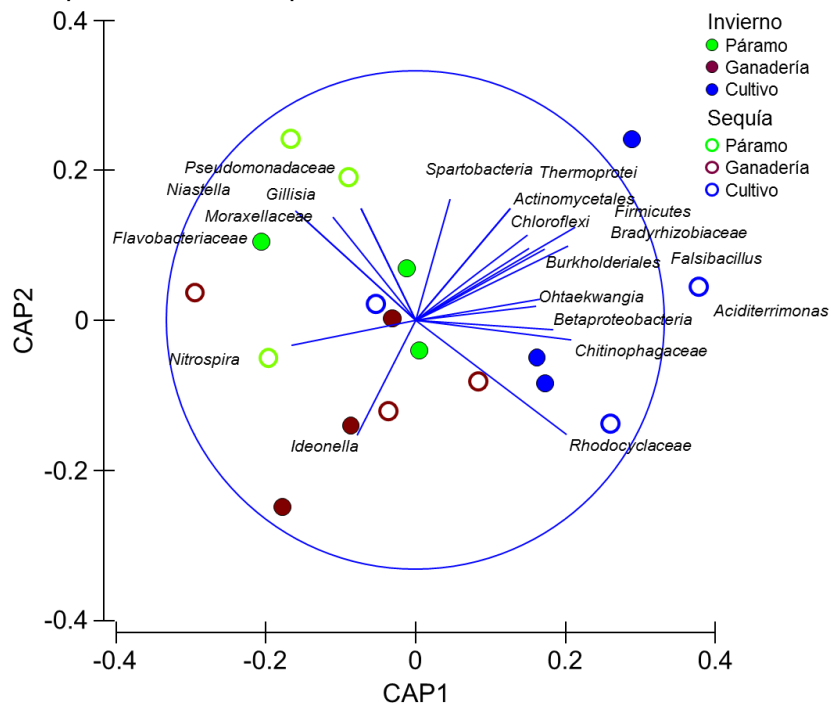


Figura 6-9: CAP para los OTUs representativos de la finca La Secreta.



6.5 Discusión

Los resultados encontrados en el presente estudio para la estructura de la comunidad microbiana de los suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo, así como los OTUs observados en las curvas de rarefacción, el análisis clúster, la evaluación de riqueza, el análisis PERMANOVA y el MDS de los OTUs representativos en general no presentan diferencias por efecto del uso del suelo, la época y finca de muestreo. Las mayores diferencias se observan en el clúster análisis que representa las etiquetas de acuerdo con la finca de muestreo (Figura 6-5) y en los resultados PERMANOVA en los que se indican diferencias por efecto de la finca y época (matriz género, Tabla 6-2) y a nivel de finca (matriz OTUs representativos, Tabla 6-2).

Al realizar el análisis canónico discriminante se observan diferencias en la distribución de las muestras de acuerdo con el uso del suelo, indicando el posible impacto de las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería sobre la estructura de la comunidad microbiana, la cual es observada en los grupos de OTUs que se asocian con los grupos taxonómicos específicos en cada práctica. Entre estas prácticas se incluyen la remoción de la vegetación característica del páramo, la aplicación de fertilizantes y plaguicidas de síntesis química y el pisoteo permanente de ganado. Las anteriores diferencias son más notorias en el agroecosistema Buenos Aires con respecto al de La Secreta. Sin embargo, debido a que el análisis permanova indica que estas diferencias no son estadísticamente significativas, se podría plantear que si bien las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería aún no generan impactos contrastantes, si se podría estar alertando tempranamente de un cambio a futuro en caso de que estas se mantengan. Estos resultados indican también la importancia de los campesinos y la transformación de sus tecnologías, en este caso las prácticas agrícolas, las cuales podrían atenuar estas relaciones incluyendo técnicas enmarcadas en la agricultura ecológica.

Por otro lado la ausencia de diferencias estadísticamente significativas asociadas al uso del suelo con los indicadores globales de diversidad evaluados podría explicarse debido a las prácticas agropecuarias que se presentan en la vereda El Bosque, si bien implementan aspectos derivados de la revolución verde, como son la aplicación de agroquímicos, también se encuentran combinadas con saberes propios de los campesinos, entre las que se incluyen por ejemplo, que la siembra de papa se hace máximo por dos cosechas y luego se deja en barbecho por periodos superiores a los 7 años, lo que permite al suelo “periodos de descanso” y con ello la posibilidad de atenuar los efectos de las prácticas del monocultivo. De la misma manera, la no significancia de estas diferencias pueden deberse a la baja proporción en la cantidad de ganado con respecto a la extensión de tierra, la cual se considera baja si se compara con otros patrones de ganadería en rotación con papa en áreas de menor altura (Mahecha *et al.*, 2002)

Desafortunadamente, no existen otros reportes acerca de los impactos del cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad microbiana de suelos de páramo por métodos independientes de cultivo, por lo cual no es posible comparar estos resultados con los reportados por otras investigaciones equivalentes. Por esta razón, el análisis de resultados se hace con respecto a otras publicaciones en donde se evalúa el impacto de las prácticas agrícolas sobre la diversidad microbiana del suelo en otros sistemas agrícolas. Por otro lado, la existencia de pocos reportes sobre el tema, permite proponer

la conveniencia de generar futuras investigaciones para darle mayor seguimiento a la comunidad microbiana de estos ecosistemas a través del tiempo.

Adicionalmente, la vegetación tiene una gran impacto en la composición y funciones de los microorganismos del suelo (Ajitkumar *et al.*, 2012; Liliensiek *et al.*, 2012; Zhang *et al.*, 2013a). Para ecosistemas de alta montaña se han reportado cambios de las comunidades microbianas en tres sitios lo largo de un gradiente de temperatura y humedad del suelo. En la citada investigación se reportó que el contenido de OTUs bacterianos presentaba pequeños cambios en abundancia después de cambios en vegetación del suelo (Zumsteg *et al.*, 2013). Los investigadores mostraron que las especies de plantas y estructura de la comunidad podían cambiar significativamente la estructura de la comunidad microbiana del suelo y la diversidad en la rizosfera de las plantas (Zumsteg *et al.*, 2013), lo cual puede ser una causa de los cambios encontrados en el presente estudio.

En contraste con estos estudios, se han reportado investigaciones en las cuales no se ha logrado encontrar relaciones claras y coherentes entre poblaciones microbianas del suelo y las características de las comunidades vegetales (Gömöryová *et al.*, 2009; Gömöryová *et al.*, 2013). Esto puede estar relacionado con el nivel de complejidad de la respuesta ecológica de los ecosistemas ante los cambios generados al pasar de una zona de páramo a una de pastizal para ganadería o cultivo de papa.

Con respecto a los cambios observados en las comunidades microbianas de los dos agroecosistemas, ubicados a diferente altitud, diferentes autores han reportado que la variabilidad en las comunidades microbianas también depende de la altura, en tanto que esta diferencias se asocian con cambios en el material parental del suelo, así como la temperatura y los cambios en la materia orgánica (Bru *et al.*, 2011; Liliensiek *et al.*, 2012; Pershina *et al.*, 2013). Para nuestro caso la finca Buenos Aires: Tipyc Haplocryands y la finca La Secreta: Thaptic Hapludands (Capítulo 3).

Por otro lado se ha planteado que la estructura de la comunidad microbiana, su diversidad y actividad pueden verse influidas por una amplia gama de factores, incluyendo aspectos ambientales, biológicos y antrópicos (fertilización y aplicación de agroinsumos) (Liliensiek *et al.*, 2012), reportándose, por ejemplo, cambios en la composición más no en la riqueza de la comunidad de bacterias rizosféricas producto de la aplicación de fungicidas (Yang *et al.*, 2012). También se ha indicado que las curvas de rarefacción han mostrado patrones similares de las comunidades rizobacteriana en parcelas tratadas con diferentes niveles de aplicación de fungicidas (Yang *et al.*, 2012). Estos últimos resultados serían similares a los encontrados en el presente estudio. Así mismo, en un estudio que buscó evaluar el efecto del manejo agrícola sobre la diversidad y abundancia de bacterias y archeas (usando secuenciación del 16S rRNA) se reportó que *Ca. Nitrososphaera* presentaba una relación directa con las prácticas agrícolas, mientras que *Bradyrhizobium* presentó correlación negativa (Zhalnina *et al.*, 2013).

Al analizar los resultados de los CAP se observa que si bien existen diferencias en los OTUs indicadores producto del cultivo de papa y la ganadería, estos no presentan una tendencia específica. Se observa que en los dos agroecosistemas los filos predominantes en páramos fueron: *Proteobacteria* (8) y *Bacteroidetes* (3). En ganadería predominaron *Proteobacteria* (4), *Firmicutes* (3), *Actinobacteria* (2), *Bacteroidetes* (2). En cultivo de papa predominaron *Proteobacteria* (11) y *Bacteroidetes* (4).

Los OTUs indicadores encontrados en el presente estudio han sido reportados por otros autores en suelos de cronosecuencias glaciares, donde se encontró que los filotipos bacterianos que presentaron mayores diferencias fueron *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *alfa* y *betaproteobacteria* (Zumsteg *et al.*, 2013). Otros autores, han reportado cambios en la estructura de la comunidad bacteriana producto de procesos de restauración de vegetación, entre los cuales aparecen los filotipos indicadores *Proteobacterias*, *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Actinobacteria* y *Acidobacteria* (Zhang *et al.*, 2013b). En otros ecosistemas de pastizales alpinos de la Qinghai-Tíbet (China) utilizando pirosecuenciación para evaluar la diversidad bacteriana, se reportó que *Proteobacteria* y *Acidobacterias* fueron los filos predominantes (Zhang *et al.*, 2013b). Adicionalmente, se encontraron diferencias relevantes en la abundancia y estructura de la comunidad bacteriana (usando pirosecuenciación de genes 16S rRNA) por efecto del uso del suelo en sabanas de Brasil, en las que se reportaron *Acidobacteria*, *Proteobacteria* y *Actinobacteria* como los grupos más abundantes en los suelos estudiados (Rampelotto *et al.*, 2013).

Los filos que han sido previamente reportados como abundantes en muestras de suelo por Janssen (2006), son *Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Verrucomicrobia*, *Bacteroidetes*, *Cloroflexi*, *Planctomycetes*, *Gemmatimonadetes* y *Firmicutes* (Janssen, 2006). Al respecto se ha discutido que prácticamente cuatro filos (*Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria* y *Bacteroidetes*) formarían la gran mayoría de las bacterias que habitan cualquier tipo de suelo, planteando que estos grupos podrían comprender a veces hasta el 90 % de la biodiversidad global (Tsai *et al.*, 2009). En casos excepcionales, las *Firmicutes* se puede añadir a los "cuatro grandes" grupos (Hollister *et al.*, 2010) (Pershina *et al.*, 2013). Así mismo, en comparación con un gran número de hábitats de suelo extremos, se habla de gran variedad de microorganismos, entre los que tendrían predominancia los géneros *Pseudomonas* (*Gammaproteobacteria*), *Arthrobacter* (*Actinobacteria*), *Sphingomonas* (*Alphaproteobacteria*), *Bacillo* (*Firmicutes*), *Rhodococcus* (*Actinobacteria*) y *Flavobacterium* (*Bacteroidetes*) (Ruberto *et al.*, 2008; Wagner, 2008; Pershina *et al.*, 2013), los cuales se encuentran reportados en la presente investigación.

También se ha discutido que en comparación con pasturas naturales, la labranza disminuye notablemente la abundancia relativa de los filos *Actinobacteria*, *Acidobacteria* y *Deltaproteobacterias*, y por el contrario incrementó la abundancia relativa de los filos *Firmicutes*, *Gammaproteobacterias* y *Chytridiomycota* (Lienhard *et al.*, 2013).

Los reportes sobre la biodiversidad microbiana en suelos de páramo usando técnicas independientes de cultivo son mínimos, a la fecha de escritura del presente artículo no se encontró ninguna publicación que explorara los posibles impactos del cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad bacteriana mediante técnicas cultivo independientes o mediante el uso de pirosecuenciación, por lo cual cobra relevancia la presentación de estos datos.

No obstante se encuentran publicaciones en las que se examinaron comunidades de bacterias (gen 16S rRNA) mediante amplificación por PCR-DGGE donde se encontró que la diversidad bacteriana fue afectada negativamente por las aplicaciones de nitrógeno y fósforo durante más de 30 años (Kamaa *et al.*, 2012). Estos resultados serían contrastantes con los nuestros, aunque las condiciones y métodos son diferentes a los de la presente investigación. Por otro lado, se ha reportado que parcelas en las que se han aplicado fertilizantes orgánicos y compostajes han aumentado la abundancia de bacterias

y arqueas en contraste con las que solo han recibido fertilizantes inorgánicos en cultivos de arroz (Ahn *et al.*, 2012). En el citado estudio se reporta que las comunidades bacterianas fueron dominados por *Chloroflexi*, *Proteobacteria* y *Actinobacteria* y las comunidades archaea por *Crenarchaeota* a nivel filo.

En el mismo estudio de Ahn *et al.* (2012) se encontró que las comunidades de bacterias y arqueas fueron influenciadas por el momento del muestreo para los cultivos de arroz, esto tendría consonancia con lo presentado en la Figura 6-6, donde se ilustra en el cluster análisis una mayor separación debida a la época de muestreo con respecto a la figura 6-4 que ilustra las agrupaciones producto del uso del suelo, lo cual es confirmado por el análisis PERMANOVA. En otros estudios se ha reportado la presencia de un alto número de microorganismos influenciada por la aplicación de biochar con respecto a fertilización convencional, en los cuales se han generado nuevas asociaciones y características de las comunidades microbianas, determinadas mediante secuenciación del 16S rRNA (Nielsen *et al.*, 2014).

6.6 Conclusiones

Los análisis de diversidad de las regiones V5-V6 del gen 16S rRNA del presente estudio indican que no existen diferencias estadísticas producto de las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería con respecto a los suelos bajo páramo de la vereda El Bosque del PNN Los Nevados en la riqueza y estructura de las comunidades microbianas de los respectivos suelos. Sin embargo, se encuentran diferencias estadísticamente significativas producto de la época de muestreo y la altitud de las fincas en la matriz global de diversidad y en la altitud de la finca en la matriz de OTUs representativos. Los análisis canónicos discriminantes indican diferencias en la composición de los OTUs representativos de la comunidad microbiana del suelo producto del cultivo de papa y la ganadería, lo cual puede ser un indicador temprano de modificaciones en la estructura de la comunidad microbiana. Estos resultados pueden deberse por una lado a la complejidad de la respuesta ecológica de las comunidades microbianas del suelo ante los impactos de las prácticas agropecuarias, y por otro, a la aplicación de saberes propios de los campesinos de la zona que introducen largos periodos de barbecho (superiores a 7 años) entre cada cultivo de papa y baja cantidad de ganado con respecto a la extensión de tierra de las fincas, lo cual puede introducir factores atenuantes en estos impactos.

6.7 Bibliografía

- Acinas, S.G., Marcelino, L.A., Klepac-Ceraj, V., Polz, M.F., 2004. Divergence and redundancy of 16S rRNA sequences in genomes with multiple *rrn* operons. *Journal of bacteriology* 186, 2629-2635.
- Ahn, J.-H., Song, J., Kim, B.-Y., Kim, M.-S., Joa, J.-H., Weon, H.-Y., 2012. Characterization of the bacterial and archaeal communities in rice field soils subjected to long-term fertilization practices. *J Microbiol.* 50, 754-765.
- Ajitkumar, P., Barkema, H.W., De Buck, J., 2012. Rapid identification of bovine mastitis pathogens by high-resolution melt analysis of 16S rDNA sequences. *Veterinary Microbiology* 155, 332-340.
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust Ecol* 26, 32-46.

- Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R., 2008. PERMANOVA for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK.
- Anderson, M.J., Willis, T.J., 2003. Canonical analysis of principal coordinates: a useful method of constrained ordination for ecology. *Ecology* 84, 511-525.
- Andersson, A.F., Lindberg, M., Jakobsson, H., Bäckhed, F., Nyrén, P., Engstrand, L., 2008. Comparative analysis of human gut microbiota by barcoded pyrosequencing. *PLoS ONE* 3, e2836.
- Bailey, V.L., McCue, L.A., Fansler, S.J., Boyanov, M.I., DeCarlo, F., Kemner, K.M., Konopka, A., 2013. Micrometer-scale physical structure and microbial composition of soil macroaggregates. *Soil Biology and Biochemistry* 65, 60-68.
- Bengtsson, J., Hartmann, M., Unterseher, M., Vaishampayan, P., Abarenkov, K., Durso, L., Bik, E.M., Garey, J.R., Eriksson, K.M., Nilsson, R.H., 2012. Megraft: a software package to graft ribosomal small subunit (16S/18S) fragments onto full-length sequences for accurate species richness and sequencing depth analysis in pyrosequencing-length metagenomes and similar environmental datasets. *Research in Microbiology* 163, 407-412.
- BID, CORPOCALDAS, CAR-RISARALDA, CAR-QUÍNDIO, CAR-TOLIMA, UAESPNN, 2002. Plan de Manejo Parque Nacional Los Nevados y su zona amortiguadora. In: Quindío, A. (Ed.).
- Bissett, A., Burke, C., Cook, P.L.M., Bowman, J.P., 2007. Bacterial community shifts in organically perturbed sediments. *Environmental Microbiology* 9, 46-60.
- Bohórquez, L., Delgado-Serrano, L., López, G., Osorio-Forero, C., Klepac-Ceraj, V., Kolter, R., Junca, H., Baena, S., Zambrano, M., 2012. In-depth Characterization via Complementing Culture-Independent Approaches of the Microbial Community in an Acidic Hot Spring of the Colombian Andes. *Microb Ecol* 63, 103-115.
- Bru, D., Ramette, A., Saby, N., Dequiedt, S., Ranjard, L., Jolivet, C., Arrouays, D., Philippot, L., 2011. Determinants of the distribution of nitrogen-cycling microbial communities at the landscape scale. *The ISME journal* 5, 532-542.
- Brussaard, L., de Ruiter, P.C., Brown, G.G., 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 121, 233-244.
- Caporaso, J.G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F.D., Costello, E.K., Fierer, N., Pena, A.G., Goodrich, J.K., Gordon, J.I., 2010. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods* 7, 335-336.
- Claesson, M.J., Wang, Q., O'Sullivan, O., Greene-Diniz, R., Cole, J.R., Ross, R.P., O'Toole, P.W., 2010. Comparison of two next-generation sequencing technologies for resolving highly complex microbiota composition using tandem variable 16S rRNA gene regions. *Nucleic Acids Research*, gkq873.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust J Ecol* 18, 117-143.
- Clarke, K.R., Warwick, R.M., 2001. Change in marine communities: An approach to statistical Analysis and Interpretation. Plymouth Marine Laboratory, UK, Plymouth.
- DeSantis, T.Z., Hugenholtz, P., Larsen, N., Rojas, M., Brodie, E.L., Keller, K., Huber, T., Dalevi, D., Hu, P., Andersen, G.L., 2006. Greengenes, a chimera-checked 16S rRNA gene database and workbench compatible with ARB. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 5069-5072.
- Doran, J.W., Zeiss, M.R., 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology* 15, 3-11.

- Gömöryová, E., Hrivnák, R., Janišová, M., Ujházy, K., Gömöry, D., 2009. Changes of the functional diversity of soil microbial community during the colonization of abandoned grassland by a forest. *Applied Soil Ecology* 43, 191-199.
- Gömöryová, E., Ujházy, K., Martinák, M., Gömöry, D., 2013. Soil microbial community response to variation in vegetation and abiotic environment in a temperate old-growth forest. *Applied Soil Ecology* 68, 10-19.
- Hollister, E.B., Engledow, A.S., Hammett, A.J.M., Provin, T.L., Wilkinson, H.H., Gentry, T.J., 2010. Shifts in microbial community structure along an ecological gradient of hypersaline soils and sediments. *The ISME journal* 4, 829-838.
- Huse, S.M., Huber, J.A., Morrison, H.G., Sogin, M.L., Welch, D.M., 2007. Accuracy and quality of massively parallel DNA pyrosequencing. *Genome Biol* 8, R143.
- Janssen, P.H., 2006. Identifying the dominant soil bacterial taxa in libraries of 16S rRNA and 16S rRNA genes. *Applied and Environmental Microbiology* 72, 1719-1728.
- Kamaa, M.M., Mburu, H.N., Blanchart, E., Chibole, L., Chotte, J.L., Kibunja, C.N., Lesueur, D., 2012. Effects of Organic and Inorganic Applications on Soil Bacterial and Fungal Microbial Communities Diversity and Impacts of Earthworms on Microbial Diversity in the Kabete Long-Term Trial, Kenya. In: Bationo, A., Waswa, B., Kihara, J., Adolwa, I., Vanlauwe, B., Saidou, K. (Eds.), *Lessons learned from Long-term Soil Fertility Management Experiments in Africa*. Springer Netherlands, pp. 121-136.
- Keijser, B.J.F., Zaura, E., Huse, S.M., van der Vossen, J.M.B.M., Schuren, F.H.J., Montijn, R.C., ten Cate, J.M., Crielaard, W., 2008. Pyrosequencing analysis of the Oral Microflora of healthy adults. *Journal of Dental Research* 87, 1016-1020.
- Kunin, V., Engelbrektson, A., Ochman, H., Hugenholtz, P., 2010. Wrinkles in the rare biosphere: pyrosequencing errors can lead to artificial inflation of diversity estimates. *Environmental Microbiology* 12, 118-123.
- Lienhard, P., Terrat, S., Prévost-Bouré, N.C., Nowak, V., Régnier, T., Sayphoummie, S., Panyasiri, K., Tivet, F., Mathieu, O., Levêque, J., 2013. Pyrosequencing evidences the impact of cropping on soil bacterial and fungal diversity in Laos tropical grassland. *Agronomy for Sustainable Development*, 1-9.
- Liliensiek, A.-K., Thakuria, D., Clipson, N., 2012. Influences of Plant Species Composition, Fertilisation and *Lolium perenne* Ingression on Soil Microbial Community Structure in Three Irish Grasslands. *Microb Ecol* 63, 509-521.
- Lin, Y.-T., Whitman, W.B., Coleman, D.C., Chiu, C.-Y., 2012. Comparison of soil bacterial communities between coastal and inland forests in a subtropical area. *Applied Soil Ecology* 60, 49-55.
- Liu, Z., Lozupone, C., Hamady, M., Bushman, F.D., Knight, R., 2007. Short pyrosequencing reads suffice for accurate microbial community analysis. *Nucleic Acids Research* 35, e120.
- Lozupone, C., Knight, R., 2005. UniFrac: a new phylogenetic method for comparing microbial communities. *Applied and Environmental Microbiology* 71, 8228-8235.
- Luteyn, J.L., 1999. *Páramos: a Checklist of Plant Diversity, Geographic Distribution and Botanical Literature*. The New York Botanical Garden Press, New York.
- Mahecha, L., Pelaez, F., & Gallego, L. 2002. Situación actual de la ganadería de carne en Colombia y alternativas para impulsar su competitividad y sostenibilidad. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 15 (2), 213-225.
- Nevados, P.L., 2007. Plan de Manejo Parque Nacional Natural de Los Nevados 2007-2011. In: Antioquía, D.T.N.M. (Ed.). *Parques Nacionales Naturales de Colombia*.
- Nielsen, S., Minchin, T., Kimber, S., van Zwieten, L., Gilbert, J., Munroe, P., Joseph, S., Thomas, T., 2014. Comparative analysis of the microbial communities in

- agricultural soil amended with enhanced biochars or traditional fertilisers. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 191, 73-82.
- Pershina, E.V., Andronov, E.E., Pinaev, A.G., Provorov, N.A., 2013. Recent Advances and Perspectives in Metagenomic Studies of Soil Microbial Communities. In: Malik, A., Grohmann, E., Alves, M. (Eds.), *Management of Microbial Resources in the Environment*. Springer Netherlands, pp. 141-166.
- Purnima, S.K., Michael, R.B., Scot, E.D., Terry, C., 2011. Target Region Selection Is a Critical Determinant of Community Fingerprints Generated by 16S Pyrosequencing. *PLoS ONE* 6.
- Rampelotto, P., de Siqueira Ferreira, A., Barboza, A., Roesch, L., 2013. Changes in Diversity, Abundance, and Structure of Soil Bacterial Communities in Brazilian Savanna Under Different Land Use Systems. *Microb Ecol* 66, 593-607.
- Ramsey, P.W., Rillig, M.C., Feris, K.P., Gordon, N.S., Moore, J.N., Holben, W.E., Gannon, J.E., 2005. Relationship between communities and processes; new insights from a field study of a contaminated ecosystem. *Ecology Letters* 8, 1201-1210.
- Ruberto, L.A., Vazquez, S.C., Mac Cormack, W.P., 2008. Bacteriology of extremely cold soils exposed to hydrocarbon pollution. *Microbiology of Extreme Soils*. Springer, pp. 247-274.
- Schloss, P.D., Westcott, S.L., Ryabin, T., Hall, J.R., Hartmann, M., Hollister, E.B., Lesniewski, R.A., Oakley, B.B., Parks, D.H., Robinson, C.J., Sahl, J.W., Stres, B., Thallinger, G.G., Van Horn, D.J., Weber, C.F., 2009. Introducing mothur: Open-Source, Platform-Independent, Community-Supported Software for Describing and Comparing Microbial Communities. *Applied and Environmental Microbiology* 75, 7537-7541.
- Tringe, S.G., Hugenholtz, P., 2008. A renaissance for the pioneering 16S rRNA gene. *Current Opinion in Microbiology* 11, 442-446.
- Tsai, S.-H., Selvam, A., Chang, Y.-P., Yang, S.-S., 2009. Soil bacterial community composition across different topographic sites characterized by 16S rRNA gene clones in the Fushan Forest of Taiwan. *Bot Stud* 50, 57-68.
- Wagner, D., 2008. Microbial communities and processes in Arctic permafrost environments. *Microbiology of extreme soils*. Springer, pp. 133-154.
- Wang, Q., Garrity, G.M., Tiedje, J.M., Cole, J.R., 2007. Naive Bayesian classifier for rapid assignment of rRNA sequences into the new bacterial taxonomy. *Applied and Environmental Microbiology* 73, 5261-5267.
- Weber, C.F., Lockhart, J.S., Charaska, E., Aho, K., Lohse, K.A., 2014. Bacterial composition of soils in ponderosa pine and mixed conifer forests exposed to different wildfire burn severity. *Soil Biology and Biochemistry* 69, 242-250.
- Yang, C., Hamel, C., Gan, Y., Vujanovic, V., 2012. Tag-encoded pyrosequencing analysis of the effects of fungicide application and plant genotype on rhizobacterial communities. *Applied Soil Ecology* 60, 92-97.
- Zhalnina, K., de Quadros, P.D., Gano, K.A., Davis-Richardson, A., Fagen, J.R., Brown, C.T., Giongo, A., Drew, J.C., Sayavedra-Soto, L.A., Arp, D.J., 2013. *Ca. Nitrososphaera* and *Bradyrhizobium* are inversely correlated and related to agricultural practices in long-term field experiments. *Frontiers in microbiology* 4.
- Zhang, H., Song, X., Wang, C., Liu, H., Zhang, J., Li, Y., Li, G., Yang, D., Zhao, S., 2013a. The effects of different vegetation restoration patterns on soil bacterial diversity for sandy land in Hulunbeier. *Acta Ecologica Sinica* 33, 211-216.

- Zhang, W., Wu, X., Liu, G., Dong, Z., Zhang, G., Chen, T., Dyson, P., 2013b. Tag-encoded pyrosequencing analysis of bacterial diversity within different alpine grassland ecosystems of the Qinghai-Tibet Plateau, China. *Environ Earth Sci*, 1-8.
- Zumsteg, A., Bååth, E., Stierli, B., Zeyer, J., Frey, B., 2013. Bacterial and fungal community responses to reciprocal soil transfer along a temperature and soil moisture gradient in a glacier forefield. *Soil Biology and Biochemistry* 61, 121-132.

7. Capítulo 7. Comunidades microbianas en suelos bajo cultivo de papa, ganadería y páramo de la vereda El Bosque del Parque Nacional Natural los Nevados, Colombia⁷

7.1 Resumen

Con el objetivo de evaluar posibles cambios asociados al cultivo de papa y la ganadería sobre las comunidades microbianas de suelos de páramo del Parque Nacional Natural de Los Nevados (PNN Los Nevados) se realizaron diferentes análisis bajo diferentes estrategias metodológicas que incluyeron: 1. valuación de los procesos del suelo mediante la determinación de parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas asociadas a diferentes ciclos biogeoquímicos (C, N, P); 2. valuación de la diversidad funcional de la comunidad microbiana mediante la determinación de los grupos funcionales (GF Cultivables), asociados a los ciclos de C, N y P haciendo uso de técnicas dependientes de cultivo; y 3. análisis de diversidad microbiana mediante técnicas independientes de cultivo empleando la región hipervariable V5-V6 del gen 16SRNA y pirosecuenciación. Los resultados indican que la estrategia de evaluación de diversidad de GF Cultivables fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos fue la que detectó los mayores impactos producto de los diferentes factores evaluados (uso del suelo, época y altitud) y especialmente aquellos debidos al impacto del cultivo de papa y la ganadería. Cuatro de las seis matrices evaluadas (fisicoquímicos, actividades enzimáticas, Número Más Probable y GF Cultivables) detectaron diferencias significativas por el uso del suelo. Esto puede ser un reflejo de que los primeros impactos que genera el cultivo de papa y la ganadería en la vereda El Bosque son sobre la diversidad funcional, superiores a los obtenidos al analizar la región variable de la región V5-V6 del 16S rRNA. Estos resultados pueden deberse a los periodos de barbecho entre cada cultivo de papa, utilizado por los campesinos, los cuales son superiores a 7 años y a la baja proporción de ganado, con respecto a la extensión total de tierra en la vereda. Estos resultados pueden ser entendidos como un indicador temprano de impactos del

⁷ El presente artículo se encuentra escrito bajo las instrucciones de autor de la revista *Agriculture, Ecosystems & Environment*.

cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad microbiana, lo cual hace que lo reportado en los capítulos 1 y 2 acerca de la implementación de planes de manejo comunitario, aplicación de modelos agroecológicos, rescate de memoria biocultural y cambios en estructura agraria sean relevantes para atenuar los cambios que se puedan presentar a futuro.

Palabras clave: diversidad microbiana, grupos funcionales, áreas protegidas, *hotspots*, impactos agrícolas sobre el suelo

7.2 Introducción

Los páramos son ecosistemas de gran importancia los cuales han sido considerados *hotspots* al interior de zonas *hotspots* dada su ubicación en los Andes Tropicales (Myers *et al.*, 2000; Madriñán *et al.*, 2013). Esta caracterización se ha debido al cumplimiento de la doble condición de ser zonas que presentan elevada biodiversidad la cual simultáneamente se encuentra altamente amenazada. Los páramos juegan un papel importante como generadores, reguladores y almacenadores del recurso hídrico, por su riqueza paisajística, el albergue de gran número de especies animales y vegetales endémicas, así como de la microbiota asociada al suelo, que es la base del sustento para el establecimiento y desarrollo de las comunidades vegetales allí encontradas (Rey *et al.*, 2002).

El PNN Los Nevados constituye un eje articulador del corredor ambiental de la cordillera central Colombiana, el cual incluye el páramo como su ecosistema más representativo con un 66 % del área total del parque (PNNN, 2010). En la actualidad se desarrollan actividades de cultivo de papa y ganadería al interior de los páramos del PNN Los Nevados, las cuales incluyen técnicas heredadas de la revolución verde en combinación con saberes locales de los campesinos de la zona. Sin embargo, a pesar de la importancia de los páramos y de este parque natural, existen pocos estudios acerca de los posibles impactos de las prácticas agropecuarias sobre la biodiversidad microbiana de los suelos de esta zona. Se considera de gran importancia conocer los cambios que ocurren en este ecosistema por la acción antrópica, para la adopción de medidas de protección y recuperación de estos suelos (Madriñán *et al.*, 2013).

Los microorganismos son componentes fundamentales del suelo, ya que degradan la materia orgánica y realizan transformaciones biogeoquímicas de los elementos (Lin *et al.*, 2007; Yuan y Yue, 2012). Así mismo, se han considerado como bioindicadores y se utilizan para la evaluación de la calidad del suelo y para predicción de su degradación a medida que responden rápidamente a cualquier cambio en la composición del medio edáfico (Pal *et al.*, 2006; Angelini *et al.*, 2013). Existen reportes en los cuales se ha estimado que sólo el 0,1 % de los plaguicidas aplicados alcanza las plagas objetivo y el restante 99,9 % se acumula en los suelos y afecta directa o indirectamente la densidad microbiana y sus actividades enzimáticas (Pimentel, 1995; Singh y Singh, 2005; Das y Debnath, 2006; Angelini *et al.*, 2013).

La diversidad microbiana de los suelos puede verse afectada por las prácticas agrícolas y la intervención antrópica en los ecosistemas naturales. En este sentido se ha argumentado que para un adecuado análisis de los efectos de las prácticas agrícolas sobre las propiedades microbianas del suelo, se sugiere su evaluación en tres diferentes

niveles (Hill et al. 2000): a) Análisis a nivel de procesos del suelo, en el que aspectos como la biomasa, las tasas de respiración y las actividades enzimáticas han sido importantes, pues si bien no proporcionan información específica a nivel taxonómico o de las comunidades microbianas, si constituyen elementos importantes para comprender sus interrelaciones; b). Análisis a nivel de las comunidades o microorganismos determinados mediante métodos cultivo-dependientes, en cuyo caso los cambios cualitativos y cuantitativos pueden servir como indicadores importantes; c) Análisis a nivel de comunidades microbianas mediante métodos cultivo-independientes, los cuales se plantean a raíz de las limitaciones propias de los métodos dependientes de cultivo, se estima que la diversidad genética bacteriana encontrada en los suelos por métodos independientes de cultivo puede ser 200 veces mayor a la obtenida con métodos cultivo-dependientes para el mismo suelo.

En este contexto y dada la poca información que se tiene acerca de los posibles impactos del cultivo de papa y la ganadería sobre la biodiversidad microbiana del suelo en las regiones paramunas, se realizó el presente estudio, el cual buscó, mediante un análisis integrado de los datos reportados, comprender las posibles relaciones entre las prácticas agropecuarias asociadas al cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad microbiana de suelos de páramo en el PNN Los Nevados. De igual manera, se buscó identificar entre los parámetros fisicoquímicos, enzimáticos y microbianos aquellos que mejor explicaran los cambios asociados al cultivo de papa y la ganadería en los respectivos suelos bajo páramo. Las estrategias metodológicas incluyeron: 1. la evaluación de los procesos del suelo mediante determinación de parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas asociadas a diferentes ciclos biogeoquímicos 2. la evaluación de diversidad funcional de la comunidad de microorganismos mediante determinación de abundancia y diversidad de grupos funcionales (C, N; P) haciendo uso de técnicas dependientes de cultivo; y 3. el análisis de diversidad microbiana mediante técnicas independientes de cultivo empleando la región hipervariable V5-V6 del gen 16SRNA y pirosecuenciación.

7.3 Materiales y métodos

7.3.1 Descripción del lugar de estudio

El presente estudio se llevó a cabo en la vereda El Bosque del PNN Los Nevados, Colombia. La vereda es el único asentamiento humano al interior del área protegida (BID *et al.*, 2002) y es la única zona donde se desarrollan actividades de cultivo de papa y ganadería en el parque. El acceso a la zona es difícil, se requieren entre cinco y siete horas de camino a pie o en mula desde el corregimiento El Cedral (Risaralda) que se encuentra a aproximadamente dos horas en vehículo desde el municipio de Pereira, que a su vez está a cerca de 300 Km de la ciudad de Bogotá. Otra vía de acceso es caminar de cuatro a seis horas por senderos de herradura desde el sitio Potosí, entrando por la vía de la ciudad de Villamaría (Caldas), que se encuentra a aproximadamente tres horas de Manizales (Caldas), que a su vez está a alrededor de 300 Km en ruta desde Bogotá.

Las actividades agropecuarias que se desarrollan en la zona son producto de la aplicación del paquete tecnológico de la revolución verde, en combinación con saberes locales de los campesinos de la zona. De esta manera se han desarrollado procesos de remoción de la vegetación nativa del páramo para dar paso a los cultivos de papa y la

ganadería. Los cultivos de papa se desarrollan en rotación con pastos (ganadería), en ciclos bianuales y con periodos de barbecho superiores a los siete años. Para los periodos de cultivo de papa se realiza aplicación de agroquímicos, entre los que se encuentran Furadan, Parathiom, Monitor, Lorsban, Curacron, Manzate, Fitoraz, Ridomil, Anvil y fertilizantes de síntesis química tipo N:P:K. Para la ganadería se mantienen pastos característicos como son Orchoro (*Dactylis glomerata*), Raygras (*Lolium* sp) y Plegadera (*Lachemilla* sp.). En la vereda El Bosque se encuentran zonas de páramo que fueron seleccionadas por ser aquellas áreas con el menor nivel de intervención posible, presentando vegetación característica de los sub-páramos correspondiente a: *Cortaderia selloana*, *Pernettya prostrata*, *Buddleja* sp., *Lupinus albus*, *Dendropanax* sp., *Chusquea* sp (Capítulo 2).

7.3.2 Diseño de muestreo

Se tomaron muestras de suelos rizosféricos de la vereda El Bosque, PNN Los Nevados, Colombia. Las muestras fueron tomadas en los agroecosistemas Buenos Aires (3769 m.s.n.m.), El Edén (3590 m.s.n.m.) y La Secreta (3432 m.s.n.m.). En cada agroecosistema se evaluaron tres usos del suelo: páramo (con la menor grado de intervención antrópica posible), cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) y ganadería. El muestreo se realizó en dos épocas: seca y lluviosa. En cada uno de los usos del suelo se analizaron tres ventanas de observación, cada una compuesta por 10 submuestras de suelo.

7.3.3 Estrategia metodológica para el análisis de comunidades microbianas

Se realizaron análisis estadísticos univariados y multivariados a las matrices de datos provenientes de diferentes estrategias metodológicas. Estas estrategias incluyeron:

1. La evaluación de procesos del suelo mediante la determinación de parámetros fisicoquímicos tales como humedad, densidad aparente, estabilidad estructural, pH, porcentaje de carbono orgánico, capacidad de intercambio catiónico, calcio, magnesio, potasio y sodio, acidez intercambiable, fósforo asimilable, nitrógeno total, N-NH₄, N-NO₃, contenido total de carbono, hidrógeno y nitrógeno de acuerdo con los procedimientos descritos en el Capítulo 3. Así mismo, se incluyó la determinación de actividades enzimáticas asociadas a los ciclos del nitrógeno (ureasa y proteasa); al ciclo del fósforo (fosfatasa ácida, alcalina y fosfodiesterasa), al ciclo del carbono (β -glucosidasa) y al metabolismo intracelular como la deshidrogenasa, siguiendo la metodología reportada en el Capítulo 3.

2. La evaluación de diversidad funcional de los microorganismos asociada a los grupos funcionales microbianos del C, N y P (GF Cultivables) haciendo uso de técnicas dependientes de cultivo. En este caso se analizaron los datos reportados para abundancia y diversidad de fijadores de nitrógeno (bacterias); solubilizadores de fosfato y celulolíticos (bacterias y hongos), de acuerdo con los procedimientos reportados en el Capítulo 5. Adicionalmente, se analizaron los datos de abundancia de microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno como son: amonificantes, proteolíticos, oxidantes de amonio, oxidantes de nitrito y denitrificantes, determinados por el método del número

más probable (NMP) de acuerdo con lo descrito en el Anexo A (Cañón-Cortázar *et al.*, 2012).

3. El análisis de diversidad microbiana presente mediante técnicas independientes de cultivo haciendo uso de la región hipervariable V5-V6 del gen 16SRNA y pirosecuenciación de acuerdo con lo descrito en el Capítulo 7. Para ello, los datos se agruparon en dos matrices, una global, en donde los datos incluían el análisis de secuencias a nivel de género (16S-454 Género) y la otra, en donde los datos correspondieron a los OTUs más representativos (16S-454 OTUs).

7.3.4 Análisis estadístico

7.3.4.1 Influencia relativa del uso del suelo sobre la estructura microbiana

Con el objetivo de jerarquizar la importancia relativa del uso del suelo sobre la diversidad microbiana respecto a otras fuentes de variación espacio temporales y de evaluar cual de las estrategias utilizadas registra mayor respuesta al uso del suelo, se analizaron las seis matrices proporcionadas por cada una de las estrategias metodológicas empleadas para estudiar la diversidad microbiana. En total, se establecieron seis matrices correspondientes a: dos matrices de procesos del suelo (parámetros fisicoquímicos y actividades enzimáticas) y cuatro matrices microbianas (GF Cultivables, NMP, 16S-454 Género y 16S-454 OTUs) las cuales se analizaron siguiendo un modelo lineal de efectos mixtos y cuatro factores. La variación en cada una de las seis matrices se descompuso con un modelo lineal de efectos mixtos y cuatro factores. En el modelo lineal, el *Uso* de la tierra correspondió a un factor fijo con tres niveles (i. e. páramo, cultivo, ganadería), que genera interacciones de primer y segundo orden. Similarmente, las *Fincas* se consideran un factor fijo con dos niveles (i. e. Buenos Aires, La Secreta) para las matrices independientes de cultivo, y tres niveles para el resto de las matrices evaluadas (i. e. Buenos Aires, El Edén, La Secreta). La *Época* se consideró un factor fijo por sus dos niveles. En la matrices de actividades enzimáticas y diversidad de grupos funcionales usando la metodología de aislamiento de los microorganismos por medios de cultivo las ventanas fueron consideradas un factor aleatorio de tres niveles anidados a la interacción de segundo orden Finca x Uso x Época, en donde cada una contó con tres réplicas. Para cada matriz se estimaron los componentes de variación asociados a cada término en el modelo lineal, la cual se hizo con la finalidad de jerarquizar la importancia relativa del uso de suelo sobre otros procesos espacio-temporales, pero sobre todo, evaluar cuál de las matrices registra mayor respuesta al tipo de uso del suelo.

La información de abundancia de los microorganismos asociados a los grupos funcionales relacionados con el ciclo del N, usando la metodología del NMP, se organizaron en matrices separadas por *grupo funcional x muestra*, y cuyas entradas correspondieron a los valores de abundancia de cada grupo en la muestra respectiva. Adicionalmente, la información de diversidad microbiana de cada uno de los grupos funcionales relacionados con la fijación de nitrógeno, solubilización de fosfato y degradación de celulosa, se organizaron en matrices separadas de tamaño *especies x muestra*, cuyas entradas fueron los valores de abundancia de cada microorganismo en la muestra respectiva. Similarmente, los datos provenientes de los métodos independientes de cultivo (16SRNA región V5-V6 y 454) se organizaron en matrices *especies x muestra*.

En cada caso se analizó la similitud en composición y abundancia de microorganismos entre cada par de muestras con el índice de similitud Bray-Curtis (Clarke, 1993) previa

transformación de raíz cuarta a las abundancias. Tal transformación permite disminuir el peso de las especies muy dominantes y aumenta la importancia relativa de las especies raras en el cálculo del índice de similitud. Por otra parte, las matrices de variables fisicoquímicas y actividades enzimáticas, fueron normalizadas y se calculó la distancia euclidiana entre cada par de muestras. Seguidamente, la variación total en cada una de las matrices fue descompuesta usando el modelo lineal propuesto previamente y analizado con un análisis de varianza multivariado basado en permutaciones (PERMANOVA) (Anderson, 2001). En todos los casos, la significancia probabilística de cada fuente de variación se estimó usando 9999 permutaciones de los residuales considerando el modelo nulo reducido. El cálculo de los componentes de variación consistió en el despeje simple de los cuadrados medios esperados para cada fuente de variación y la sustitución de los cuadrados medios observados. Finalmente, para evaluar las correlaciones potenciales entre las matrices de las variables microbianas (GF Cultivables, NMP, 16S-454 Género y 16S-454 OTUs), se efectuaron correlaciones Spearman basadas en el rango obtenido entre cada par de matrices.

7.3.4.2 Variables explicativas y especies microbianas indicadoras de uso del suelo

Para evitar sobreparametrización en la construcción de modelos explicativos, se aplicó un procedimiento de preselección de variables ambientales relevantes usando un algoritmo computacionalmente intensivo llamado *BVSTEP stepwise search* (Clarke y Warwick, 2001). En este se seleccionan combinaciones aleatorias de subconjuntos de variables de cada matriz, se construye una matriz de similitud para cada preselección y las correlaciona con la matriz de similitud original. El procedimiento se realiza miles de veces hasta que se obtenga el subconjunto de variables con mayor ajuste a la información reflejada en la matriz original. Este proceso de simplificación también se aplicó a las matrices microbianas, en aras de identificar especies indicadoras y especies redundantes.

Una vez filtradas las variables redundantes correspondientes a los procesos del suelo, se generó una sola matriz que incluyó varias variables fisicoquímicas y actividades enzimáticas. Luego se construyeron modelos lineales predictivos basados en matrices de distancia y permutaciones (DistLM) entre la matriz ambiental (fisicoquímicos y enzimas) y cada una de las matrices de microorganismos (GF Cultivables, NMP, 16S-454 Género y 16S-454 OTUs). En cada caso, la inclusión de variables en los modelos siguió una exhaustiva búsqueda usando los procedimientos *forward*, *backward* y *setp-wise*. En todos los casos, se estimó el Criterio de Información de Akaike con corrección del segundo orden (AICc) y se eligió el modelo con menor valor AICc.

Para reflejar la importancia relativa de las variables elegidas en cada modelo, se realizaron ordenaciones canónicas basadas en coordenadas principales (CAP) sobre las matrices de abundancia NMP, diversidad GF Cultivables y métodos independientes de cultivo usando como criterio discriminante el tipo de uso de suelo. Sobre cada ordenación se proyectaron los vectores de las variables con fuerte correlación sobre los ejes discriminantes ($\sqrt{r_1^2 + r_2^2} \geq 0.6$). Todos los análisis se realizaron con el programa PRIMER v6 & PERMANOVA *add on* (Clarke y Warwick, 2001; Anderson *et al.*, 2008).

7.4 Resultados y discusión

Los porcentajes de los componentes de variación para cada una de las estrategias de evaluación (Figura 7-1) de los impactos del cultivo de papa y la ganadería sobre las características de las comunidades microbianas del suelo, indican que la estrategia de diversidad de GF Cultivables como fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos fue la que detectó mayores diferencias respecto el uso de suelo (factor Uso; $p < 0,05$). No obstante, se aprecia que hay considerables diferencias en la estructura microbiana, según GP funcionales, entre ambos muestreos. Sin embargo, el potencial efecto del uso del suelo fue constante en ambas épocas y las tres fincas evaluadas (Época x Finca x Uso; $p > 0,05$).

Con relación al impacto del cultivo de papa y la ganadería se puede analizar que las dos matrices de los procesos del suelo (físicoquímicos y enzimas) y las dos de la estrategia cultivable (NMP y GF Cultivables) detectaron componentes de variación estadísticamente significativas. En contraste, no se encontraron diferencias significativas con la estrategia cultivo independiente, en donde se evaluó la diversidad de la comunidad microbiana mediante el gen 16S (región V5-V6) y pirosecuenciación tanto a nivel de género como a nivel de OTUs. Lo que indica que a nivel de secuencia (ADN), las diversidad de microorganismos presente en los suelos evaluados no se ve alterada con las prácticas agrícolas, a diferencia de lo detectado al evaluar la diversidad funcional de la comunidad (secuencias expresadas) usando las demás estrategias. Esto puede deberse a que los cambios tempranos por las prácticas agrícolas y usos del suelo son detectados en primera instancia por la diversidad funcional y los procesos del suelo, pero no por el análisis del material genético a nivel de ADN. Adicionalmente, este comportamiento puede ser entendido como un indicador temprano de los impactos del cultivo de papa y la ganadería, los cuales debido a las características agropecuarias particulares que se desarrollan en la vereda El Bosque, esto es contar periodos de barbecho superiores a siete años entre cada cultivo de papa y con una baja proporción de ganado vs extensión de tierra, hace que se atenúen los impactos sobre la diversidad microbiana determinada mediante la región V5-V6 del 16S rRNA en los suelos de estudio.

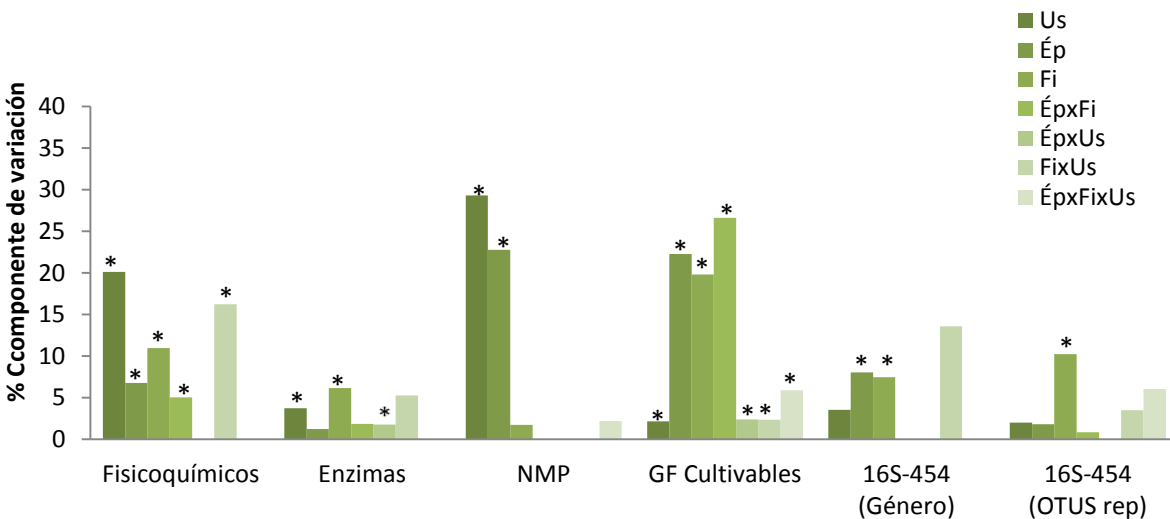
La presencia de cambios significativos detectados por las estrategias cultivables (GF Cultivables y NMP) y a nivel de procesos del suelo (parámetros físicoquímicos y actividades enzimáticas) alertan sobre la necesidad de introducir técnicas de la agricultura sustentable que atenúen el impacto que están generando las prácticas asociadas al cultivo y la ganadería. Como se ha discutido en los artículo anteriores (Capítulo 1 y 2), se sugiere que la introducción de estas prácticas agrícolas se de en el marco de políticas de conservación que incluyan: 1. La aplicación de planes de manejo comunitario en las áreas protegidas, 2. La aplicación de modelos agroecológicos y 3. cambios en la estructura agraria que generan correspondencia entre el uso potencial y efectivo del suelo.

Por otro lado, los cambios significativos debidos a la época de muestreo fueron encontrados en cuatro de las seis matrices, a saber: parámetros físicoquímicos, NMP, GF Cultivables y 16S-454 Género y en todas las fincas (altura) se detectaron diferencias significativas con excepción de la matriz NMP. Lo anterior puede estar indicando que fenómenos asociados al cambio climático y a las diferencias de altura podrían estar teniendo igual o mayor influencia sobre las comunidades microbianas con respecto al uso del suelo con cultivos de papa y ganadería, lo cual hace que cobren relevancia los estudios sobre el impacto que genera la variabilidad y cambio climático sobre las

comunidades microbianas, más aún si se tiene en cuenta que estos impactos fueron detectados incluso por las matrices de la estrategia independiente de cultivo que indica cambios en la secuencia asociadas con la región variable V5-V6 del gen 16S rRNA.

La matriz que detectó los mayores cambios por efecto de la época de muestreo, la finca, el uso y las diferentes interacciones entre estos factores de variación fue la de diversidad de GF Cultivables de fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos. Estos resultados indican que las principales modificaciones por efecto del uso agrícola (cultivo de papa y ganadería), la época de muestreo y la finca sobre las comunidades microbianas de los suelos de páramo se aprecia mejor al evaluar la riqueza y estructura de la comunidad de microorganismos aislados en medios selectivos para grupos microbianos cultivables asociados a una determinada función, ya sea fijadora de nitrógeno, solubilizadora de fosfato o celulolítica, así como en el caso del NMP y los procesos del suelo. Con relación a esto, Abril (2003) también ha planteado que la estrategia dependiente de cultivo es un indicador válido para detectar niveles de impacto y recuperación en sistemas productivos. Adicionalmente, reporta que el análisis de los principales grupos funcionales de microorganismos del suelo fue adecuado para detectar cambios provocados por el manejo productivo (Abril, 2003). De acuerdo con la citada investigación los grupos funcionales cultivables seleccionados demostraron ser sensibles y fáciles de medir, ya que fueron realizados con métodos simples y de rutina (Abril, 2003).

Figura 7-1: Porcentaje componentes de variación relativos para Permanova de cada matriz analizada.



Us: uso; Ép: época, FI: Finca. Por fines gráficos, no se incluyó la interacción con la ventana de observación y los residuales. Los asteriscos representan diferencias estadísticamente significativas.

En la Tabla 7-1 se presenta el número de variables seleccionadas por tener la mayor representatividad en cuanto al comportamiento de los datos de cada una de las matrices a partir del análisis de BVSTEP. Para los parámetros físicoquímicos se seleccionaron 13 de 20 variables, para las actividades enzimáticas y el análisis de abundancia mediante el NMP se mantuvo el mismo número de variables. La mayor selección de filotipos

indicadores se realizó en las matrices de abundancia y diversidad de microorganismos cultivables pertenecientes a grupos funcionales y en las matrices de diversidad provenientes de los análisis del gen 16S (región V5-V6). En el Anexo D se presentan los microorganismos seleccionados como indicadores por las diferentes estrategias metodológicas.

Tabla 7-1: Variables seleccionadas a partir de análisis BVSTEP en las matrices de estudio.

MATRIZ	Variables Totales	Variables Seleccionadas	Correlación
Fisicoquímicos	20	13	0.957
Actividades enzimáticas	7	7	NA
NMP	5	5	NA
GF Cultivables	197	24	0.951
16S-454 (Género)	557	9	0.954
16S-454 (OTUs representativos)	81	23	0.952

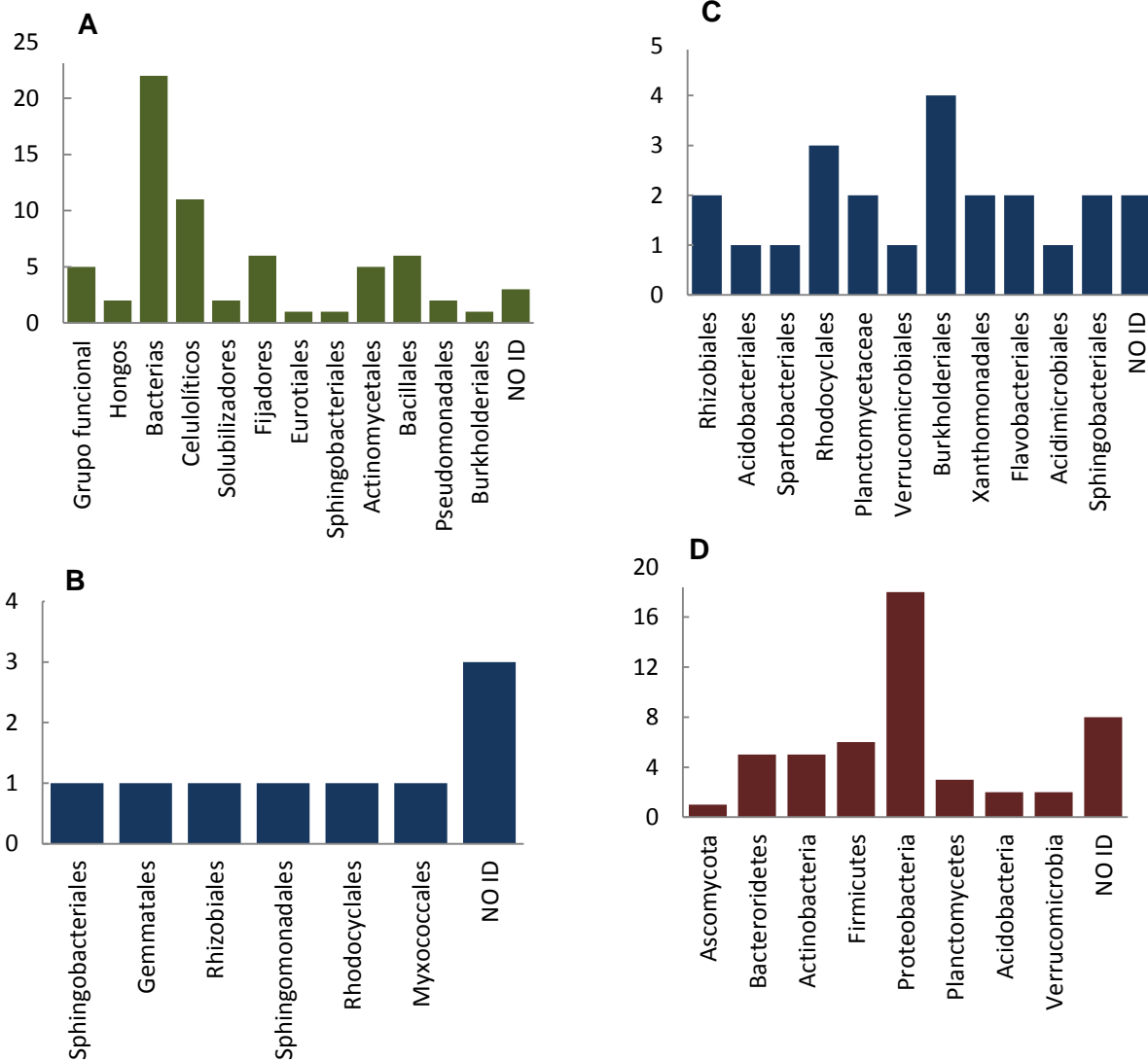
Al analizar la Figura 7-2A se observa que los conteos totales para grupos funcionales previa identificación de los morfotipos (hongos, bacterias, fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos) son los que presentan las mayores frecuencias como grupos indicadores, por encima de la frecuencia de los filotipos a nivel individual. Este resultado es relevante dado que estaría indicando que los datos de abundancia globales de grupos funcionales está proporcionando mayor información por impacto de las prácticas agrícolas que la proporcionada una vez realizado el análisis de diversidad que implica la identificación molecular de cada una de las cepas encontradas. Por otro lado, se observa que las bacterias funcionaron como mejor indicador de impacto por el cultivo de papa y la ganadería con respecto a los hongos.

En el caso de los grupos funcionales la frecuencia de filotipos indicadores siguió la siguiente tendencia: celulolíticos>fijadores de nitrógeno >solubilizadores de fosfato. Esto indica que los cambios asociados al ciclo del carbono (reflejado en los microorganismos celulolíticos) fueron los que presentaron mayores impactos por efecto de los diferentes factores evaluados, a saber uso del suelo, época de muestreo y finca. Al respecto Abril (2003) también ha señalado a los organismos celulolíticos como los más sensibles para detectar cambios producidos inmediatamente después de una perturbación intensa como los laboreos del suelo. Esto es relevante dado que estos microorganismos son los que presentan una relación directa con la transformación de la materia orgánica del suelo y podría ser una respuesta a los cambios en la vegetación nativa del suelo y con ellos los cambios en los exudados de raíces que genera cada uno (Nilsson *et al.*, 2008; Dennis *et al.*, 2010; Zhou *et al.*, 2014). También, se ha mencionado que la materia orgánica es una propiedad emergente e indicador sensible dado que responde a las tasas de descomposición de los residuos de los cultivos, a los cambios en la protección física del suelo, y a los diferentes procesos de labranza de los suelos (Post y Kwon, 2000; Henry *et al.*, 2013). Entre los filotipos (a nivel de orden) seleccionados como indicadores se encuentran: *Eurotiales*, *Sphingobacterales*, *Actinomycetales*, *Bacillales*, *Pseudomonadales*, y *Burkholderiales*.

En la Figura 7-2B que ilustra las especies indicadoras para la matriz de diversidad mediante evaluación independiente de cultivo del gen 16S (región V5-V6) se encuentran como indicadores los filotipos (a nivel de orden) *Sphingobacterales*, *Gemmatales*, *Rhizobiales*, *Sphingomonadales*, *Rhodocyclales*, *Myxococcales* y filotipos no

identificados, de los cuales (a excepción de los filotipos no identificados) no se observa ninguno con mayor frecuencia que otro, siendo la máxima frecuencia de 1, indicando una baja redundancia en el comportamiento indicador de estos filotipos.

Figura 7-2: Frecuencia de filotipos indicadores en las diferentes matrices de estudio.



A. GF Cultivables (Orden); B. 16S-454 (Orden); C.16S-454 (OTUs representativos-Orden); D. Indicadores totales a nivel de filo.

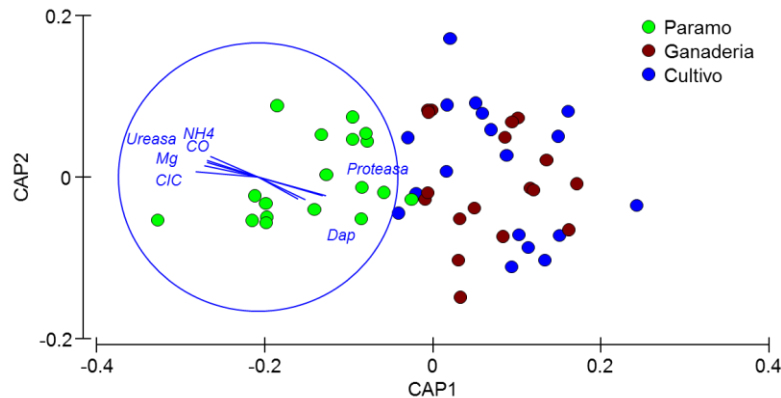
En la Figura 7-2C que ilustra las especies indicadoras para la matriz de OTUs representativos del análisis de diversidad del gen 16S se encuentran como indicadores los filotipos (a nivel de orden) *Rhizobiales*, *Acidobacteriales*, *Spartobacteriales*, *Rhodocyclales*, *Planctomycetales*, *Verrucomicrobiales*, *Burkholderiales*, *Xantomonadales*, *Flavobacteriales*, *Acidimicrobiales*, *Sphingobacteriales* y filotipos no identificados, de los cuales se resaltan los *Burkholderiales* y los *Rhodocyclales* con una frecuencia de 3. En

las tres matrices coinciden como indicadores los órdenes *Sphingobacteriales*, *Rhodocyclales* y *Rhizobiales*.

En la Figura 7-2D se observa la distribución de filotipos indicadores globalmente en las diferentes estrategias a nivel de phylum. Predominan *Proteobacterias*, seguido por *Bacteroidetes*, *Actinobacterias* y *Firmicutes*. Estos resultados concuerdan con lo reportado en la restauración de suelos forestales degradados con minería en donde las especies indicadoras fueron los phyla *Proteobacteria* (los cuales fueron dominantes), *Bacteroidetes* y *Actinobacteria* (Preem *et al.*, 2012). También se ha planteado que los cuatro phyla bacteriana dominante (*Proteobacteria*, *Acidobacteria*, *Actinobacteria*, *Bacteroidetes*) se encuentran en los suelos de la mayoría de los biomas del planeta (Fierer *et al.*, 2009; Kanokratana *et al.*, 2011; Preem *et al.*, 2012).

Al analizar los resultados obtenidos por la técnica del NMP con los procesos del suelo (fisicoquímicos y enzimas) a través de CAP (Figura 7-3), se identifica que las variables que presentan mayor correlación con la abundancia de grupos funcionales por el método del NMP en páramo son el contenido de carbono orgánico, la capacidad de intercambio catiónico, el Mg, NH₄ y la actividad ureasa. Así mismo, se observa que hay una correlación positiva entre las muestras de cultivo de papa y ganadería con una mayor actividad proteasa y mayor densidad aparente del suelo. Por otro lado, la relación inversa encontrada entre la actividad proteasa y ureasa se encuentra en consonancia con lo previamente reportado para suelos bajo cultivo de papa y ganadería, en donde éstas enzimas no actúan de manera sinérgica, sino que por el contrario cuando una de ellas actúa la otra se inhibe o viceversa. Al respecto se ha reportado que la proteasa y la ureasa fueron inversamente proporcionales en consorcios de morfotipos bacterianos aislados de suelos bajo cultivo de papa y ganadería (Avellaneda-Torres *et al.*, 2012).

Figura 7-3: CAP estrategia NMP suelos PNN Los Nevados y parámetros de procesos del suelo.



Debido a los pocos reportes que existen respecto a los impactos de las prácticas agrícolas sobre los grupos funcionales por el método NMP, y a la ausencia de estos reportes para los ecosistemas de páramo, no es posible comparar estos resultados con otros del mismo tenor.

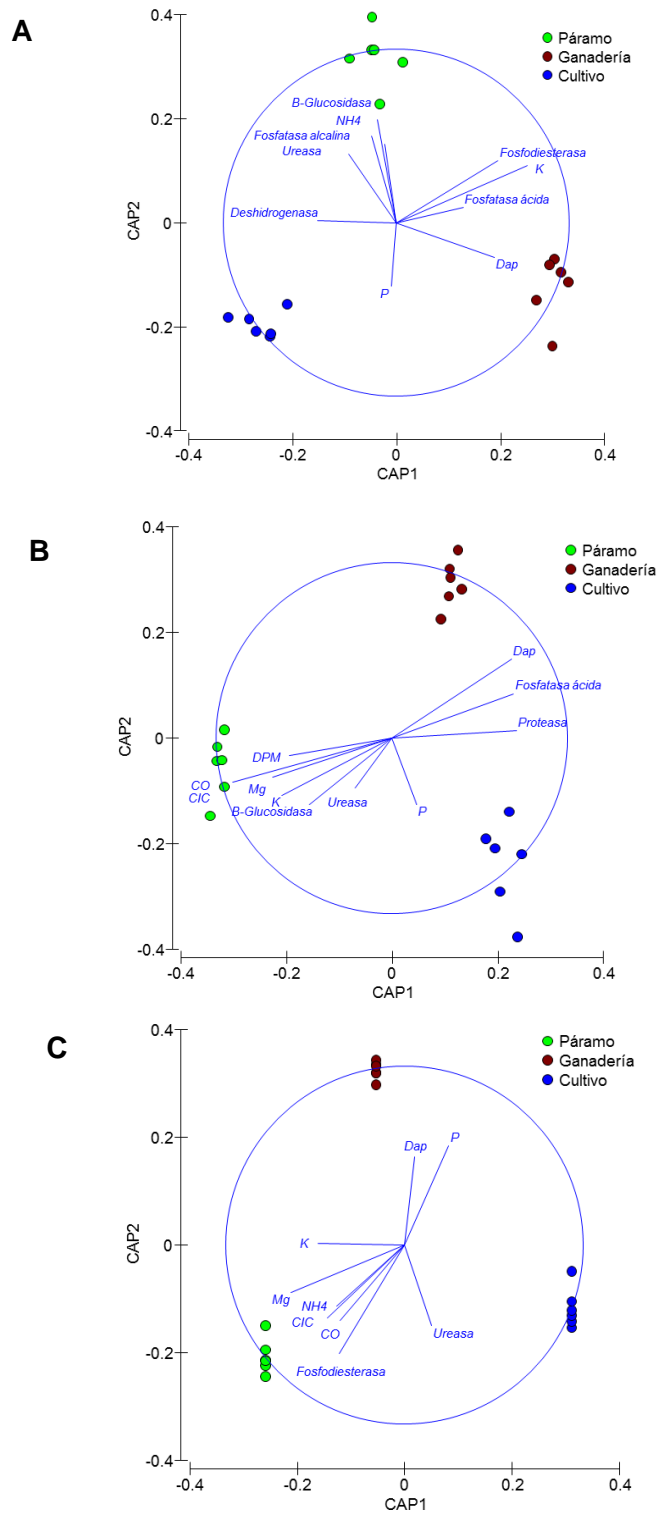
En cuanto a los resultados de diversidad de grupos funcionales fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos, con respecto a las variables que muestran los

procesos del suelo representados mediante CAP (Figura 7-4), se observa que en los tres agroecosistemas hay agrupaciones por efecto del uso del suelo (cultivo de papa, ganadería y páramo), los cuales de acuerdo con el análisis permanova indican diferencias estadísticamente significativas. Se ha planteado que los suelos agrícolas son entornos heterogéneos y a diferentes condiciones pueden afectar la diversidad y actividad microbiana (Angelini *et al.*, 2013), así mismo, que la estructura de la comunidad microbiana del suelo y su actividad está influenciada por multitud de factores, incluyendo el clima, el tipo de suelo y la cubierta y los factores edáficos (Singh *et al.*, 2007; Stres *et al.*, 2008; Dequiedt *et al.*, 2009; Preem *et al.*, 2012) que a su vez son fusión de las condiciones ecosistémicas y culturales de los agroecosistemas.

En este estudio se evidencia que la comunidad microbiana analizada bajo la estrategia de GF cultivables y presentes en suelos en donde se lleva a cabo el cultivo de papa y la ganadería han sido influenciados por prácticas como remoción de la vegetación nativa de páramo, la aplicación de agroquímicos, las labores mecánicas sobre el suelo y el pisoteo del ganado. Al respecto, se ha reportado que el tipo de planta es uno de los principales determinantes de las comunidades microbianas del suelo, ya que la hojarasca y rizodeposiciones son los principales proveedores de fuentes específicas de carbono y energía (Garbeva *et al.*, 2004; Dennis *et al.*, 2010). Adicionalmente, las especies de plantas difieren en sus composiciones bioquímicas (Zak *et al.*, 2003; Nilsson *et al.*, 2008) y algunos autores afirman que las comunidades microbianas del suelo cambiarían después de repetidos cultivo de la misma cosecha durante muchas temporadas (Zhou *et al.*, 2014).

En la estrategia GF Cultivables (Figura 7-4) se observan mayores correlaciones del CO₂, CIC, Mg, β -Glucosidasa y Ureasa con el páramo, estas correlaciones se encuentran en la misma vía de las encontradas por la técnica del NMP discutidas previamente. Lo anterior puede ser un indicativo, como se ha mencionado anteriormente, de que el ciclo del carbono es uno de los que más ha sufrido modificaciones por efecto del cultivo de papa y la ganadería. Encontrándose que hay mayores contenidos de CO₂, CIC y actividad β -glucosidasa en el páramo. Lo cual es consistente con el mayor número de filotipos indicadores celulolíticos seleccionados en la matriz de grupos funcionales cultivables. Esto estaría indicando también que en el páramo los procesos de transformación de β -glucosidos en glucosa por acción de la β -glucosidasa y la transformación de compuestos de tipo ureico en NH₄ por acción de la ureasa se desarrollan en mayor medida en los suelos bajo páramo de manera natural, en contraste con los suelos que se encuentran bajo cultivo de papa y ganadería. Otros autores también han reportado que el contenido materia orgánica estaba relacionado con la variación de la estructura de la comunidad bacteriana en suelos (Preem *et al.*, 2012). Lo anterior resalta la importancia del papel que pueden jugar los campesinos desarrollando procesos de conversión de sus agroecosistemas hacia prácticas de la agricultura ecológica, en los cuales se minimicen los impactos por aplicación de fertilizantes y plaguicidas y por remoción de la materia orgánica del suelo.

Figura 7-4: CAP estrategia GF Cultivables suelos PNN Los Nevados y parámetros de procesos del suelo



A. Buenos Aires; B. El Edén; C:La Secreta

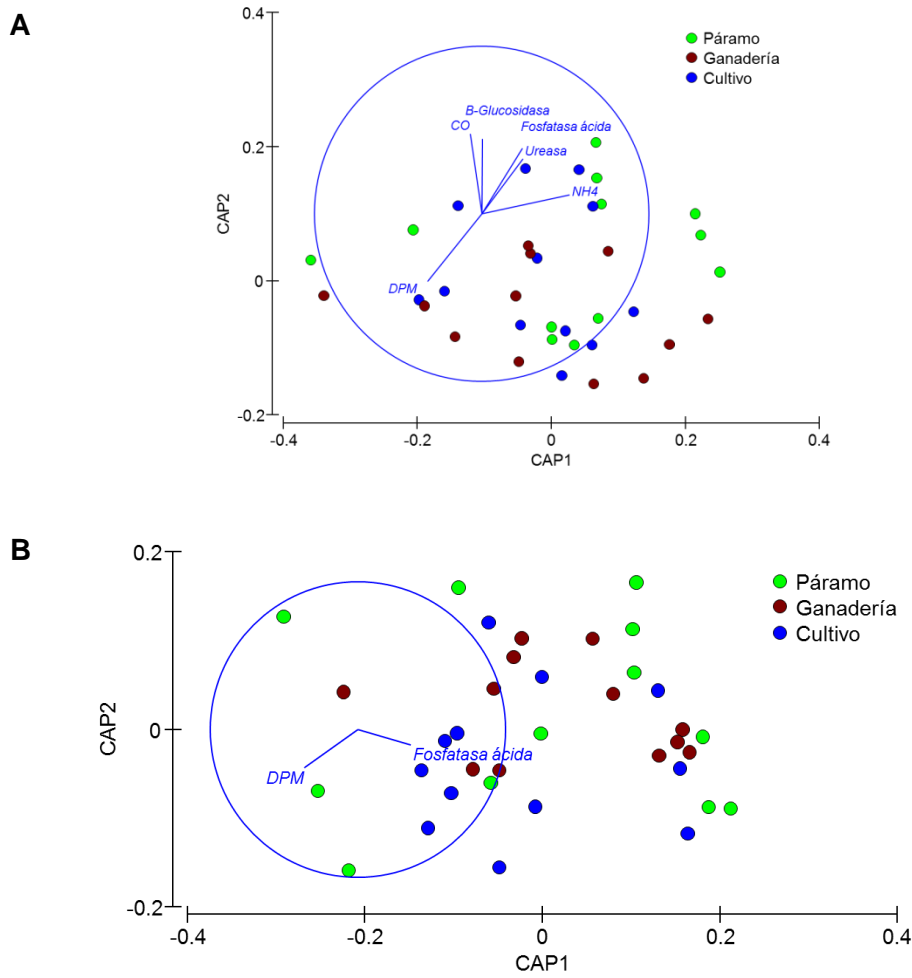
La densidad aparente y la fosfatasa ácida presentaron una mayor correlación con las comunidades microbianas encontradas bajo ganadería. La mayor Dap en suelos bajo ganadería refleja los procesos de compactación producto del pisoteo del ganado, los cuales modifican la porosidad del suelo y con esto la cantidad de oxígeno y agua que puede transportarse por el suelo, lo cual incide sobre las comunidades microbianas. Estos resultados están en concordancia con lo reportado por otros autores que detectaron una relación entre estructura de la comunidad bacteriana y el contenido total de algunos parámetros como la agregación y porosidad del suelo (Lombard *et al.*, 2011; Preem *et al.*, 2012).

El fósforo presentó correlación positiva y el K correlación negativa con los grupos funcionales de microorganismos asociados al cultivo de papa. Los mayores contenidos de P en cultivo de papa reflejan la fertilización con compuestos de tipo N:P:K y la posible liberación del fósforo que se encuentra retenido en la materia orgánica, pero que es liberado una vez se perturba la materia orgánica en los procesos de cultivo. Otros estudios reportan que el P proveniente de los fertilizantes aumenta la biomasa microbiana y la diversidad (Zhong y Cai, 2007), mientras que otros encontraron que tenían un efecto significativo sobre la composición de las comunidades microbianas del suelo (Bünemann *et al.*, 2004; Hamel *et al.*, 2006; Cruz *et al.*, 2009). Sin embargo, en el caso del potasio, decrece en los suelos bajo cultivo de papa a pesar de la aplicación de fertilizantes con K de origen sintético. El potasio en estos suelos se puede estar perdiendo por la demanda de nutrientes del cultivo en sí mismo, los cuales salen del suelo y no regresan al mismo después del proceso de cosecha, también pueden perderse por lixiviación. Este fenómeno también puede ser un reflejo de la menor CIC y CO que genera una menor retención del K en los suelos bajo papa, sin embargo, este es un fenómeno que debería estudiarse a mayor profundidad con el objetivo de mejorar su comprensión. Las anteriores tendencias también se observan en la Figura 7-3 (CAP para NMP) donde hay correspondencia con lo encontrado en la Figura 7-4.

En los CAPs de las Figura 7-5 no se observan agrupaciones claras por efecto del cultivo de papa, la ganadería y el páramo sobre la diversidad (gen 16S rRNA región V5-V6) de los suelos, tanto para la matriz de diversidad a nivel de género como para la de los OTUs representativos. Estos resultados son concordantes con lo reportado en la Figura 7-1, en donde los componentes de variación no presentan diferencias estadísticamente significativas producto del uso del suelo. Las variables fisicoquímicas y enzimáticas que presentan mayor correlación con las especies indicadoras de la estrategia cultivo-independiente son CO, CIC, β -glucosidasa, ureasa, fosfatasa ácida, NH₄ y DPM y son consistentes con las reportadas en los anteriores CAPs.

Al observar la Tabla 7-2 se puede analizar que las correlaciones entre los datos de las diferentes matrices de abundancia y diversidad son bajas. Las mayores correlaciones se presentan a nivel de la estrategia cultivable entre NMP y GF cultivables (0.270) y entre cultivo independiente a nivel de género y OTUs representativos (0.356), lo que indica correlaciones bajas dadas por la estrategia sea esta cultivable o no cultivable. Sin embargo, en términos globales el análisis de correlaciones indica que los resultados de diversidad obtenidos por cada una de las estrategias se comporta de manera independiente.

Figura 7-5: CAP estrategia 16S-454 y parámetros de procesos del suelo



A. Matriz global (Género) B. Matriz OTUs representativos

Tabla 7-2: Correlación entre las diferentes matrices de abundancia y diversidad

Matriz	NMP	GF Cultivables	16S-454 (Género)
NMP	--	--	--
Cultivables	0.270	--	--
16S-454 (Género)	-0.020	0.099	--
16S-454 (OTUs)	-0.070	0.109	0.356

En general cuatro de las seis estrategias metodológicas aplicadas detectaron cambios por efecto del cultivo de papa y la ganadería, de las cuales, a nivel microbiano, solo las estrategias dependientes de cultivo detectaron dichas diferencias. Se resalta que los resultados obtenidos indican modificaciones en la diversidad funcional (cultivable) sin que se detecten aún cambios en el material genético a nivel del gen 16S rRNA y con los marcadores moleculares empleados. Lo anterior puede ser un indicador temprano de cambios debidos a los usos del suelo, los cuales si bien aún no se detectan a nivel del

gen 16S rRNA en la estrategia no cultivable, si son una herramienta útil para desarrollar propuestas destinadas a la ejecución de planes agrícolas más sostenibles, que consideren los aspectos ecológicos y también culturales de la zona, donde más allá de delimitar áreas protegidas en medio de matrices agrícolas que generan una gran degradación de la naturaleza, se contemple la posibilidad de diseñar e implementar agroecosistemas mixtos donde se encuentren las dinámicas naturales y las hechas por los seres humanos en una coexistencia que permita acercarse al equilibrio ecológico (Otero *et al.*, 2011).

Al respecto también se han hecho propuestas interesantes como:

- La labranza de conservación (reducida y prácticas de labranza cero) que aumenta el carbono orgánico del suelo en la capa superficial, mejora la agregación y preserva los recursos del suelo mejor que la labranza convencional (Six *et al.*, 1998; Sainju *et al.*, 2006; Melero *et al.*, 2009; López-Bellido *et al.*, 2010; Karaca *et al.*, 2011; Melero *et al.*, 2011) .
- La rotación de cultivos que tiene un efecto positivo sobre el carbono orgánico del suelo, especialmente si se incluye rotaciones con especies de leguminosas (López-Bellido *et al.*, 2010; Melero *et al.*, 2011). Así mismo, se sugiere revisar las tasas de fertilización del suelo pues se ha demostrado que inciden significativamente en la calidad del mismo (López-Bellido *et al.*, 2010; Melero *et al.*, 2011).
- Procesos en el marco de la agricultura ecológica, como el control natural de plagas y la utilización de compost y / o estiércol que podrían sustituir el uso de fertilizantes sintéticos (Shibahara y Inubushi, 1997; Mäder *et al.*, 2002; Lopes *et al.*, 2011).
- Los sistemas silvopastoriles que han mostrado ser alternativas viables para mejorar la calidad del suelo y la función metabólica, lo que se refleja en el aumento significativo de la biomasa microbiana y de las actividades enzimáticas (Vallejo *et al.*, 2012).

Los ecosistemas agrícolas son una de las principales fuentes de ingresos para las comunidades, y generan actividades comerciales a nivel local y regional. Esto se entreteje con variables socio-económicas tales como las oportunidades de empleo para los habitantes de la región. Todos los anteriores factores entrelazados y los conflictos entre los seres humanos y la naturaleza contribuyen a la reducción o desequilibrio de la función de regulación del agua en los ecosistemas de páramos andinos de Colombia (Otero *et al.*, 2011), por lo cual, se ha propuesto la implementación de planes de manejo comunitarios en los que las comunidades que habitan los páramos junto con las autoridades ambientales decidan sobre el diagnóstico, monitoreo y conservación de las áreas protegidas y la aplicación de prácticas enmarcadas en la agricultura ecológica y en el restacte de la memoria biocultural. Finalmente, se hace necesario realizar cambios en la actual estructura agraria que permita una distribución equitativa de la tierra y evite el desplazamiento de las comunidades campesinas hacia áreas protegidas, vistas estas como zonas baldías o no ocupadas (Capítulo 1 y 2).

7.5 Conclusiones

1. La estrategia de evaluación de diversidad de grupos funcionales fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos fue la que detectó los mayores impactos producto de los diferentes factores evaluados (uso del suelo, época y finca) y especialmente aquellos debidos al impacto del cultivo de papa y la ganadería.
2. Cuatro de las seis matrices evaluadas (físicoquímicos, actividades enzimáticas, NMP y GF Cultivables) detectaron diferencias significativas por el uso del suelo. Esto puede ser un reflejo de que los primeros impactos que genera el cultivo de papa y la ganadería en la vereda El Bosque son sobre la diversidad funcional, por encima de los impactos que se generarían sobre la secuencia del gen 16S rRNA región V5-V6.
3. Este efecto atenuado sobre la diversidad microbiana identificada al usar la región V5-V6 gen 16S rRNA puede ser debido a los periodos de barbecho entre cada cultivo de papa, los cuales son superiores a 7 años y a la baja proporción de ganado, con respecto a la extensión total de tierra en la vereda. No obstante, estos resultados pueden ser entendidos como un indicador temprano de impactos del cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad microbiana, lo cual hace que lo reportado en los artículos 1 y 2 acerca de la implementación de planes de manejo comunitario, aplicación de modelos agroecológicos y cambios en estructura agraria sean relevantes para atenuar los cambios que se puedan presentar a futuro.
4. Los mejores indicadores fueron los conteos globales de grupos funcionales de microorganismos y a nivel de grupos el que presentó mayor redundancia fue el de los celulolíticos. Estos aspectos, ligados a que el CO, la CIC y la β -glucosidasa son los indicadores que están influyendo de manera más fuerte sobre las comunidades microbianas, indican que el funcionamiento del ciclo del carbono es el que está generando mayores transformaciones producto del cultivo de papa y la ganadería, de lo cual pueden surgir las principales recomendaciones de manejo. En segundo lugar se encuentran aquellos cambios asociados al ciclo del nitrógeno, reflejados en aspectos como NH₄, ureasa y proteasa.
5. Los cambios debidos a la época de muestreo y la altura aportan información relevante respecto al comportamiento de la comunidad microbiana, siendo estos de igual o superior magnitud que los debidos al uso del suelo, por lo cual se sugiere profundizar en estudios que evalúen el impacto de la altura y el momento de muestreo sobre las comunidades microbianas evaluadas, lo que cobra especial relevancia dados los fenómenos de variabilidad y cambio climático.

7.6 Bibliografía

- Abril, A., 2003. ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología austral* 13, 195-204.
- Anderson, M.J., 2001. A new method for non-parametric multivariate analysis of variance. *Aust Ecol* 26, 32-46.
- Anderson, M.J., Gorley, R.N., Clarke, K.R., 2008. PERMANOVA for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E Ltd, Plymouth, UK.

- Angelini, J., Silvina, G., Taurian, T., Ibáñez, F., Tonelli, M., Valetti, L., Anzuay, M., Ludueña, L., Muñoz, V., Fabra, A., 2013. The effects of pesticides on bacterial nitrogen fixers in peanut-growing area. *Arch Microbiol* 195, 683-692.
- Avellaneda-Torres, L.M., Melgarejo Muñoz, L.M., Narváez Cuenca, C.E., Sánchez Nieves, J., 2012. Actividades Enzimáticas en Consorcios Bacterianos de Suelos Bajo Cultivo de Papa con Manejo Convencional y Bajo Pastizal. *Revista Facultad Nacional de Agronomía, Medellín* 65, 6349-6360.
- BID, CORPOCALDAS, CAR-RISARALDA, CAR-QUÍNDIO, CAR-TOLIMA, UAESPNN, 2002. Plan de Manejo Parque Nacional Los Nevados y su zona amortiguadora. In: Quindío, A. (Ed.).
- Bünemann, E., Bossio, D., Smithson, P., Frossard, E., Oberson, A., 2004. Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization. *Soil Biology and Biochemistry* 36, 889-901.
- Cañón-Cortázar, R.G., Avellaneda-Torres, L.M., Torres-Rojas, E., 2012. Microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno en suelos bajo tres sistemas de uso: cultivo de papa, ganadería y páramo, en el Parque Los Nevados, Colombia. *Acta Agronómica* 61, 371-379.
- Clarke, K.R., 1993. Non-parametric multivariate analyses of changes in community structure. *Aust J Ecol* 18, 117-143.
- Clarke, K.R., Warwick, R.M., 2001. Change in marine communities: An approach to statistical Analysis and Interpretation 2nd Edition. Plymouth Marine Laboratory, UK, Plymouth.
- Cruz, A.F., Hamel, C., Hanson, K., Selles, F., Zentner, R.P., 2009. Thirty-seven years of soil nitrogen and phosphorus fertility management shapes the structure and function of the soil microbial community in a Brown Chernozem. *Plant Soil* 315, 173-184.
- Das, A.C., Debnath, A., 2006. Effect of systemic herbicides on N₂-fixing and phosphate solubilizing microorganisms in relation to availability of nitrogen and phosphorus in paddy soils of West Bengal. *Chemosphere* 65, 1082-1086.
- Dennis, P.G., Miller, A.J., Hirsch, P.R., 2010. Are root exudates more important than other sources of rhizodeposits in structuring rhizosphere bacterial communities? *FEMS microbiology ecology* 72, 313-327.
- Dequiedt, S., Thioulouse, J., Jolivet, C., Saby, N., Lelievre, M., Maron, P.A., Martin, M.P., Prévost-Bouré, N.C., Toutain, B., Arrouays, D., 2009. Biogeographical patterns of soil bacterial communities. *Environmental microbiology reports* 1, 251-255.
- Fierer, N., Strickland, M.S., Liptzin, D., Bradford, M.A., Cleveland, C.C., 2009. Global patterns in belowground communities. *Ecology Letters* 12, 1238-1249.
- Garbeva, P., van, Van Veen, J., Van Elsas, J., 2004. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. *Annu. Rev. Phytopathol.* 42, 243-270.
- Hamel, C., Hanson, K., Selles, F., Cruz, A.F., Lemke, R., McConkey, B., Zentner, R., 2006. Seasonal and long-term resource-related variations in soil microbial communities in wheat-based rotations of the Canadian prairie. *Soil Biology and Biochemistry* 38, 2104-2116.
- Henry, A., Mabit, L., Jaramillo, R.E., Cartagena, Y., Lynch, J.P., 2013. Land use effects on erosion and carbon storage of the Río Chimbo watershed, Ecuador. *Plant Soil* 367, 477-491.
- Kanokratana, P., Uengwetwanit, T., Rattanachomsri, U., Bunternngsook, B., Nimchua, T., Tangphatsornruang, S., Plengvidhya, V., Champreda, V., Eurwilaichitr, L., 2011.

- Insights into the phylogeny and metabolic potential of a primary tropical peat swamp forest microbial community by metagenomic analysis. *Microb Ecol* 61, 518-528.
- Karaca, A., Cetin, S., Turgay, O., Kizilkaya, R., 2011. Soil Enzymes as Indication of Soil Quality. In: Shukla, G., Varma, A. (Eds.), *Soil Enzymology*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 119-148.
- Lin, Q., Zhao, H.M., Chen, Y.X., 2007. Effects of 2, 4-dichlorophenol, pentachlorophenol and vegetation on microbial characteristics in a heavy metal polluted soil. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 42, 551-557.
- Lombard, N., Prestat, E., Van Elsas, J.D., Simonet, P., 2011. Soil-specific limitations for access and analysis of soil microbial communities by metagenomics. *FEMS Microbiology Ecology* 78, 31-49.
- Lopes, A.R., Faria, C., Prieto-Fernández, Á., Trasar-Cepeda, C., Manaia, C.M., Nunes, O.C., 2011. Comparative study of the microbial diversity of bulk paddy soil of two rice fields subjected to organic and conventional farming. *Soil Biology and Biochemistry* 43, 115-125.
- López-Bellido, R.J., Fontán, J.M., López-Bellido, F.J., López-Bellido, L., 2010. Carbon Sequestration by Tillage, Rotation, and Nitrogen Fertilization in a Mediterranean Vertisol All rights reserved. No part of this periodical may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopying, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher. *Agron. J.* 102, 310-318.
- Mäder, P., Fliessbach, A., Dubois, D., Gunst, L., Fried, P., Niggli, U., 2002. Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296, 1694-1697.
- Madriñán, S., Cortés, A.J., Richardson, J.E., 2013. Páramo is the world's fastest evolving and coolest biodiversity hotspot. *Frontiers in genetics* 4.
- Melero, S., López-Bellido, R.J., López-Bellido, L., Muñoz-Romero, V., Moreno, F., Murillo, J.M., 2011. Long-term effect of tillage, rotation and nitrogen fertiliser on soil quality in a Mediterranean Vertisol. *Soil and Tillage Research* 114, 97-107.
- Melero, S., López-Garrido, R., Murillo, J.M., Moreno, F., 2009. Conservation tillage: Short- and long-term effects on soil carbon fractions and enzymatic activities under Mediterranean conditions. *Soil and Tillage Research* 104, 292-298.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Da Fonseca, G.A., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853-858.
- Nilsson, M.C., Wardle, D.A., DeLuca, T.H., 2008. Belowground and aboveground consequences of interactions between live plant species mixtures and dead organic substrate mixtures. *Oikos* 117, 439-449.
- Otero, J.D., Figueroa, A., Muñoz, F.A., Peña, M.R., 2011. Loss of soil and nutrients by surface runoff in two agro-ecosystems within an Andean paramo area. *Ecological Engineering* 37, 2035-2043.
- Pal, R., Chakrabarti, K., Chakraborty, A., Chowdhury, A., 2006. Effect of pencycuron on microbial parameters of waterlogged soil. *Journal of Environmental Science and Health Part B* 41, 1319-1331.
- Pimentel, D., 1995. Amounts of pesticides reaching target pests: environmental impacts and ethics. *Journal of Agricultural and environmental Ethics* 8, 17-29.
- PNNN, 2010. Restauración ecológica en páramos del Parque Nacional Natural de Los Nevados. Editorial Andina.
- Post, W.M., Kwon, K.C., 2000. Soil carbon sequestration and land-use change: processes and potential. *Global Change Biology* 6, 317-327.

- Preem, J.-K., Truu, J., Truu, M., Mander, Ü., Oopkaup, K., Lõhmus, K., Helmisaari, H.-S., Uri, V., Zobel, M., 2012. Bacterial community structure and its relationship to soil physico-chemical characteristics in alder stands with different management histories. *Ecological Engineering* 49, 10-17.
- Rey, C., Franco, L., Castaño, C., 2002. Estado y Gestión de los Páramos en Colombia. In: Páramos, C.M.d. (Ed.), *Memorias Tomo II. Congreso mundial de Páramos*, Paipa, Colombia.
- Sainju, U.M., Singh, B.P., Whitehead, W.F., Wang, S., 2006. Carbon supply and storage in tilled and nontilled soils as influenced by cover crops and nitrogen fertilization. *Journal of environmental quality* 35, 1507-1517.
- Shi, Y., Lalonde, R., Hamel, C., Ziadi, N., Gagnon, B., Hu, Z., 2013. Seasonal variation of microbial biomass, activity, and community structure in soil under different tillage and phosphorus management practices. *Biol Fertil Soils* 49, 803-818.
- Shibahara, F., Inubushi, K., 1997. Effects of organic matter application on microbial biomass and available nutrients in various types of paddy soils. *Soil science and plant nutrition* 43, 191-203.
- Singh, B.K., Munro, S., Potts, J.M., Millard, P., 2007. Influence of grass species and soil type on rhizosphere microbial community structure in grassland soils. *Applied Soil Ecology* 36, 147-155.
- Singh, J., Singh, D.K., 2005. Dehydrogenase and phosphomonoesterase activities in groundnut (*Arachis hypogaea* L.) field after diazinon, imidacloprid and lindane treatments. *Chemosphere* 60, 32-42.
- Six, J., Elliott, E.T., Paustian, K., Doran, J.W., 1998. Aggregation and Soil Organic Matter Accumulation in Cultivated and Native Grassland Soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 62, 1367-1377.
- Stres, B., Danevčič, T., Pal, L., Fuka, M.M., Resman, L., Leskovec, S., Hacin, J., Stopar, D., Mahne, I., Mandic-Mulec, I., 2008. Influence of temperature and soil water content on bacterial, archaeal and denitrifying microbial communities in drained fen grassland soil microcosms. *FEMS microbiology ecology* 66, 110-122.
- Vallejo, V.E., Arbeli, Z., Terán, W., Lorenz, N., Dick, R.P., Roldan, F., 2012. Effect of land management and *Prosopis juliflora* (Sw.) DC trees on soil microbial community and enzymatic activities in intensive silvopastoral systems of Colombia. *Agriculture, Ecosystems & Environment* 150, 139-148.
- Yuan, B.-C., Yue, D.-X., 2012. Soil Microbial and Enzymatic Activities Across a Chronosequence of Chinese Pine Plantation Development on the Loess Plateau of China. *Pedosphere* 22, 1-12.
- Zak, D.R., Holmes, W.E., White, D.C., Peacock, A.D., Tilman, D., 2003. Plant diversity, soil microbial communities, and ecosystem function: are there any links? *Ecology* 84, 2042-2050.
- Zhong, W., Cai, Z., 2007. Long-term effects of inorganic fertilizers on microbial biomass and community functional diversity in a paddy soil derived from quaternary red clay. *Applied Soil Ecology* 36, 84-91.
- Zhou, X., Gao, D., Liu, J., Qiao, P., Zhou, X., Lu, H., Wu, X., Liu, D., Jin, X., Wu, F., 2014. Changes in rhizosphere soil microbial communities in a continuously monocropped cucumber (*Cucumis sativus* L.) system. *European Journal of Soil Biology* 60, 1-8.

8. Conclusiones generales y recomendaciones

8.1 Conclusiones generales

Se identificaron dos alternativas ante el conflicto entre autoridades ambientales de las áreas protegidas y los habitantes de páramos en Colombia: la primera plantea la concesión de servicios ecoturísticos en los parques naturales y la compra de tierras por parte de sociedades de economía mixta. La segunda plantea el abandono de las actividades productivas de los agricultores, mediado por procesos educativos o de cumplimiento de las normas ambientales vigentes so pena de enfrentar acciones punitivas por parte del Estado. La presente investigación propone una tercera alternativa, que incluye diferentes estrategias para desarrollar en el corto, mediano y largo plazo como son: planes de manejo comunitario con tiempo y financiación institucional pertinente, aplicación de modelos agroecológicos, rescate de la memoria biocultural y cambios en la estructura agraria.

La comunidad campesina que habita la vereda El Bosque del Parque Nacional Natural de Los Nevados desarrolla actividades del cultivo de papa y ganadería como estrategia de supervivencia y herencia cultural paramuna. Estas actividades se llevan a cabo como una combinación de prácticas aprendidas desde la *Revolución Verde* y los saberes propios. Se encontró una alta homogeneidad en el tipo de prácticas agropecuarias desarrolladas en los diferentes agroecosistemas de la vereda, por lo cual la vereda El Bosque como conjunto podría ser entendida como un agroecosistema de nivel superior en el cual se llevan a cabo actividades de cultivo de papa en ciclos bianuales y con periodos de barbecho posteriores a los 7 años. El presente estudio se centró en los agroecosistemas de nivel inferior: cultivo de papa, ganadería y páramo con la menor intervención antrópica posible, con la selección de tres agroecosistemas representativos de nivel superior: Buenos Aires, El Edén y La Secreta.

Los suelos analizados en la vereda El Bosque pertenecen al orden Andisol; en el agroecosistema Buenos Aires: Tipyc Haplocryands y en El Edén y La Secreta: Thaptic Hapludands.

El conjunto de parámetros físicos evaluados no presentaron diferencias estadísticamente significativas producto de los factores estudiados (uso, condición climática y finca), sin embargo, se presentaron diferencias debidas al cultivo de papa y la ganadería que aunque no son significativas pueden ser un indicador temprano de cambios futuros en las propiedades físicas del suelo de continuar con las mismas prácticas agrícolas. Cinco de

los 16 parámetros químicos evaluados (CO, Ca, K, CIC y NH₄) presentaron diferencias estadísticamente significativas producto del cultivo de papa y ganadería en el páramo, siendo el principal indicador la disminución del CO.

Cinco de las siete actividades enzimáticas evaluadas (β -glucosidasa, fosfodiesterasa, ureasa, fosfatasa ácida y proteasa) presentaron diferencias estadísticamente significativas producto del cultivo de papa y la ganadería. La fosfodiesterasa, la fosfatasa alcalina y la β -glucosidasa presentaron disminuciones en su actividad producto del cultivo de papa y la ganadería, mientras que la proteasa y la fosfatasa ácida presentaron aumentos en su actividad por la misma razón.

Al realizar el análisis global de las propiedades fisicoquímicas y actividades enzimáticas del suelo se determinó que los mayores indicadores de cambios producto del cultivo de papa y la ganadería fueron: CO, CIC, Mg, Ca, NT, fosfodiesterasa y β -glucosidasa, presentándose disminuciones en los suelos bajo cultivo de papa y ganadería en comparación con los suelos bajo páramo.

Siete de las 19 propiedades fisicoquímicas (CO, N, CIC, CT, HT, C/N y NO₃) y dos de las 7 actividades enzimáticas (fosfodiesterasa y proteasa) mostraron diferencias estadísticamente asociadas a la condición climática del momento de muestreo. En general, durante la sequía se detectaron mayores contenidos de CO, CIC y actividades enzimáticas. No se reportó una única tendencia producto de la altura de las fincas de muestreo.

Se presentaron cambios en la diversidad de grupos funcionales de microorganismos asociados al cultivo de papa y la ganadería sobre los suelos de páramo, y estos cambios fueron dependientes de la altura y la condición climática en la que fueron evaluados. Para los tres agroecosistemas estudiados estos cambios son estadísticamente significativos en la época de invierno y en uno de los tres agroecosistemas (La Secreta) en la época de sequía. Los cambios en las comunidades microbianas mostraron diferencias significativas en la mayoría de los casos entre cultivo de papa y páramo y en algunos casos entre ganadería y páramo. Sin embargo las diferencias entre cultivo de papa y ganadería son de menor dimensión. Esto refleja el impacto de las prácticas agrícolas asociadas al cultivo de papa sobre los microorganismos, indicando en la ganadería un estado de transición entre el cultivo y el páramo. Así mismo, se encontró que las condiciones climáticas presentaron mayor impacto sobre los grupos funcionales de microorganismos con respecto a los que se generaron por efecto del uso del suelo, situación que resalta la importancia de posteriores estudios asociados al impacto de la variabilidad y cambio climático sobre la diversidad microbiana de los suelos.

No se presentaron diferencias estadísticamente significativas en la riqueza microbiana de grupos funcionales cultivables por cuenta de los diferentes factores evaluados, pero se registraron leves aumentos en la riqueza microbiana producto de las actividades agropecuarias.

Los mejores indicadores de cambio de los microorganismos evaluados bajo la estrategia cultivo-dependiente fueron los hongos totales, las microorganismos fijadores de nitrógeno, la bacteria solubilizadora *Pseudomonas fluorescens*, las bacterias fijadoras *Chitinophaga arvensicola* y *Rhodococcus* sp las cuales, en general, aumentaron su

presencia en los suelos bajo cultivo de papa y la ganadería (con excepción de *Chitinophaga arvensicola* que también aumentó en páramo).

Los análisis de diversidad de las regiones V5-V6 del gen 16S rRNA del presente estudio indican que no existen diferencias estadísticas producto de las prácticas asociadas al cultivo de papa y la ganadería con respecto a los suelos bajo páramo de la vereda El Bosque del PNN Los Nevados ni en la riqueza y estructura de las comunidades microbianas de los respectivos suelos. Sin embargo, se encuentran diferencias estadísticamente significativas producto de la época de muestreo y la altitud de las fincas en la matriz global de diversidad y en la altitud de la finca en la matriz de OTUs representativos. Los análisis canónicos discriminantes indican diferencias no significativas en la composición de los OTUs representativos de la comunidad microbiana del suelo producto del cultivo de papa y la ganadería, lo cual puede ser un indicador temprano de modificaciones en la estructura de la comunidad microbiana.

La estrategia de evaluación de diversidad de GF Cultivables fijadores de nitrógeno, solubilizadores de fosfato y celulolíticos fue la que detectó los mayores impactos producto de los diferentes factores evaluados (uso del suelo, época y altitud) y especialmente aquellos debidos al impacto del cultivo de papa y la ganadería.

Los mejores indicadores fueron los conteos globales de grupos funcionales de microorganismos y a nivel de grupos el que presentó mayor redundancia fue el de los celulolíticos, estos aspectos ligados a que el CO₂, la CIC y la β -glucosidasa son los indicadores que están influyendo de manera más fuerte sobre las comunidades microbianas, indican que el funcionamiento del ciclo del carbono es el que está generando mayores transformaciones producto del cultivo de papa y la ganadería, de lo cual pueden surgir las principales recomendaciones de manejo. En segundo lugar se encuentran aquellos cambios asociados al ciclo del nitrógeno, reflejados en aspectos como NH₄, ureasa y proteasa.

Cuatro de las seis matrices evaluadas (físicoquímicos, actividades enzimáticas, Número Más Probable y GF Cultivables) detectaron diferencias significativas por el uso del suelo. Esto puede ser un reflejo de que los primeros impactos que genera el cultivo de papa y la ganadería en la vereda El Bosque son sobre la diversidad funcional, superiores a los impactos que se generarían sobre el material genético almacenado en el suelo (referido al gen 16S región V5-V6). Este efecto atenuado sobre la región V5-V6 del 16S rRNA del suelo puede ser debido a los periodos de barbecho entre cada cultivo de papa, los cuales son superiores a 7 años y la baja proporción de ganado, con respecto a la extensión total de tierra en la vereda. No obstante, estos resultados pueden ser entendidos como un indicador temprano de impactos del cultivo de papa y la ganadería sobre la diversidad microbiana, lo cual hace que lo planteado acerca de la implementación de planes de manejo comunitario, aplicación de modelos agroecológicos y cambios en estructura agraria sean relevantes para atenuar los cambios que se puedan presentar a futuro.

8.2 Recomendaciones

Iniciar la implementación de planes comunitarios de manejo comunitario con financiación pertinente, para construir procesos participativos que permitan decidir de manera

consensuada acerca de alguna(s) de las siguiente(s): pago de servicios de conservación, conversión a sistemas agroecológicos, desarrollo de turismo ecológico comunitario, compra de tierras a precio justo, reubicación de las familias, declaración de zonas socio-económicas, entre otros.

Evaluar los cambios asociados al cultivo de papa y la ganadería en los suelos de páramo de la zona haciendo uso de otras metodologías, como son: biomasa microbiana de diferentes ciclos biogeoquímicos, perfiles de ácidos grasos métil esterres, transcriptómica y proteómica.

Evaluar los cambios asociados al cultivo de papa y la ganadería en los suelos de páramo de la zona mediante técnicas independientes de cultivo haciendo uso de otras regiones hipervariables del 16S rRNA y 18S rRNA.

Realizar la evaluación de los cambios en las comunidades microbianas asociados al cultivo de papa y ganadería en páramos de otras regiones de Colombia, Venezuela, Ecuador y Costa Rica.

Se sugiere profundizar en estudios que evalúen el impacto de la condición climática y la altura sobre las comunidades microbianas de los suelos de páramo.

A. Anexo A: Artículo publicado Revista Acta Agronómica

Microorganismos asociados al ciclo del nitrógeno en suelos bajo tres sistemas de uso: cultivo de papa, ganadería y páramo, en el Parque Los Nevados, Colombia

Associated microorganisms to the nitrogen cycle in soils under three systems of use: potato crop, livestock and páramo, in Los Nevados National Natural Park, Colombia

Roger Guillermo Cañón-Cortázar^{1,4†}, Lizeth Manuela Avellaneda-Torres^{2,4‡}, y Esperanza Torres-Rojas^{3,4*}

¹Ingeniero Agrónomo. ²Química, M.Sc. ³Bióloga, Ph.D., Profesora Asociada, Dedicación Exclusiva. ⁴Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia y Centro Colombiano de Genómica y Bioinformática en Ambientes Extremos-GEBIX, Bogotá, Colombia. *Autor para correspondencia: etorresr@unal.edu.co; †rgcaconc@unal.edu.co; ‡lmavellaneda@unal.edu.co

Rec.: 14.08.12 Accept.: 06.11.12

Resumen

En la vereda El Bosque del Parque Nacional Natural de Los Nevados (PNNN), Colombia, se estimó la densidad poblacional de microorganismos asociados con el metabolismo de nitrógeno (N) en suelos bajo tres sistemas de uso: cultivo de papa, ganadería y zonas poco intervenidas (páramo). Indirectamente se cuantificaron microorganismos amonificantes (AMO), proteolíticos (PRO), oxidantes del amonio (BOA), oxidantes del nitrito (BON) y denitrificantes (DEN) en suelos de tres fincas ubicadas a diferente altitud y en épocas seca y lluviosa. Se realizó la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis por pares, con un nivel de significancia $P \leq 0.05$, para detectar diferencias estadísticamente significativas entre las diferentes abundancias de grupos funcionales de microorganismos. Luego, se realizó análisis de componentes principales (ACP) para evaluar las relaciones entre las diferentes variables estudiadas. Los resultados mostraron diferencias para los grupos evaluados, siendo menor la densidad de microorganismos en suelos de páramo. Los PRO fueron más abundantes en todos los tipos de suelos, seguido de los DEN con mayor densidad en el ecosistema páramo. La densidad poblacional microbiana no fue afectada por la altitud, sin embargo se presentaron algunas diferencias que no mostraron un patrón único de comportamiento. Se observaron diferencias como resultado de la época climática, siendo mayor en la época seca para los grupos PRO, AMO, BOA y BON, y en época de lluvias para los DEN. Este estudio contribuye al conocimiento de las relaciones que existen entre el uso del suelo y la presencia de los microorganismos asociados con el ciclo de nitrógeno.

Palabras clave: Amonificantes, denitrificantes, oxidantes del amonio, oxidantes del nitrito, proteolíticos.

Abstract

This study estimated the population density of microorganisms associated with the metabolism of nitrogen (N) in soils with three uses: potato crop, livestock and low intervention zones (high plains or páramo) in the El Bosque district of Los Nevados National Natural Park in Colombia. The following microorganisms were indirectly quantified: amonifiers (AMO), proteolytic (PRO), ammonium oxidizing (BOA), nitrite oxidizing (BON) and denitrifiers (DEN) in soils of three farms located at different altitudes and under two climatic seasons. The non-parametric Kruskal-Wallis test paired with a significance level of $P \leq 0.05$ was used to detect statistically significant differences among abundances of functional

groups of microorganisms. Then a principal component analysis (PCA) was performed to evaluate the relationships among different variables. The results showed differences among all the groups, with páramo soils having the lowest density of microorganisms in the soil. The PRO microorganisms were the most abundant in all soils, followed by DEN, with a higher density in the páramo ecosystem. The microbial population density was not significantly affected by altitude but showed some differences that did not have a unique behavior pattern. Additionally, differences were seen in the seasons, being higher in the dry season for the PRO, AMO, BOA and BON groups; and in the rainy season for DEN. This study provided knowledge of the relationships between land use and the presence of microorganisms associated with the nitrogen cycle.

Key words: Ammonium oxidizing, amonifiers, denitrifiers, nitrite oxidizing, proteolytic.

Introducción

La comunidad microbiana asociada con el ciclo del nitrógeno (N) representa una ventaja evolutiva al fijar N_2 atmosférico y convertirlo en formas asimilables para otros organismos. El N está presente en varias formas, las cuales son transformadas a lo largo del ciclo por la acción de microorganismos amonificantes (AMO), proteolíticos (PRO), oxidantes de amonio (BOA), oxidantes de nitrito (BON) y denitrificantes (DEN), entre otros (Loomis y Connor, 2002).

El conocimiento sobre la diversidad y capacidad metabólica de los microorganismos del suelo asociados con el ciclo del N es escaso. No obstante, hay diferentes métodos para analizar las comunidades microbianas dependientes y no-dependientes de los cultivos (Nannipieri et al., 2003). Entre los primeros se encuentra la técnica del número más probable (NMP) que estima de manera indirecta la densidad de una población sin hacer conteo real de microorganismos o colonias. A pesar de que la información generada se restringe sólo a las comunidades que pueden ser cultivadas y es sensible a la densidad de inóculo (Kirk et al., 2004), es una técnica rápida y económica que genera información útil para estimar la abundancia de la comunidad microbiana en el suelo.

El tipo de uso del suelo se considera un factor que controla directa o indirectamente la estructura de comunidades de microorganismos en el suelo (Han et al., 2011). La biomasa microbiana es uno de los indicadores que mejor refleja las respuestas al cambio ambiental, incluso mejor que parámetros físicos y químicos (Kaschuk et al., 2011), y por tanto, es fundamental para la evaluación

de la calidad del suelo (Acosta-Martinez et al., 2008).

El páramo se encuentra entre 3200 y 4500 m.s.n.m. y constituye un ecosistema frágil de gran importancia para el almacenamiento y la regulación hídrica (Hofstede et al., 2003). En Colombia este ecosistema abarca cerca de 30,000 km², siendo el país con mayor área de páramos (Ramírez, 2011) y en el Parque Nacional Natural de los Nevados (PNNN) es el ecosistema más representativo con un área estimada de 38,600 ha (66.21%) (PNN de Colombia, 2011).

En los páramos colombianos se cultiva papa y se desarrollan actividades ganaderas, sin embargo, no se conoce el efecto de estas prácticas sobre las propiedades del suelo y las comunidades microbianas. Por tanto, el objetivo de este estudio fue estimar la densidad poblacional de microorganismos asociados con el metabolismo de N en suelos de la vereda El Bosque del PNNN, utilizados para cultivo de papa y ganadería, comparados con suelos de páramo con vegetación nativa. Se espera establecer posibles relaciones entre el uso del suelo y la presencia de microorganismos pertenecientes a los diferentes grupos funcionales asociados con el metabolismo de N.

Materiales y métodos

Sitio y recolección de muestras

Las muestras de suelos rizosféricos para el estudio fueron tomadas en las fincas Buenos Aires (3769 m.s.n.m.), El Edén (3590 m.s.n.m.) y La Secreta (3432 m.s.n.m.) en la vereda El Bosque, municipio de Pereira, Risaralda. En cada sitio se evaluaron los usos del suelo: bosque de páramo, cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) y ganadería en épocas

MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL CICLO DEL NITRÓGENO EN SUELOS BAJO TRES SISTEMAS DE USO: CULTIVO DE PAPA, GANADERÍA Y PÁRAMO, EN EL PARQUE LOS NEVADOS, COLOMBIA

seca y húmeda. La ganadería es doble propósito (producción de leche y carne), con énfasis en producción de leche dadas las condiciones de la zona. Los pastos que se siembran en la zona son Orchoro (*Dactylis glomerata*), Raygras (*Lolium* sp.) y Plegadera (*Lachemilla* sp.). El páramo presenta vegetación predominante de *Cortaderia selloana*, *Pernettya prostrata*, *Buddleja* sp., *Lupinus albus*, *Dendropanax* sp., *Chusquea* sp. En cada uno de los tipos de uso de suelo se realizaron tres muestreos, compuestos por 10 submuestras, para un total de tres usos del suelo x tres fincas x dos épocas x tres muestreos, para un total de 54 muestras. En cada muestra se determinó la abundancia de cinco grupos funcionales de microorganismos, asociados con el metabolismo de N: PRO, AMO, BOA, BON y DEN.

Abundancia de microorganismos y medios de cultivo

La abundancia de los microorganismos para los diferentes grupos funcionales se estimó mediante el método NMP (Cochran, 1950). Se utilizaron diversos medios de cultivo y fuentes de carbono y N según el grupo funcional considerado. Para PRO y BOA el medio de cultivo se preparó utilizando como base la solución salina de Winogradsky (Pochon, 1954) a razón de 50 ml/lit suplementado con una solución de oligoelementos (1 ml/lit) (Balch et al., 1977). Para los PRO se utilizó gelatina (30 g/lit) como única fuente de carbono y N, y un tiempo de incubación de 15 días. Para los BOA se utilizó carbonato de calcio (1 g/lit) y sulfato de amonio (0.5 g/lit), como fuentes de carbono y N, respectivamente, y un tiempo de incubación de 30 días (Flórez-Zapata y Uribe-Vélez, 2011). Para AMO se utilizó como medio de cultivo y única fuente de carbono y nitrógeno peptona bacteriológica (2 g/lit) y un tiempo de incubación de 24 h (IGAC, 2006). Para aislar los BON se empleó como medio de cultivo nitrito de potasio (0.006 g/lit), fosfato bipotásico (1 g/lit), sulfato de hierro heptahidratado (0.03 g/lit), cloruro de sodio (0.3 g/lit), sulfato de magnesio heptahidratado (0.1 g/lit), carbonato de calcio (1 g/lit) y cloruro de calcio (0.3 g/lit); el tiempo de incubación fue de 96 h (IGAC, 2006). Finalmente, para los DEN se utilizó como medio de cultivo una mezcla

de dos soluciones, A y B, con la composición siguiente, solución A: nitrato de potasio (2 g/lit), asparagina (2 g/lit), azul de bromotimol al 1% (10 g/lit); solución B: citrato de sodio (17 g/lit), fosfato mono potásico (2 g/lit), sulfato de magnesio (2 g/lit), cloruro de calcio hexahidratado (0.4 g/lit), cloruro férrico hexahidratado (0.1 g/lit). El tiempo de incubación fue de 72 h (IGAC, 2006) a 28°C.

Recuento de microorganismos

La presencia o ausencia de los organismos se determinó utilizando como características la licuefacción de la gelatina (PRO) y la producción de nitrito, medida con el reactivo de Griess Ilosvay (BOA) (Flórez-Zapata y Uribe-Vélez, 2011). El consumo de nitrito se determinó con el reactivo de Griess Ilosvay (BON), la producción de amonio por el reactivo de Nessler (AMO) y la producción de gas con la utilización de campanas de Durham y cambio de coloración azul (DEN) (IGAC, 2006). Los conteos fueron expresados en unidades formadoras de colonia/g de suelo seco (UFC/g).

Análisis estadístico

El análisis de datos sobre las diferentes abundancias de grupos funcionales de microorganismos se realizó mediante Anova, no obstante, debido a que los datos no soportaron el supuesto de normalidad, se realizó la prueba no-paramétrica de Kruskal-Wallis (KW) por pares con un nivel de significancia $P \leq 0.05$, para detectar diferencias estadísticamente significativas (Kruskal y Wallis, 1952). Lo anterior se realizó con el software estadístico SAS 9.0 (2009) y STATA 11.1 (2005). Luego, se hizo análisis de componentes principales (ACP) para evaluar las relaciones entre las diferentes variables estudiadas.

Resultados y discusión

Se encontraron diferencias ($P = 0.0017$) en la abundancia de los diferentes grupos funcionales (Cuadro 1). En general, la abundancia microbiana fue menor en suelo de páramo comparado con suelo en cultivo de papa y pastura, los cuales no presentaron diferencias entre sí ($P = 0.289$). De acuerdo con Roldán et al. (2009) esto posiblemente se debe a que

ACTA AGRONÓMICA. 61 (4) 2012, p 371-379

Cuadro 1. Densidad (UFC/g) de grupos funcionales de microorganismos asociados con el metabolismo edáfico del N. Los valores son promedios de las repeticiones para: uso del suelo (18), altitud (finca) (18) y época del año (27).

Factores		Densidad de microorganismos (UFC/g)				
		PRO	AMO	BOA	BON	DEN
Uso del suelo	Páramo	38,089 a*	73 a	20 a	117 a	428 a
	Cultivo de papa	213,052 b	213 b	1917 b	1297 b	1062 b
	Ganadería	194,416 b	142 b	2001 b	741 b	2447 b
Altitud	3769 (Buenos Aires)	175,927 a	130 a	329 a	867 a	722 a
	3590 (El Edén)	142,235 a	107 a	923 ab	397 a	2032 b
(m. s. n. m.)	3432 (La Secreta)	127,394 a	191 a	2686 b	891 a	1184 ab
Época	Lluviosa	77,392 a	76 a	1228 a	372 a	2020 a
	Seca	219,646 b	210 b	1398 a	1064 a	605 b

PRO: Proteolíticos, AMO: amonificantes, BOA: bacterias oxidantes de amonio, BON: Bacterias oxidantes de nitrato y DEN: denitrificantes. Valores en una misma columna y factor seguidos de letras iguales, no difieren en forma significativa ($P \leq 0.05$).

en suelos de páramo las densidades para la mayoría de grupos funcionales relacionados con el ciclo del N son más bajas, ya que este uso posee una alta diversidad vegetal, ofreciendo sustratos que favorecen la riqueza de microorganismos, mas no la densidad, a diferencia de los usos con manejos intensivos. Sin embargo, la estrategia de conteos mediante el cultivo de microorganismos puede ser un factor limitante para la posible recuperación y conteo de aquellos que no son cultivables, los cuáles podrían estar cumpliendo una función determinada dentro del ciclo de N en el suelo, aunque no sean detectados.

Los suelos de páramo presentaron menor densidad de PRO comparados con los suelos usados para cultivo de papa y ganadería (Cuadro 1) debido, posiblemente, al aumento de nutrientes fácilmente disponibles en estos últimos a causa de la aplicación de fertilizantes de síntesis química (N, P, K), como también a las labores mecánicas que se realizan en estos suelos que aumentan los procesos de mineralización de los mismos y, por tanto, la disposición de nutrientes para el crecimiento de microorganismos. No obstante, los suelos en ganadería presentan menor densidad de microorganismos con respecto al cultivo de papa, ya que estos hacen parte de un sistema de rotación en el cual se cultiva papa por dos años y posteriormente son utilizados a ganadería (Ramírez, 2011).

La densidad de PRO no varió ($P > 0.05$) por efecto de la altitud, pero sí por efecto de la época ($P = 0.0003$), siendo mayor la abun-

dancia en época seca (Cuadro 1). Lo anterior posiblemente se debe a que en la época de lluvias el agua afecta la temperatura del suelo, la humedad y el pH, factores que influyen en la actividad microbiana (Roldán et al., 2009).

La densidad de AMO varió por efecto del uso del suelo ($P = 0.001$) con una menor densidad en el ecosistema páramo (Cuadro 1). Calvo-Vélez et al. (2008) señalan que en suelos tropicales la tasa de amonificación es afectada por el pH del suelo; así, un pH entre 5.5 y 6.0 es ideal para una actividad máxima de los microorganismos, pero en condiciones de mayor acidez disminuye. En el presente estudio no se encontraron diferencias en pH debidas al uso de los suelos, por lo que en este factor no sería una condición limitante para la amonificación en el ecosistema páramo. Uno de los factores que puede condicionar la baja densidad de AMO en páramo es la menor cantidad de sustrato proveniente de PRO.

Las diferencias en las densidades de AMO en las altitudes del ensayo no fueron significativas ($P > 0.05$). Por otro lado, en la época seca se encontró una mayor densidad que en época de lluvias. Este comportamiento de los microorganismos AMO y PRO es concordante, ya que en suelos donde se presentaron menores PRO también hubo menores AMO, lo cual es coherente ya que los productos de los PRO son potenciales sustratos de los AMO. No obstante, estos últimos pueden ser tanto aerobios como anaerobios y en algunos casos son capaces de formar estructuras reproductivas de resistencia viables para periodos ad-

MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL CICLO DEL NITRÓGENO EN SUELOS BAJO TRES SISTEMAS DE USO: CULTIVO DE PAPA, GANADERÍA Y PÁRAMO, EN EL PARQUE LOS NEVADOS, COLOMBIA

versos, ya sea por falta de humedad, carencia de nutrientes o anegamiento (Ponzuelo, 1991).

Las concentraciones de BOA fueron diferentes ($P < 0.0001$) con respecto al uso del suelo, siendo los suelos en ganadería los que presentaron las mayores densidades (Cuadro 1), pero no ocurrió lo mismo con el cultivo de papa ($P = 0.526$); al igual que con los grupos anteriores, la densidad de BOA fue menor en el ecosistema páramo. Flórez-Zapata (2010) encontraron 1.5×10^2 propágulos/g de BOA en un suelo cultivado con papa, y Philippot y Germon (2005) consideran que densidades entre 10^5 y 10^7 UFC bacteriales/g son comunes en suelos de uso agrícola.

Las densidades de BOA en suelos con ganadería pueden estar relacionadas con el aumento de residuos orgánicos por estiércol de ganado y orina de los animales, los cuales son un sustrato ureico promotor de crecimiento de microorganismos (Orozco-Patiño, 1999). El aumento de microorganismos en suelos con cultivo con respecto al páramo puede estar relacionado con el uso de fertilizantes, lo cual aumenta la disponibilidad de N, que puede ser empleado como fuente de energía por microorganismos quimiolitotrofos (BOA y BON) (Roldán et al., 2009). Además, la biomasa total de microorganismos involucrados en el ciclo de N incrementa con la intensidad del uso del suelo en pasturas (Berner et al., 2011). No obstante, una cantidad de NH_4^+ mayor que 800 mg/kg inhibe el desarrollo de la microflora nitrificante autótrofa (Ponzuelo, 1991), lo que hace posible utilizar el grupo funcional (BOA) como indicador de los cambios por uso del suelo (Roldán et al., 2009).

Los BOA presentaron un aumento en la densidad poblacional a medida que disminuyó la altitud, esto puede estar relacionado con el aumento de temperatura que se presenta a medida que la altura disminuye, aproximadamente 0.57°C por cada 100 m (Guevara-Díaz, 2003).

Los BON presentaron una baja densidad poblacional en el ecosistema páramo (Cuadro 1), lo cual puede estar relacionado con la baja cantidad de sustrato proveniente de la oxidación de NH_4^+ en este ecosistema llevada por BOA.

Ponzuelo (1991) considera que el NO_2^- es una forma fácilmente inmovilizable debido a su capacidad de reaccionar con la materia orgánica del suelo (MOS), en especial con compuestos fenólicos. Estas reacciones ocurren en todo tipo de suelos y son favorecidas por la acidez y los altos contenidos de MOS, como los encontrados en suelos de páramo cuyo rango varió entre 9.05 y 18.81% (datos no presentados).

Los BON no mostraron diferencias entre las altitudes de las fincas en el estudio ni por efecto de la época, aunque se observó mayor densidad en la época seca (Cuadro 1). Los DEN revelaron menor densidad en páramo y mayor en ganadería ($P = 0.006$).

La denitrificación es un proceso heterotrófico que ocurre en condiciones de anoxia o hipoxia (Francis et al., 2007) y está relacionado con ambientes de humedad y densidades aparentes altas, como es el caso del uso de suelo para ganadería, generado por procesos de compactación en los primeros 20 cm, que puede favorecer altas densidades de DEN (Ramírez, 2011). Esto también conlleva una disminución de la biomasa microbiana del suelo (Li et al., 2004) y un aumento de la actividad de microorganismos DEN, que representa cerca de 5% de la biomasa microbiana del suelo (Hai, 2009), es decir, que dichos microorganismos se encuentran en altas densidades en los suelos comparado con AMO, BOA y BON. Flórez-Zapata (2010) considera que los DEN responden a las aplicaciones de fertilizantes minerales, debido a que obtienen energía a partir de estos compuestos. En el presente estudio los DEN fueron afectados por la época del año ($P = 0.001$), siendo más alta su concentración en época de lluvias (Cuadro 1). No obstante, en páramo y ganadería de la finca El Edén se observó mayor actividad en la época seca, lo que fue debido, posiblemente, a la escasa variación de la humedad en el suelo entre épocas (datos no publicados).

En el análisis multivariado se observaron diferencias en concentración de microorganismos debidas al uso del suelo (Figura 1), en donde el suelo de páramo presenta un comportamiento diferente a los suelos en cultivo de papa y ganadería; estos últimos se correlacionan (0.8 y 0.73, respectivamen-

ACTA AGRONÓMICA. 61 (4) 2012, p 371-379

te) al eje 1, mientras que en el páramo la correlación al eje 1 fue negativa (-0.48). La tendencia similar entre los valores de sistema ganadería/cultivo de papa puede ser debida a la rotación entre ellos lo cual puede ocasionar fragmentación de complejos humus-alófanos que favorecen la descomposición de la MOS y el incremento de la densidad de microorganismos asociados a estos procesos (Orozco-Patiño, 1999).

Los AMO presentaron la menor densidad en suelos con uso de ganadería, esto puede deberse a que el estiércol de ganado contiene compuestos como metilamina que inhibe el funcionamiento de los AMO (Orozco-Patiño, 1999). Así mismo ocurre en cultivo debido a las aplicaciones de urea durante la fertilización, ya que como es de esperar, la aplicación de fertilizantes químicos incrementa la disponibilidad de nutrientes (Roldán et al., 2009). Por otra parte, se observó una menor densidad de microorganismos en el ecosistema páramo (Cuadro 2 y Figura 1) lo cual puede estar relacionado con la estabilidad de la MOS, por el predominio de sustancias húmicas y presencia de alófano que no permiten la descomposición de esta materia debido a su estructura estable.

Se observó que los PRO fueron más abundantes en el páramo, lo que es importante

Cuadro 2. Varianza y valor EIGEN del análisis de componentes principales de los usos del suelo.

Componentes	Valor EIGEN	Varianza acumulada (%)
1	2.27	75.69
2	0.37	88.19
3	0.35	100.00

debido a que las proteínas, la principal fuente de nitrógeno en los ecosistemas naturales, son necesarias para otros procesos en los que están involucrados los demás grupos funcionales (Li et al., 2004).

En el ACP realizado con las variables: PRO, AMO, BON, BOA y DEN (Cuadro 3; Figuras 2 y 3) se tomaron los tres primeros componentes, debido a que acumulan y explican el 83.02% de la varianza de los datos. En la Figura 2 se observa que las variables más correlacionadas en el eje 1 fueron PRO, AMO y BON, con valores de 0.51; 0.74 y 0.76, respectivamente, mientras que en el eje 2 están relacionados DEN y BOA con 0.86 y 0.37 respectivamente. El CP1 está relacionado con procesos de mineralización, donde los PRO fragmentan la materia orgánica en aminoácidos libres, los cuales posteriormente por la actividad de los AMO son transforma-

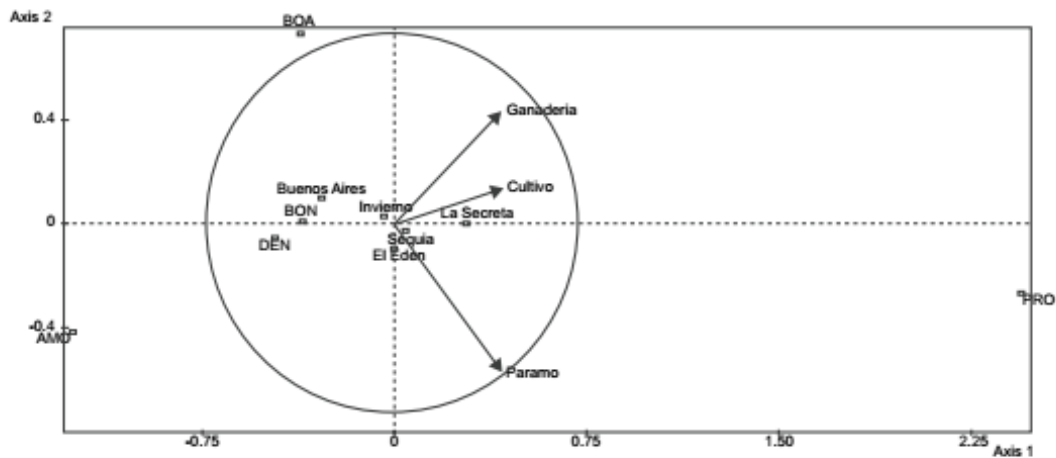


Figura 1. Análisis de componentes principales para grupos de microorganismos según usos del suelo evaluados. PRO: Proteolíticos, AMO: amonificantes, BOA: bacterias oxidantes de amonio, BON: Bacterias oxidantes de nitrógeno y DEN: denitrificantes.

MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL CICLO DEL NITRÓGENO EN SUELOS BAJO TRES SISTEMAS DE USO: CULTIVO DE PAPA, GANADERÍA Y PÁRAMO, EN EL PARQUE LOS NEVADOS, COLOMBIA

Cuadro 3. Varianza y valor EIGEN del análisis de componentes principales para los grupos funcionales evaluados.

Componentes	Valor EIGEN	Varianza acumulada (%)
1	2.16	43.38
2	1.19	67.25
3	0.78	83.02
4	0.54	93.84
5	0.30	100.00

dos a amonio que sirve como sustrato para la nitrificación (Ponzuelo, 1991), proceso que ocurre por la intervención de grupos distintos

de microorganismos, bacterias oxidantes de amonio (BOA) y bacterias oxidantes de nitrito (BON) (Francis et al., 2007).

Los procesos de denitrificación, donde participan los DEN reduciendo el NO_3^- a NO_2^- , N_2O y NO (CP2) se encuentran relacionados con los BOA (Figura 2), esto puede deberse a que en condiciones de intensificación agrícola, incrementos en el pH, temperatura y porosidad del suelo facilitan la conversión de amonio a amoniaco (NH_3^+) y éste se volatilice en forma de nitrógeno lo que limita la fuente de sustrato para la oxidación de amonio (Flórez-Zapata, 2010). Es posible que exista

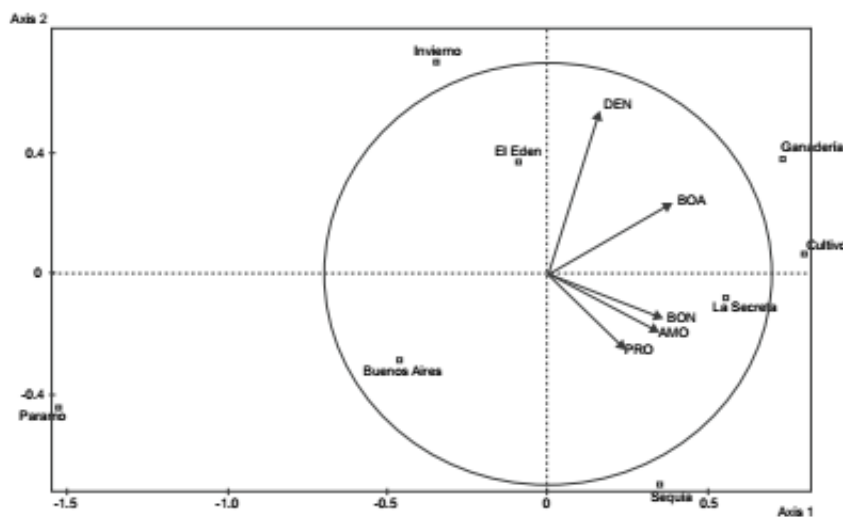


Figura 2. Análisis de componentes principales para los grupos funcionales evaluados. PRO: Proteolíticos, AMO: amonificantes, BOA: bacterias oxidantes de amonio, BON: Bacterias oxidantes de nitrito y DEN: denitrificantes. Ejes 1 y 2.

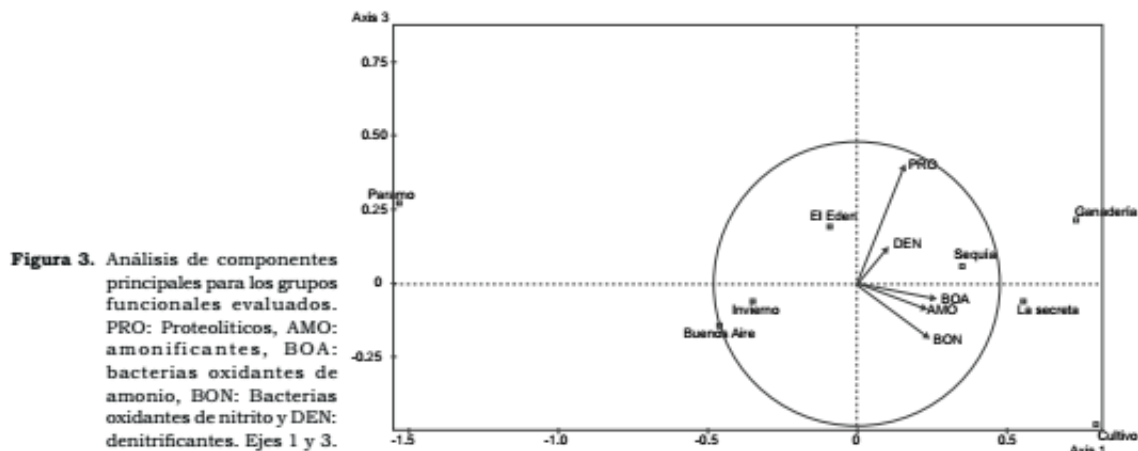


Figura 3. Análisis de componentes principales para los grupos funcionales evaluados. PRO: Proteolíticos, AMO: amonificantes, BOA: bacterias oxidantes de amonio, BON: Bacterias oxidantes de nitrito y DEN: denitrificantes. Ejes 1 y 3.

ACTA AGRONÓMICA. 61 (4) 2012, p 371-379

relación entre BOA y DEN, como lo proponen Francis et al. (2007) y Le Roux et al. (2008) quienes consideran que el proceso de oxidación de amonio puede ocurrir en condiciones anaeróbicas (Anammox), sin embargo, aún no es claro el papel de este tipo de bacterias en el ciclo edáfico del nitrógeno.

En la Figura 3 se observa que los PRO están más correlacionados con el eje 3, comparado con los DEN, por lo que aparentemente presentan un comportamiento independiente. Con lo anterior es posible relacionar cada uno de los componentes con un proceso en el ciclo del N, donde el eje 1 (CP1) representa procesos de amonificación y oxidación de N, mientras que el CP2 representa procesos de pérdida de N de los ecosistemas por denitrificación o Anammox, y el CP3 indica procesos relacionados con la fragmentación de proteínas. En general, las poblaciones de microorganismos PRO muestran abundancias superiores respecto a los microorganismos nitrificantes y denitrificantes, y esto se debe a que en los suelos hay una alta disponibilidad de materia orgánica que favorece el desarrollo de estos microorganismos (Flórez-Zapata, 2010).

Conclusiones

- Se encontraron diferencias entre las densidades de poblaciones de las comunidades microbianas en relación con el uso del suelo y las prácticas agrícolas. La menor densidad de grupos funcionales se observó en ecosistema de páramo y la mayor en sistemas con cultivo de papa y ganadería, lo cual puede ser debido al efecto de fertilizaciones y al manejo mecánico del suelo.
- Los PRO fueron el grupo funcional de mayor abundancia en los ecosistemas evaluados, lo que indica que en ecosistemas poco intervenidos dichos microorganismos median el proceso que proporciona energía para los demás microorganismos en el ciclo del N.
- En general, la densidad poblacional microbiana no se afectó significativamente por la altitud, no obstante se presentaron pequeñas diferencias sin una tendencia definida.
- Los grupos funcionales PRO, AMO, BOA, BON presentaron mayor densidad en la época seca, lo que se relaciona con la humedad en el suelo, ya que estos microorganismos son aerobios y su abundancia es afectada en condiciones de hipoxia en el suelo. Lo contrario ocurrió con los DEN, que son microorganismos anaerobios.
- Los resultados mostraron mayor densidad de DEN en ecosistema de páramo, comparado con los demás grupos funcionales (a excepción de PRO), lo que sugiere que en este ecosistema existe un balance negativo en el ciclo del N, donde las pérdidas por denitrificación pueden ser mayores que las ganancias por mineralización.

Agradecimientos

Al Centro Colombiano de Genómica y Bioinformática de Ambientes Extremos – GeBiX. A Colciencias y a la Universidad Nacional de Colombia, quienes financiaron y suministraron los recursos necesarios para la realización de esta investigación. A Luis Miguel Álvarez y a la comunidad de la vereda El Bosque, por su valiosa atención y colaboración para la realización de esta investigación.

Referencias

- Acosta-Martínez, V.; Acosta-Mercado, D.; Sotomayor-Ramírez, D.; y Cruz-Rodríguez, L. 2008. Microbial communities and enzymatic activities under different management in semiarid soils. *Appl. Soil Ecol.* 38:249 - 260.
- Balch, W. E.; Scherberth, S.; Tanner, R. S.; y Wolfe, R. S. 1977. *Acetobacterium*, a new genus of hydrogen-oxidizing, carbon dioxide-reducing, anaerobic bacteria. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 27(4):355 - 361.
- Berner, D.; Marhan, S.; Keil, D.; Poll, C.; Schützenmeister, A.; Piepho, H.-P.; y Kandeler, E. 2011. Land-use intensity modifies spatial distribution and function of soil microorganisms in grasslands. *Pedobiologia* 54(5-6):341 - 351.
- Calvo-Vélez, P.; Meneses, L. R.; y Zúñiga-Dávila, D. 2008. Estudio de las poblaciones microbianas de la rizósfera del cultivo de papa (*Solanum tuberosum*) en zonas altoandinas. *Ecol. Apl.* 7(1 - 2):141 - 148.
- Cochran, W. G. 1950. Estimation of bacterial densities by means of the Most Probable Number. *Biometrics* 6(2):105 - 116.

MICROORGANISMOS ASOCIADOS AL CICLO DEL NITRÓGENO EN SUELOS BAJO TRES SISTEMAS DE USO: CULTIVO DE PAPA, GANADERÍA Y PÁRAMO, EN EL PARQUE LOS NEVADOS, COLOMBIA

- Flórez-Zapata, N. 2010. Determinación de parámetros biológicos y fisico-químicos asociados al metabolismo edáfico del nitrógeno en cultivos de *Solanum phureja* en el departamento de Cundinamarca. Tesis de Maestría. Facultad de Ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 105 p.
- Flórez-Zapata, N.; y Uribe-Vélez, D. 2011. Biological and physicochemical parameters related to the nitrogen cycle in the rhizospheric soil of native potato (*Solanum phureja*) crops of Colombia. Appl. Environ. Soil Sci. 2011. Article ID 847940, 10 p.
- Francis, C. A.; Beman, J. M.; y Kuypers, M. M. 2007. New processes and players in the nitrogen cycle: the microbial ecology of anaerobic and archaeal ammonia oxidation. Intern. Soc. Micr. Ecol. 1:19 - 27.
- Guevara-Díaz, J. M. 2003. Métodos de estimación y ajuste de datos climáticos. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. Caracas. 133 p.
- Hai, B. 2009. Impact of environmental factors on key functional groups involved in nitrogen cycling in agricultural ecosystems. Doktorgrades der Naturwissenschaften. Fakultät für Biologie. Ludwig-Maximilians-Universität München. 114 p.
- Han, X.; Wang, R.; Guo, W.; Pang, X.; Zhou, J.; Wang, Q.; Zhan, J.; y Dai, J. 2011. Soil microbial community response to land use and various soil elements in a city landscape of north China. Afr. J. Biotechnol. 10(73):16554 - 16565.
- Hofstede, R.; Segarra, P.; y Mena-Vásconez, P. 2003. Los páramos del mundo: Proyecto Atlas Mundial de los Páramos. Global Peatland Initiative/NC-IUCN/EcoCiencia. Quito. 299 p.
- IGAC (Instituto Geográfico Agustín Codazzi). 2006. Métodos analíticos de laboratorio de suelos. IGAC. Sexta ed. 648 p.
- Kaschuk, G.; Alberton, O.; y Hungria, M. 2011. Quantifying effects of different agricultural land uses on soil microbial biomass and activity in Brazilian biomes: inferences to improve soil quality. Plant Soil 338:467 - 481.
- Kirk, J. L.; Beaudette, L. A.; Hart, M.; Moutoglis, P.; Klironomos, J. N.; Lee, H.; y Trevors, J. T. 2004. Methods of studying soil microbial diversity. J. Microbiol. Methods 58:169 - 188.
- Kruskal, W. H. y Wallis, W. A. 1952. Use of ranks in one criterion variance analysis. J. Amer. Stat. Association 47(260):583 - 621.
- Le Roux, X.; Poly, F.; Currey, P.; Commeaux, C.; Hai, B.; Nicol, G. W.; Prosser, J. I.; Schloter, M.; Attard, E.; y Klumpp, K. 2008. Effects of aboveground grazing on coupling among nitrifier activity, abundance and community structure. Intern. Soc. Micr. Ecol. 2(2):221 - 232.
- Li, Q.; Allen, H. L.; y Wollum II, A. G. 2004. Microbial biomass and bacterial functional diversity in forest soils: effects of organic matter removal, compaction, and vegetation control. Soil Biol. Biochem. 36(4):571 - 579.
- Loomis, R. S. y Connor, D. J. 2002. Ecología de Cultivos. Mundi-Prensa Libros. Madrid. 591 p.
- Nannipieri, P.; Ascher, J.; Ceccherini, M. T.; Landi, L.; Pietramellara, G.; y Renella, G. 2003. Microbial diversity and soil functions. Eur. J. Soil Sci. 54:655 - 670.
- Orozco-Patiño, F. H. 1999. La biología del nitrógeno: Conceptos básicos sobre sus transformaciones biológicas. Universidad Nacional de Colombia. Sede Medellín. Facultad de Ciencias. Editorial Gráficas Montoya, Medellín. 231 p.
- Philippot, L. y Germon, J. C. 2005. Contribution of bacteria to initial input and cycling of nitrogen in soils. En: Buscot, F. y Varma, A. (eds.). Soil Biology, Volume 3, Microorganisms in Soils: Roles in Genesis and Functions. © Springer-Verlag Berlin Heidelberg. p. 159 - 176.
- PNN (Parques Nacionales Naturales de Colombia). 2011. Disponible en: <http://www.parquesnacionales.gov.co> [Fecha revisión: Julio de 2011]
- Pochon, J. 1954. Manuel technique d'analyse microbiologique du sol. Masson et Cie Editeurs. Paris. 124 p.
- Ponzuelo, J. 1991. Estudio de grupos funcionales de microorganismos edáficos en la rizosfera de *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas. Universidad Complutense. Madrid. 270 p.
- Ramírez, M. 2011. Los páramos en la historia. Rev. Páramos 1:42 - 57.
- Roldán, F.; Varela, A.; García, E.; Sierra, L.; Vallejo, V.; Berdugo, M.; Aguilera, M.; Santos, D.; Cubillos, A.; Gómez, M.; Gómez-Sarmiento, M.; Latorre, N.; y Vela, A. 2009. Evaluación del efecto de diferentes usos del suelo sobre grupos funcionales microbianos edáficos en la ecorregión cafetera colombiana. En: Rodríguez, J. M.; Camargo, J. C.; Niño, J.; Pineda, A. M.; Arias, L. M.; Echeverry, M. A.; y Miranda, C. L. (eds.). Valoración de la biodiversidad en la ecorregión del Eje Cafetero. Centro de Investigaciones y Estudios en Biodiversidad y Recursos Genéticos. Ciebreg. Pereira, Colombia. p. 209-221.
- SAS Institute Inc. 2009. SAS/STAT® 9.2 User's Guide: Mixed Modeling (Book Excerpt). Cary, NC (USA).
- Stata Corp, Stata Statistical Software. 2005. Release 9, StataCorp LP, College Station, Tex, USA.

B. Anexo B: Descripción perfiles de suelo vereda El Bosque

1.1. Perfil M-001. Finca Buenos Aires.



Perfil No: M-001

Sitio: Finca Buenos Aires

Taxonomía: Tipyc Haplocryands

Altitud: 3700 metros

Unidad cartográfica: Asociación

Símbolo unidad

cartográfica: DRf

Localización geográfica Departamento: Risaralda Municipio: Pereira

Paisaje: Montaña

Tipo de relieve: Vertiente

Coordenadas geográficas 4°44'835"Lat N 75°26'672"Long W

Litología / Sedimentos: cenizas volcánicas

Relieve circundante: ligeramente escarpado

Grado de la pendiente: 25 - 50%

Clima ambiental: muy frío muy húmedo

Precipitación promedia anual: 3500mm

Temperatura promedia anual: 12 °C.

Régimen de temperatura del suelo: Críico

Clase, tipo y grado de erosión: hídrica, laminar, poca

Tipo y frecuencia de movimientos en masa: no hay

Tipo y clase de pedregosidad superficial: Pedregón, frecuente

Clase y superficie cubierta por afloramientos rocosos: no hay

Vegetación natural: *Lupinus sp.*, *Oreopanax sp.*, *Cortadeira sp.*

Uso actual: Conservación

Limitantes del uso: Clima

Frecuencia y duración de las inundaciones o encharcamientos: no hay

Nivel freático: no observado

Drenaje natural: bien drenado

Profundidad efectiva: Moderada

Limitante de la profundidad efectiva: Fragmentos de roca

Horizontes diagnósticos:

Epipedón: ocrico

Endopedón: cambico

Características diagnósticas: características ándicas

Descrito por: O. Munar V.

Fecha: 08/06/2011

DESCRIPCIÓN

00 – 17 cm	Color en húmedo negro (10YR2/1); textura en campo franco arcillo arenosa ; estructura en gránulos, fina, moderada; consistencia en húmedo suelta, en mojado ligeramente pegajosa, no plástica; muchos poros finos; muchas raíces finas y medias, vivas, de distribución normal; poca actividad de macroorganismos; límite gradual, plano; pH 4,7; reacción muy fuertemente ácida; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
Ao	
17 – 50 cm	Color en húmedo pardo muy oscuro (10YR2/2); textura en campo franco arcillosa; estructura en bloques, media, moderada; consistencia en húmedo friable, en mojado ligeramente pegajosa, no plástica; muchos poros medianos; frecuentes raíces medias, vivas; no hay actividad de macroorganismos; límite claro, plano; pH 5,6; reacción moderadamente ácida; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
Bw	
50 – 60x cm	Color en húmedo pardo oscuro (7.5YR4/6); textura en campo arenosa; sin estructura; consistencia en húmedo suelta; no hay raíces; no hay actividad de macroorganismos; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio. Muchos fragmentos de roca de forma irregular, sin alteración.
C	

1.2. Perfil M-002. Finca La Secreta



Perfil No: M-002

Sitio: Finca La Secreta

Taxonomía: Thaptic Hapludands

Altitud: 3390 metros

Unidad cartográfica: Asociación

Símbolo unidad

cartográfica: AOe1

Localización geográfica

Departamento: Risaralda

Municipio: Pereira

Paisaje: Montaña

Tipo de relieve: Vertientes

Forma del terreno: Derrubios

Coordenadas geográficas 4°44'6.57" Lat N 75°26'41.03" Long W

Litología / Sedimentos: cenizas volcánicas

Relieve circundante: moderadamente escarpada

Grado de la pendiente: 50 - 75%

Clima ambiental: frío muy húmedo

Precipitación promedio anual: 3500mm.

Temperatura promedio anual: 12 °C.

Clima edáfico: udico, isomésico

Clase, tipo y grado de erosión: hídrica, laminar, frecuente

Tipo y frecuencia de movimientos en masa: no hay

Tipo y clase de pedregosidad superficial: no hay

Clase y superficie cubierta por afloramientos rocosos: no hay

Vegetación natural: poca (pastos)

Uso actual: cultivos anuales (cultivo de papa *Solanum tuberosum* L.)

Limitantes del uso: Pendiente muy alta

Frecuencia y duración de las inundaciones o encharcamientos: no hay

Nivel freático: no observado

Drenaje natural: bien drenado

Profundidad efectiva: profunda

Limitante de la profundidad efectiva: no hay

Horizontes diagnósticos:

Epipedón: ocrico

Endopedón: cambico

Características diagnósticas: características ándicas

Descrito por: O. Munar V.

Fecha: 09/06/2011

DESCRIPCIÓN

- 00 – 15 cm Color en húmedo pardo muy oscuro (10YR2/2); textura en campo franco arcillo arenosa ; estructura en bloques, fina, moderada; consistencia en húmedo suelta, en mojado ligeramente pegajosa, no plástica; muchos poros finos; muchas raíces medias, vivas, de distribución normal; poca actividad de macroorganismos; límite gradual, plano; pH 5,1, reacción fuertemente ácida; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
- Ap
- 15 – 41 cm Color en húmedo pardo oscuro (10YR3/3); textura en campo franco arcillosa; estructura en bloques, media, moderada; consistencia en húmedo friable, en mojado ligeramente pegajosa, no plástica; frecuentes poros medianos; frecuentes raíces medias, vivas; no hay actividad de macroorganismos; límite claro, plano; pH 5.9, reacción moderadamente ácida; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
- Bw1
- 41 – 82 cm Color en húmedo pardo amarillento oscuro (10YR3/4); textura en campo franco arcillosa; estructura en bloques, media, moderada; consistencia en húmedo firme, en mojado ligeramente pegajosa, ligeramente plástica; pocos poros medianos; pocas raíces finas, vivas y muertas; no hay actividad de macroorganismos; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
- Bw2
- 82 – 125 cm Color en húmedo negro (10YR2/1); textura en campo franco arcillosa; estructura (enterrado) en bloques, media, moderada; consistencia en húmedo firme, en mojado ligeramente pegajosa, ligeramente plástica; pocos poros gruesos; no hay raíces; no hay actividad de macroorganismos; límite gradual, plano; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
- Ab
(Enterrado)

1.3. Perfil M-003. Finca El Edén



Perfil: M-003

Taxonomía: Thaptic Hapludands	Sitio: Finca El Edén
Unidad cartográfica: Asociación	Altitud: 3500 metros
Localización geográfica	Símbolo unidad cartográfica: AOe1
Departamento: Risaralda	Municipio: Pereira
Paisaje: Montaña	Tipo de relieve: Vertientes
Forma del terreno: Derrubios	
Coordenadas geográficas 4°44'30.03" Lat N 75°26'37.78" Long W	
Litología / Sedimentos: cenizas volcánicas	
Relieve circundante: moderadamente escarpada	Grado de la pendiente: 50 - 75%
Clima ambiental: frío muy húmedo	
Precipitación promedia anual: 3500mm.	Temperatura promedia anual: 12 °C.
Clima edáfico: udico, isomésico	
Clase, tipo y grado de erosión: hídrica, laminar moderada	
Tipo y frecuencia de movimientos en masa: no hay	
Tipo y clase de pedregosidad superficial: pedregón, frecuente	
Clase y superficie cubierta por afloramientos rocosos: no hay	
Vegetación natural: poca (pastos)	
Uso actual: cultivos anuales (cultivo de papa <i>Solanum tuberosum</i> L.)	
Limitantes del uso: pendiente muy alta	
Frecuencia y duración de las inundaciones o encharcamientos: no hay	
Nivel freático: no observado	
Drenaje natural: bien drenado	
Profundidad efectiva: profunda	Limitante de la profundidad efectiva: no hay
Horizontes diagnósticos: Epipedón: ocrico Endopedón: cambico	
Características diagnósticas: características ándicas	
Descrito por: O. Munar V.	Fecha: 10/06/2011

DESCRIPCIÓN

00 – 09 cm	Color en húmedo negro (10YR2/1); textura en campo franco arcillo arenosa; estructura en gránulos, media, moderada; consistencia en húmedo suelta, en mojado ligeramente pegajosa, no plástica; muchos poros gruesos; muchas raíces medias, vivas, de distribución normal; frecuente actividad de macroorganismos; límite gradual, plano; pH 5,5, reacción fuertemente ácida; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
Ap	
09 – 33 cm	Color en húmedo pardo muy oscuro (10YR2/3); textura en campo franco arcillosa; estructura en bloques, media, moderada; consistencia en húmedo friable, en mojado ligeramente pegajosa, no plástica; muchos poros medianos; frecuentes raíces medias, vivas; frecuente actividad de macroorganismos; límite claro, plano; pH 5.3, reacción fuertemente ácida; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
Bw1	
33 – 80 cm	Color en húmedo pardo oscuro (10YR3/3); textura en campo franco arcillosa; estructura en bloques, media, débil; consistencia en húmedo friable, en mojado no pegajosa, ligeramente plástica; pocos porosmedios; pocas raíces finas, muertas; no hay actividad de macroorganismos; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
Bw2	
80 – 125 cm	Color en húmedo negro (10YR2/1); textura en campo franco arcillosa; estructura en bloques, media, moderada; consistencia en húmedo firme, en mojado ligeramente pegajosa, ligeramente plástica; no hay raíces; no hay actividad de macroorganismos; límite gradual, plano; fuerte reacción al Fluoruro de Sodio.
Ab (Enterrado)	

C. Anexo C: PERMANOVAS estructura microbiana para las fincas Buenos Aires, EL Eden y La Secreta grupos funcionales cultivables

A.

Factor	g.l	Buenos Aires			
		SC	CV	Pseud-F	P (perm)
Época (E)	1	36873	36873	26,353	0,0001
Uso (U)	2	7360	3680	2,630	0,0058
ÉxU	2	5430	2715	1,940	0,0251
V (ÉxU)	12	16790	1400	3,420	0,0001

B.

Factor	g.l	El Eden			
		SC	CV	Pseudo-F	P (perm)
Época (E)	1	38564	38564	48.755	0.0002
Uso (U)	2	5181	2591	3.275	0.0001
ÉxU	2	5852	2926	3.699	0.0001
V (ÉxU)	12	9492	791	3.422	0.0001

C.

Factor	g.l	La Secreta			
		SC	CV	Pseudo-F	P (perm)
Época (E)	1	36628	36628	32.946	0.0001
Uso (U)	2	7685	3842	3.456	0.0001
ÉxU	2	6797	3398	3.057	0.0001
V (ÉxU)	12	13341	1112	2.267	0.0001

g.l.: grados de libertad, SC: sumatoria cuadrática, CV: componente de variación, V: ventanda

D. Anexo D: Microorganismos indicadores de cambios en el uso de suelo en el PNN Los Nevados para las diferentes estrategias metodológicas empleadas.

GF: Grupo funcional; F: Fijador de nitrógeno; S: Solubilizador; C: Celulolítico.

A. GF Cultivables

Dominio	Filo	Clase	Orden	Familia	Género	GF
Fungi	<i>Ascomycota</i>	<i>Eurotiomycetes</i>	<i>Eurotiales</i>	<i>Trichocomaceae</i>	<i>Paecilomyces carneus</i>	C
Bacteria	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Sphingobacteriia</i>	<i>Sphingobacteriales</i>	<i>Sphingobacteriaceae</i>	<i>Pedobacter</i> sp	C
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Streptomycetaceae</i>	<i>Streptomyces</i> sp	C
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Micrococcaceae</i>	<i>Arthrobacter</i> sp	C
Bacteria	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Paenibacillus</i> sp	C
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Nocardiaceae</i>	<i>Rhodococcus tukisamuensis</i>	C
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas</i> sp	C
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Micrococcaceae</i>	<i>Arthrobacter</i> sp C4	C
Bacteria	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Paenibacillus</i> sp C4	C
Bacteria	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i> sp S3	S
Bacteria	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Paenibacillus</i> sp S2	S
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Nocardiaceae</i>	<i>Rhodococcus</i> sp	F
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Pseudomonadales</i>	<i>Pseudomonaceae</i>	<i>Pseudomonas</i> sp F1	F
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Burkholderiales</i>	<i>Burkholderiaceae</i>	<i>Burkholderia</i>	F
Bacteria	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Paenibacillus</i> sp	F
Bacteria	<i>Firmicutes</i>	<i>Bacilli</i>	<i>Bacillales</i>	<i>Bacillaceae</i>	<i>Bacillus</i> sp	F

B. 16S-454 (Género)

Dominio	Filo	Clase	Orden	Familia
Bacteria	<i>Actinobacteria</i>			
Bacteria	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Sphingobacteriia</i>	<i>Sphingobacteriales</i>	
Bacteria	<i>Planctomycetes</i>	<i>Planctomycetia</i>	<i>Gemmatales</i>	<i>Gemmataceae</i>
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>			
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Rhizobiales</i>	
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Sphingomonadales</i>	<i>Sphingomonadaceae</i>
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Betaproteobacteria</i>	<i>Rhodocyclales</i>	<i>Rhodocyclaceae</i>
Bacteria	<i>Proteobacteria</i>	<i>Deltaproteobacteria</i>	<i>Myxococcales</i>	<i>Haliangiaceae</i>

C. 16S-454 (OTUs representativos).

Reino	Filo	Clase	Orden	Familia	Género
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	
Bacteria	Acidobacteria	Acidobacteria	Acidobacteriales	Acidobacteriaceae	Acidobacteria
Bacteria	Verrucomicrobia	Spartobacteria	Spartobacteriales	Spartobacteriaceae	Spartobacteria
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetaceae	Singulisphaera	
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria			
Bacteria	Planctomycetes	Planctomycetia	Planctomycetaceae		
Bacteria	Proteobacteria	Alphaproteobacteria	Rhizobiales	Bradyrhizobiaceae	Rhodoblastus
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Methyloversatilis
Bacteria	Verrucomicrobia	Verrucomicrobiae	Verrucomicrobiales	Verrucomicrobiaceae	Verrucomicrobium
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Oxalobacteraceae	
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Sinobacteraceae	Steroidobacter
Bacteria	Firmicutes				
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	
Bacteria	Actinobacteria	Actinobacteria	Acidimicrobiales		
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales	Comamonadaceae	Sphaerotilus
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Mucilaginibacter
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Rhodocyclales	Rhodocyclaceae	Sterolibacterium
Bacteria	Proteobacteria	Betaproteobacteria	Burkholderiales		
Bacteria	Bacteroidetes	Sphingobacteriia	Sphingobacteriales	Sphingobacteriaceae	Chitinophagaceae
Bacteria	Bacteroidetes	Flavobacteria	Flavobacteriales	Flavobacteriaceae	Gillisia
Bacteria	Proteobacteria	Gammaproteobacteria	Xanthomonadales	Xanthomonadaceae	Fulvimonas

