EFECTOS DE LAS ESTRUCTURAS DE ANCLAJE Y MICROORGANISMOS EN LA FORMACIÓN DE AGREGADOS EN LA COSTRA MICROBIÓTICA DE LOS SUELOS DE OUÍBOR, ESTADO LARA

V. Toledo^a*, A. Florentino de Andréu^b, C. Urbina de Navarro^C

^aUniversidad Pedagógica Experimental Libertador, Instituto Pedagógico de Caracas, Departamento de Geografía.
 ^bUniversidad Central de Venezuela, Instituto de Edafología, Facultad de Agronomía, Maracay.
 ^cCentro de Microscopia Electrónica "Mitsuo Ogura". Universidad Central de Venezuela Facultad de Ciencias.

*Autor de Correspondencia E-mail: toledo.valentina@gmail.com

Recibido: Diciembre 2013. Aprobado: Mayo 2014.

Publicado: Mayo 2014.

RESUMEN

La costra microbiótica se desarrolla sobre la superficie del suelo debido a la colonización de microrganismos como las cianobacterias y macroorganismos tales como briofitas y líquenes. El soporte inicial de esta costra es una costra física, ésta última domina en zonas áridas y semiáridas como la de Quíbor, estado Lara, Venezuela. El objetivo de este trabajo es mostrar la interacción órgano- mineral de la costra microbiótica a través de las diferentes estructuras morfológicas de anclaje, así como microorganismos y excreciones orgánicas que contribuyen al inicio de la formación de micro agregados y a la retención del suelo. La diversidad morfológica de las estructuras microbiológicas de la costra fue estudiada por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB). Los resultados muestran diferentes tamaños de micro agregados, donde se observa el efecto de los rizoides y ricinas, así como las cianobacterias en la conformación de agregados. La agregación ocurre por la acción de los mismos organismos, ya que el enmarañamiento de los rizoides de briofitas y ricinas, junto hifas fúngicas, facilitan la estabilización de micro agregados por atrapamiento. Las secreciones de polisacáridos y/o de exudados gomosos de las cianobacterias y líquenes generan un efecto adhesivo de las partículas minerales que permanecen ligadas, lo que proporciona el inicio y formación de micro agregados, mejorando la estructura y en consecuencia protege al suelo de la erosión hídrica.

Palabras Clave: Costra microbiótica, suelos, agregados, MEB, órgano mineral

EFFECTS OF ANCHORING STRUCTURES AND MICROORGANISMS IN THE FORMATION OF AGGREGATES IN THE MICROBIOTIC CRUST OF SOILS IN QUIBOR, LARA STATE

ABSTRACT

Microbial crust develops on the surface of the soil due to colonization of microorganisms as cyanobacteria and macro organisms such as bryophytes and lichens. Initial support is a physical crust that dominates in arid and semi-arid areas such as the de Quíbor, state Lara, Venezuela. The objective of this study is to show the interaction of the crust organ microbial mineral through different structures anchoring morphological and organic excretions microorganisms contribute to the onset of the formation of micro aggregates and soil retention. The morphological diversity of microbiological structures of the crust was studied by Scanning Electron Microscopy (SEM). The results show different sizes of micro aggregates, which show the effect of rhizoids and rhizines, and also cyanobacteria into entanglement of soil aggregates. Aggregation occurs by the action of the same organisms, as the entanglement of bryophytes and rhizines rhizoids along fungal hyphae, facilitates stabilizing micro aggregates entrapment. Secretions of polysaccharides and / or cyanobacteria gummy exudate and lichens generate an adhesive effect of the mineral particles remain bound, which provides the initiation and formation of micro aggregates, improving the structure and thus protects the soil from hidric erosion.

Keywords: Microbiotic crust, soils, aggregates, MEB, organo-mineral.

INTRODUCCIÓN

Las condiciones edafoclimáticas de las zonas áridas y semiáridas hacen que la interfase suelo-atmósfera promueva extensas zonas del suelo desprovistas de vegetación con dosel de cobertura amplia. Así mismo, la ocurrencia de precipitaciones extemporáneas, cortas e intensas contribuyen a la formación de escorrentías, arrastre, pérdida y calidad de los suelos. Debido a esto, el aporte de materia orgánica que pudiera provenir de la descomposición de la vegetación y actuar como cementante para la formación de agregados del suelo es bajo y los agregados formados son débiles, es decir, no permanecen unidos frente a fuerzas disruptivas de las lluvias con lo cual mitigaría la pérdida de suelo por erosión en todas sus fases: salpicadura, laminar, surcos y en cárcavas. La estructura del suelo corresponde a un arreglo de las partículas primarias del suelo (arena, limo y arcilla), formando partículas secundarias (agregados) y acomodo de éstas últimas, de manera que las propiedades del conjunto, son diferentes a la misma masa de partículas primarias no agregadas [1]. Los paquetes de arcillas se agrupan para formar los llamados micro agregados, con tamaño del orden de 5 a 500 µm; estos micro agregados se agrupan entre sí para formar los macro agregados de 0.5 a 10 mm de diámetro [2]. En la formación y estabilidad de los agregados desempeñan una función muy importante los elementos inorgánicos tales como las arcillas, óxidos, hidróxidos, carbonatos y los elementos orgánicos como mucílagos, polisacáridos, hifas, raíces [1].

La cubierta vegetal en estos ecosistemas secos es discontinua, los parches que se observan en el paisaje son macrobióticos (arbustivos) y/o microbióticos compuestos por líquenes, briofitas y cianobacterias en su mayoría, los cuales definen estos tapetes o costras biológicas que crecen en el suelo, [3, 4]. Las costras están constituidas por algas, cianobacterias, hongos, briofitas y líquenes; en ausencia de perturbaciones antropogénicas (deforestación, tala, quema, etc.), estos macro (briofitas y líquenes) y microrganismos (cianobacterias) y sus excreciones se

asocian con partículas inorgánicas, formando una capa en la superficie del suelo que se hace más cohesiva con el tiempo [5, 6]. Por consiguiente, las costras biológicas generan diversas formas de influencia biótica en la estructura del suelo, las cuales pueden ser evaluadas a través de los macro y microrganismos, por las actividades que en ellos se desarrollan y finalmente por sus productos tales como polisacáridos, exudados gomosos, entre otros.

Muchos de los agregados de tamaños entre 100 a 200 μm de diámetro tienen un centro de residuos de plantas [7]; algunas de ellas están completamente revestidas con capas inorgánicas, pero retienen formas elongadas con longitud y radio mayor de 2 μm . Estudios realizados sobre agregados de tamaños menores de 20 μm permiten evidenciar la microestructura de la arcilla pero las formas biológicas no son observadas con facilidad.

Sin embargo, Dorioz et. al. [8] estudiaron el rol de diferentes microorganismos (hongos y bacterias) y raíces sobre la micro construcción de agregados a partir de láminas de arcillas. Las observaciones que obtuvieron por MEB evidenciaron tres características del sustrato donde se desarrollaron los hongos, en condiciones de humedad: cambios en la organización de las partículas siendo más evidente en partículas más rígidas, como la caolinita, donde las hifas en los alrededores de estas arcillas incrementan la porosidad de la misma; secreción extracelular de polisacáridos que induce puentes locales de partículas de arcillas y, en general, un efecto de empaquetamiento por hifas; estos efectos guían hacia una nueva microestructura convertida ahora en un micro ambiente de interacción entre la biota y los constituyentes del suelo. Los autores concluyen señalando, que con las bacterias la agregación-polisacáridos fue predominante, mientras que con las raíces, la microestructura fue más compleja en comparación con la de los hongos.

Por otra parte, el trabajo realizado por Malam y *col*. [9], deja en evidencia el rol de las cianobacterias en la

estabilidad estructural de un suelo arenoso en el desierto del Sahel. El examen microscópico de una costra biológica reveló una red de filamentos de cianobacterias y la secreción de polímeros extracelulares, los cuales atrapan y retienen partículas minerales en la superficie del suelo, contribuyendo así a una mayor resistencia del mismo a la erosión debido a la cobertura microbiana.

No obstante, en los diversos estudios de costras biológicas no aparecen los efectos que pudieran tener las estructuras morfológicas de anclaje de las briofitas o de los líquenes, en la formación de micro agregados. El objetivo de la presente investigación es la identificación de los efectos de las diferentes estructuras morfológicas de anclaje, así como microorganismos y secreciones orgánicas que contribuyen al inicio de la formación de micro agregados y a la retención del suelo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo

El sector estudiado se ubica en la zona nororiental Depresión de Quíbor, estado Lara, aproximadamente a los 09° 54'- 09° 57' Norte y 69°35'-69° 37' Oeste, Municipio Jiménez. Altitud entre 600-800 m.s.n.m. El lugar de muestreo de la costra microbiótica es una zona natural que no ha sido mecanizada ni ha tenido ningún tipo de práctica de manejo pero que esta afecta por la erosión hídrica tipo cárcavas. Sobre el terreno se trazaron dos transectas perpendiculares a la carretera Los Jebes, atravesando la quebrada Los barrancos, en dirección al crecimiento de las cabeceras de las cárcavas NO-SE. Las longitudes de las transectas 1 y 2, fueron de 675 y 375 m respectivamente, separadas entre sí por una distancia de 750 m aproximadamente (Figura 1).

Del total de las muestras recolectadas, se seleccionaron al azar entre los 4 puntos de las transectas, dos muestras en las posiciones topográficas de cabecera, dos de flanco y dos de valle con costra e igualmente sin costra, a una profundidad de 0-5 mm del perfil del suelo.



Fig.1. Localización geográfica del área de estudio.

Identificación de los especímenes que componen a la costra microbiótica

La identificación de los especímenes que componen la costra microbiótica fue realizada utilizando la clasificación propuesta por Eldridge y Greene [10]. Entre los grupos morfológicos establecidos por estos autores, dos son los más abundantes en la zona de estudio y se incluyen en este trabajo: briofitas y líquenes crustáceos. Como tercer grupo se encuentran las cianobacterias.

Instrumento

Los estudios de microscopia electrónica de barrido se realizaron en un MEB marca FEI, modelo Quanta 600, trabajando a 20 kV.

Preparación de la muestra para el estudio por (MEB)
Se estudiaron cortes de 5 x 3 x 5 mm, para realizarlos se utilizó bisturí y una lupa estereoscópica, obteniéndose

micro perfiles compuestos con los diferentes grupos morfológicos.

Las muestras de suelo con costra y sin costra microbiótica se montaron sobre porta-muestras de aluminio usando cinta doble adherente de carbón y se cubrieron con oro en un cubridor iónico IB2 Giko Engineering. Se usaron dos protocolos de montaje, uno para las muestras de suelo sin costra microbiótica y el otro para muestras de suelo con costra microbiótica. Para las primeras éstas se montaron directamente sobre el porta-muestras de aluminio y se mantuvieron por 24 h en estufa a 28 °C, finalmente se cubrieron con una capa de oro.

A fin de preservar la morfología de los microorganismos presentes, las muestras de suelo con costra microbiótica inicialmente fueron fijadas a 4 °C en fijador Karnovsky [11]; luego fueron lavadas tres veces con buffer Milloning. La postfijación se realizó en solución de tetróxido de osmio al 1% por 1 h [11]. Seguidamente las muestras se lavaron tres veces con agua destilada y finalmente fueron deshidratadas en soluciones de etanol-H₂O de concentración variable desde 50% hasta 100%. Se realizó un secado final mediante la técnica de punto crítico [12] con CO₂ en un equipo Hitachi HCP-2. Las muestras así deshidratadas se colocaron en los porta-muestras y se cubrieron con de oro.

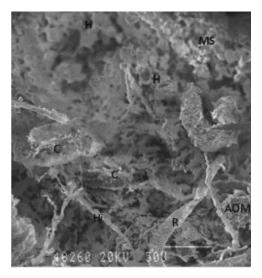
Test de Agregados de Emerson

Para comprobar el comportamiento de los agregados del suelo sobre la base de su coherencia en el agua, se realizó el test de Emerson [13]. La prueba consistió en colocar en diferentes vasos de precipitados de 50 mL, trozos de costra microbiótica seca al aire y agregados sin costra, no mayores a 10 mm de diámetro para ambos casos, cubiertos con 35 mL de agua desionizada. Una vez las muestras en inmersión, se registró el tiempo en que comienza a desmoronarse y/o a colapsar.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Observación de las estructuras biológicas en la formación de micro agregados y retención del suelo

En la Figura 2, se observa la presencia de las diferentes estructuras morfológicas de anclaje tales como rizoides y ricinas, junto con hongos, cianobacterias y al fondo la matriz de suelo. La intrincada relación entre rizoides de briofitas, entrelazados con hifas filamentosas, construyen un enmarañamiento de tipo físico que actúa de soporte, formando una red o malla que atrapa y retiene las partículas minerales de suelo e impide que sean transportadas a mayor profundidad o superficialmente, evitando la erosión. Tal situación favorece la formación de una capa cohesiva en la superficie del suelo y formación de micro agregados órgano- mineral.



50 um

Fig. 2. Rizoides (R), Cianobacterias (C), Hongos (H), Hifas (Hi), Agregado órgano-mineral (AOM) y Matriz de suelo (MS)

Así mismo, las muestras tomadas sobre las manchas de color verde-azuladas, presentan bajo el MEB formas filamentosas, Figura 3. Este aspecto corresponde a dos tipo de cianobacterias con estructuras semejante a la Nostoc *sp*. y a la Oscillatoria *sp*.

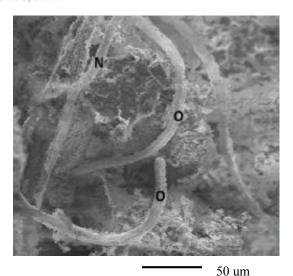


Fig. 3. Nostoc sp. (N) y Ocillatoria sp. (O)

Se identificaron enlaces físicos con filamentos de cianobacterias acompañados con finas partículas angulares adheridas al material envoltorio y a las superficies de los filamentos, formando micro agregados órgano-mineral (Figura 4).

La habilidad de estas cianobacterias filamentosas para actuar como material adherente a través de la secreción de polisacáridos y/o de exudados gomosos que liberan, ha sido reportada por otros autores [14-18]. También, la forma enrevesada de las cianobacterias promueve un efecto de micro porosidad representada por la construcción de "puentes orgánicos", los cuales facilitan la infiltración del agua.

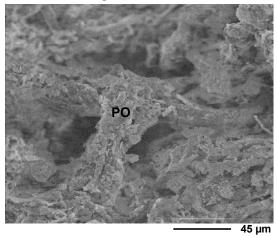


Fig. 4. Puente orgánico (PO).

La Figura 5 permite observar los rizoides de las briofitas debajo de la superficie del suelo; éstos atrapan partículas de suelo formando micro agregados.

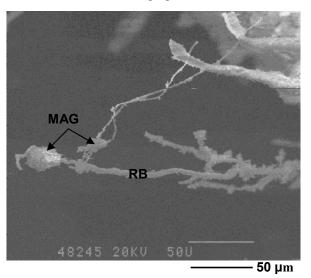


Fig. 5. Micro agregados (MAG), Rizoides de briofitas (RB).

La Figura 6, muestra las secreciones de las ricinas que son las estructuras de anclaje del liquen crustáceo. Las finas partículas son envueltas en este material orgánico (mucílago), dando paso al proceso de formación de micro agregados órgano-mineral.

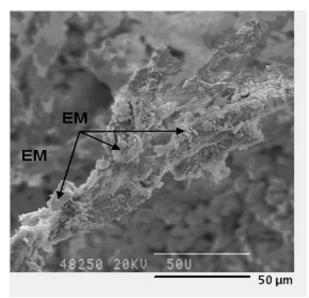


Fig. 6. Envolturas mucilaginosas (EM).

Por otra parte, la muestra sin costra biológica observada al MEB (Figura 7) presenta un aspecto homogéneo de

estructura masiva. No se observa la presencia de residuos vegetales, ni restos de alguna estructura morfológica de anclaje biológico, tampoco de microorganismos filamentosos y menos aún el efecto de algún material cementante (material adhesivo). Por estas razones, la masa de suelo tiene un arreglo primario de partículas y por tanto, de espacio poroso sin intervención orgánica, con escasa agregación.

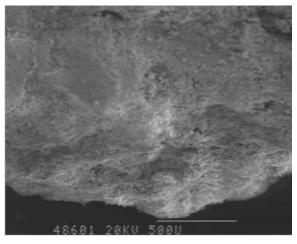


Fig. 7. Muestra de la estructura masiva del suelo sin costra microbiótica.

500 um

El haber utilizado dos técnicas de secado para una misma muestra en forma sucesiva, permitió identificar las estructuras morfológicas de anclaje (rizoides y ricinas) y la presencia de cianobacterias, las cuales tienden a ser susceptibles a la deshidratación. Igualmente fue posible observar los exudados gomosos y envolturas mucilaginosas que por lo general aparecen condensados o de manera borrosa en la superfície del especimen [19]. Con relación a los resultados obtenidos mediante el *Test*

de Agregados de Emerson, se observó que después de 2 h 20 min los agregados de costra microbiótica en inmersión permanecen prácticamente sin variar. Se aprecia hinchamiento en las muestras y escaso residuo de arcilla en el fondo de cada recipiente; durante este tiempo se apreció la expulsión de burbujas, lo que puede interpretarse como salida de aire atrapado entre los poros. En la muestra sin costra, en los primeros 3 min, los

agregados colapsaron formando una pluma de sedimento en el fondo del reciente. Aún después de 10 días, los agregados de costra microbiótica permanecían sin colapsar, aumentando el residuo arcilloso en el fondo. Consecuentemente, la ruptura de los agregados con costra por colapso es muy baja a nula considerándolos entonces como estables según la escala verbal de Emerson, mientras que la ruptura de los agregados sin costra fue alta por lo que se les consideran inestables. De acuerdo con los resultados, los agregados secos de costra microbiótica se humedecen lentamente lo cual depende del volumen interno disponible en el agregado y por ende de la cohesión. Lo anteriormente explicado indica que la presencia de componentes orgánicos tales como rizoides. ricinas, exudados gomosos y polisacáridos previenen un rápido humedecimiento de la costra mitigando el colapso de los agregados. Diversas investigaciones señalan lo contrario, resaltando que los organismos de las costras biológicas se expanden cuando se mojan provocando el cierre de los poros de la matriz del suelo y originando superficies hidrofóbicas [20]. La costra que crece en Quíbor, promueve la formación de micro agregados estables al agua. Posiblemente, la acción mecánica simultánea de los rizoides y ricinas es una propiedad particular que aminora el efecto de taponamiento porque genera más espacios libres lo cual facilita la infiltración. El efecto hidrofóbico que consiguiera ocasionar los exudados, mucílago y restos orgánicos, pudiera verse atenuado por el grado de descomposición de los componentes orgánicos [21] y/o por la evolución de la costra la cual pareciera presentar un estado de medio a avanzada evolución siendo más estable en comparación con costras más recientes [22].

Con base en los resultados anteriores, se propone un modelo para explicar el proceso de iniciación y estabilización de micro agregados por organismos vivos en la costra microbiótica, a través de dos mecanismos:

Colombia: Universidad Nacional de Colombia. 154p.

Acta Microscopica Vol. 23, No.2, 2014, pp. 136-143

- A. Efecto mecánico debido a la penetración y relleno de rizoides y ricinas en los dos primeros 2 mm de profundidad generando un cambio en la estructura física y naturaleza biológica de la superficie del suelo.
- [3] Johansen, J. (1993) "Cryptogamic crust of semiarid and arid lands of North America" *Journal Phycology*. 29:140-147.
- B. Efecto del material adhesivo proveniente de las cianobacterias y mucílagos de hifas de líquenes, generando una interfase entre el compuesto orgánico y las partículas minerales.
- [4] Eldridge, D., y Greene, R. (1994) "Microbiotic soil crust: A review of their roles in soil and ecological processes in the Rangelands of Australia" Australian Journal Soil Research. 32: 389-415.

CONCLUSIONES

[5] Bailey, D., Mazurak, P y Rosowski, J. (1973) "Aggregation of soil particles by algae". *Journal Phycology*, 9:99-101.

Desde el punto de vista de la física de suelo, los componentes biológicos de la costra promueven la formación de micro agregados y por tanto la porosidad del suelo en la zona árida de Quíbor. Ambos componentes protegen al suelo de la erosión hídrica, pues facilita el paso de agua, es decir, la infiltración lo que disminuye la escorrentía con el consecuente desprendimiento y transporte selectivo de partículas inorgánicas y orgánicas. El método de doble secado de las muestras de suelo con costra microbiótica permitió observar las diferentes estructuras morfológicas de anclaje y cianobacterias.

[6] Campbell, S., Seeler, J., y Golubic, S. (1989) "Desert crust formation and soil stabilization" *Arid Soil Research. Rehab.* 3: 217-228.

AGRADECIMIENTOS

[7] Oades, J. (1993) "The role of biology in the formation, stabilization and degradation of soil *structure*" *Geoderma*. 56: 377-400.

Al Laboratorio de Microscopía y Microanálisis, Proyecto Lab-2001001442, FONACIT y al Vicerrectorado de Investigación y Postgrado de la UPEL, Instituto pedagógico de Caracas. Proyecto Número 08-078, 04062008.

[8] Dorioz, J., Robert, M y Chenu, C. (1993) "The role of roots, fungi and bacteria on clay particle organization. An experimental approach" Geoderma. 56: 179-194.

REFERENCIAS

- [9] Malam, O., Le Bissonnais, Y., Défarde, C y Trichet, J. (2001) "Role of cyanobacterial cover on structural stability of sandy soils in the Sahelian part of western Niger" *Geoderma*. 101: 15-30.
- [1] Urquiaga, S. (1988) "A estructura do solo. En curso Física de suelos". Escuela Latinoamericana de Física de Suelos, *EMBRAPA*. Sao Carlos, Brasil. 25p.
- [10] Eldridge, D y Rosentreter, R. (1999) "Morphological groups: a framework for monitoring microphytic crusts in arid landscapes" *Journal of Arid Environments*. 41: 11-25.
- [2] Gómez, E. (1999) "Procesos Erosivos: Estrategias para su caracterización e implementación de sus prácticas básicas de control y prevención"

- [11] Karnosvsky, M. J. (1965) "A formaldehydeglutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscop" *J. Cell Biol.* 27: 137-8A.
- [12] Bozzola J. J. and Russell L. D. (1992) Electron Microscopy: Principles and Techniques for Biologists, Jones and Bartlett, Boston, MA, 40–53.
- [13] Department of Sustainable Natural Resources. (1997). "Emerson Aggregate Test". Soil Survey Standart Method. 1-4.
- [14] Stal, L. (1995) "Physiological ecology of cyanobacteria in microbial mats and other communities" New Phytologist. 131: 1-32.
- [15] Malam, O., Trichet, J., Défarge, C., Couté, A y Valentin, C. (1999) "Morphology and microstructure of microbiotic soil crusts on a tiger bush sequence (Niger, Sahel)" *Caten.* 37: 175-196.
- [16] Belnap, J y Gardner, J.(1993) "Soil microstructure in the soil the Colorado plateu: The role of the cyanobacterium Microcoleus vaginatus" *Great Basin Naturalist*. 53:40-47.
- [17] Zhang, Y., Wang, H., Wang, X., Yang, W y Zhang, D. (2006) "The microstructure of microbiotic crust and its influence on wind erosion for a sandy soil surface in the Gurbantunggut Desert of Northwestern China" Geoderma. 132: 441-449.
- [18] Wu, N., Zhang, Y. M., Pan, H. X. and Zhang, J.(2010) "The Role of Nonphotosynthetic Microbes in the Recovery of Biological Soil Crusts in the Gurbantunggut Desert, Northwestern China" Arid Land Research and Management. 24(1): 42 – 56.

- [19] Hernández-Mariné, M., Clavero, E. y Roldán, R. (2004). "Microscopy methods applied to research on cyanobacteria" *Limnetica* 23(1-2): 179-186.
- [20] Kidron, G., Yaalon, D. y Vonshak, A. (1999). "Two causes for runoff initiation on microbiotic crusts: hydrophobicity and pore clogging". Soil Science. 164 (1): 18-27.
- [21] Fischer, T., Veste, M., Wiehe, W. y Lange, P. (2010). "Water repellency and pore clogging at early successional states of microbiotic crusts on inland dunes, Branderburg, NE Germany" *Catena*.80: 47-52.
- [22] Chamizo, S., Rodríguez, E., Miralles, I., Afana, A., Lázaro, R., Domingo, F., Calvo, A., Sole, A. y Cantón, Y. (2010). "Características de las costras físicas y biológicas del suelo con mayor influencia sobre la infiltración y la erosión en ecosistemas semiáridos" *Pirineos*. 165: 69-96.