

Efecto del compost en la diversidad de bacterias rizosféricas del cultivo de morera (*Morus alba*)

Effect of compost on the rhizospheric bacteria diversity in mulberry (*Morus alba*) crops

Iván Enrique Paz Narváez*; Juan Carlos Menjivar Flores**

DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.79971

RESUMEN

La producción orgánica de seda incluye la aplicación de compost como práctica de cultivo en morera (*Morus alba*), sin embargo, el efecto de la fertilización orgánica en las poblaciones de bacterias rizosféricas no siempre es positivo. Para evaluar el efecto del compost en la diversidad de bacterias rizosféricas en cultivos de morera (*Morus alba*), se aplicaron 0, 0.25, 0.5 y 1 kg.m⁻² de compost a parcelas con morera dispuestas en un diseño en bloques completos al azar. De cada parcela se extrajo ADN del suelo rizosférico a los 0, 5, 10 y 90 días de aplicado el compost y se amplificó la región V4 del gen ADNr 16S para su secuenciación y asignación taxonómica de los OTUS. Los índices de diversidad alpha mostraron la dominancia de algunos grupos taxonómicos, como los phyla *Proteobacteria* y *Acidobacteria* y los géneros *Pseudomonas*, *Opitutus*, *Luteolibacter* y *Nitrospir*. La diversidad beta indicó similitud entre las muestras influenciadas por la aplicación compost y el incremento de la diversidad en las parcelas muestreadas al final del experimento (90 días). Los grupos taxonómicos dominantes se caracterizan por su función en el ciclo del nitrógeno. Así, se concluyó que la aplicación de 1 kg.m⁻² llevó al aumento de la humedad del suelo, el pH y la disponibilidad de nutrientes, lo que incrementó la diversidad de bacterias rizosféricas con cambios positivos en composición, riqueza y abundancia en los niveles de orden, familia y género.

Palabras clave: Sericultura, compost, rizosfera, metagenómica y secuenciación.

ABSTRACT

The organic silk production includes the application of compost as cultivation practice to the mulberry crop. However, the effect of the organic fertilization on populations of rhizospheric bacteria is not always positive. To evaluate the effect of compost on the diversity of rhizospheric bacteria in mulberry crops (*Morus alba*), 0, 0.25, 0.5 and 1 kg.m⁻² of compost was applied to mulberry plots arranged in a completely randomized blocks design. From each plot, DNA was extracted from the rhizospheric soil at 0, 5, 10 and 90 days after compost was applied and the V4 region of the 16S rDNA gene was amplified for its sequencing and taxonomic assignment of the OTUS. Alpha diversity indices showed the dominance of some taxonomic groups, such as the phyla *Proteobacteria* and *Acidobacteria*, and the genera *Pseudomonas*, *Opitutus*, *Luteolibacter* and *Nitrospira*. The beta diversity indicated similarity between the samples influenced by the compost application and the increase of the biodiversity in the plots sampled at the end of the experiment (90 days). The taxonomic groups dominated are characterized by their role in the nitrogen cycle. Thus, it was concluded that the application of 1 kg.m⁻² of compost led to the increase of ground humidity, soil pH and nutrient availability which increased the rhizospheric bacteria diversity with positive changes in composition, richness and abundance at order, family and genera levels.

Key words: Sericulture, compost, rhizosphere, metagenomics and sequencing.

Recibido: noviembre 15 de 2018

Aprobado: mayo 15 de 2019

* Ingeniero Agrónomo. PhD. Ciencias Agrarias. Profesor Titular. Universidad del Cauca. Popayán, Cauca, Colombia, ipaz@unicauca.edu.co.

** Ingeniero Agrónomo. PhD. Ciencias del suelo. Profesor Titular. Universidad Nacional de Colombia. Palmira. Valle del Cauca, Colombia, jcmenjivarf@unal.edu.co.

INTRODUCCIÓN

La diversidad bacteriana es un tema de trascendencia, puesto que cumple funciones relacionadas con la nutrición al intervenir directamente en los ciclos biogeoquímicos, la producción de sideróforos (Camelo *et al.*, 2011), la promoción del crecimiento de las plantas mediante la producción de sustancias orgánicas (Beltrán 2014; Ortiz *et al.*, 2016) y el control biológico sobre organismos patógenos (Compant, *et al.*, 2005).

Investigaciones realizadas, sugieren que el uso de abonos orgánicos compostados producen cambios en la diversidad bacteriana asociada a la rizósfera de diferentes cultivos, reflejados en la abundancia y estructura (Julca, 2001a) 2006; Fujino *et al.*, *et al.*, (2008) observed an increase in both resistance and 2008).

Es de resaltar que el estudio de la relación entre las alteraciones que se dan al interior de las comunidades bacterianas, el manejo de los cultivos y las características de los ambientes particulares como suelo y agua entre otros, se han facilitado con el estudio de los metagenomas (Cortés *et al.*, 2014), los cuales parten de la extracción del ADN de las muestras, el clonado de fragmentos de ADN, la amplificación de secuencias del gen ADNr 16S con cebadores universales, y finalizan con la secuenciación y asignación taxonómica para su respectivo análisis mediante indicadores de diversidad alpha, beta y gama (Montenegro, 2012).

En Colombia no existen estudios metagenómicos relacionados con la rizósfera de morera (*Morus indica*), planta que es usada como único alimento para la cría del gusano de seda *Bombix mori*, adicionalmente tiene la capacidad de crecer bien en zonas templadas y tropicales, es muy extractora de nutrientes, de ahí que su producción dependa de la disponibilidad en el suelo o del suministro (Pentón *et al.*, 2016), sin embargo, la aplicación de fuentes orgánicas compostadas no siempre han causado beneficio a este cultivo especialmente cuando se usa compost de mala calidad, (Bello *et al.*, 2011).

En Colombia, y para el caso específico del Departamento del Cauca no existen estudios que evalúen tal efecto sobre el rendimiento de la morera, ni tampoco sobre la diversidad de las bacterias rizosféricas, razón por la cual se planteó como objetivo para esta investigación, indagar el efecto que causa el uso de fuentes orgánicas compostadas a partir de residuos de sericultura sobre la diversidad genética bacteriana asociada a la rizosfera de morera.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y caracterización de la zona de estudio

Esta investigación se realizó en la unidad productiva denominada Parcela 17, ubicada en la vereda Clarete Alto, municipio de Popayán (Dpto. del Cauca), a 2056 msnm, con coordenadas 2°29.38" N - 76°30.26" W, 18°C promedio anual de temperatura, precipitación entre 1850 y 2300 mm y la humedad relativa entre 68 y 82 % (Paz y Ospina, 2014), propiedad de Carlos Gurrute, Sericultor con más de diez años de antigüedad.

Diseño experimental y descripción de parcelas experimentales

El suelo experimental derivado de cenizas volcánicas se caracterizó por ser franco arenoso; con pH de 5.0, contenido de Materia orgánica de 5%, disponibilidad baja de nitrógeno y fósforo, y alta de potasio. En cuanto al manejo, durante el último año solo se le había aplicado compost elaborado con residuos de cosecha y cría de gusano en dosis de 0,5 Kg.m² por corte (cada 120 días).

Se empleó un compost elaborado por los mismos investigadores con residuos provenientes de la cría del gusano de seda *Bombix mori*, en La Parcela 17 (lugar de investigación), mediante el método de pila abierta bajo cobertura y condiciones controladas, monitoreado por 170 días y evaluado en sus propiedades físicas, químicas y biológicas, calificándose según la norma ICONTEC 5167 apto para su aplicación en el suelo, cuya diversidad bacteriana identificada mediante ADN metagenómico, a partir de fragmentos de 200 a 300 pb de la región hipervariable V4 del gen 16S y secuenciación por el método ILLUMINA Miseq, se determinó que estaba dominada por los filos *Proteobacteria*, *Firmicutes* y *Actinobacteria*, y los géneros *Agromyces*, *Pseudomonas*, *Candidatus solibacter*, *Candidatus korinebacter*.

Para el desarrollo del ensayo, se podaron las plantas de morera y se establecieron 12 parcelas experimentales, utilizando un diseño en bloques completos al azar, con 4 tratamientos conformados por un control y 3 bloques. Cada una de ellas compuesta por 16 plantas, para un total de 192 plantas de morera de 7 años de edad sembradas a distancia de 0,4 m entre plantas y 0,8 m entre surcos y dispuestas en un área experimental efectiva de 5,5 m².

Los tratamientos dispuestos para el experimento fueron los siguientes:

T0 (Control) Suelo cultivado con morera sin ninguna aplicación.

T1 Suelo cultivado + aplicación de compost en dosis de 0,25 Kg.m⁻² por corte (50% menos de la dosis aplicada normalmente por sericultores).

T2 Suelo cultivado + aplicación de compost en dosis 0,5 Kg.m⁻² por corte (dosis aplicada normalmente por sericultores).

T3 Suelo cultivado + aplicación de compost en dosis de 1,0 Kg.m⁻² por corte (100% más de la dosis aplicada normalmente por sericultores).

El compost fue aplicado alrededor del tallo de cada planta en un área de 40x40 cm, en las dosis que indica cada tratamiento, e incorporado a profundidad entre 0 y 5 cm. En cuanto a los muestreos al suelo se realizaron cuatro; antes de la aplicación del compost y a los 5, 10 y 90 días después de aplicado. Para cada muestreo se tuvo en cuenta las cuatro plantas internas de cada parcela con el fin de eliminar el efecto de borde, tomándose 5 g de suelo rizosférico en cada planta a profundidad ya mencionada. De cada parcela se conformó una muestra de 20 g y se transportaron en nevera portátil a 2°C y en lapso de tiempo menor a 24 horas fueron preparadas para la extracción del ADN en SEQMATIC y así evitar cambios en composición microbiana de la muestra (Neher *et al.*, 2013).

Extracción y secuenciación del ADN

La extracción de ADN se realizó usando el kit comercial PowerSoil™ ADN Isolation (Mo Bio Laboratories Inc., California, USA) a partir de 48 muestras de suelo, de cada muestra se tomó 0.25 g de diferentes partes. El procedimiento para aislar ADN microbiano genómico se realizó según instrucciones recomendadas por MoBio Laboratories para suelos (Storey *et al.*, 2014; De Gannes *et al.*, 2013). Para observar la integridad del ADN extraído de todas las muestras y cuantificarlo una alícuota de 2µl de cada muestra se sometió a electroforesis (80 voltios) en gel de agarosa al 1 % en tampón BE 0.5 (Montenegro, 2012), durante 30 minutos. Por último para determinar la concentración y pureza del ADN extraído en cada muestra, se utilizó el espectrofotómetro ND Colibrí de BERTHLOD.

El ADN total extraído del suelo fue enviado a SEQMATIC con sede en Fremont California en Estados Unidos, donde se amplificó fragmentos de 200 a 300 pb de la región hipervariable V4 del gen 16S, por presentar alta resolución para distinguir géneros (Mureau *et al.*, 2014; Decelle *et al.*, 2014), sobre los cuales se prepararon bibliotecas utilizando como cebadores el 515F (GTGCCAGCMGCCGCGGTAA) y 806R (GGACTACHVGGGTWTCTAAT), generadas con protocolo PCR, cuya configuración de las reacciones fue: 95°C por 10 min, 95°C por 30 segundos, 60°C por 30 segundos, 72°C por 90 segundos y 72°C por 5 minutos.

El producto de la PCR en cada muestra se limpió con perlas AMPure XP y etiquetado con códigos de barras y secuenciado por el método ILLUMINA Miseq.

La información generada por SEQMATIC se analizó a través del programa Galaxy Project versión 17.01, para mejorar la calidad de las secuencias, eliminando de cada muestra secuencias de longitud menores de 50pb y mayores de 400pb. Posteriormente se reagruparon las fracciones restantes de 20 pares de nucleótidos y con el mismo programa fueron solapadas las secuencias F y R. Posteriormente se seleccionaron aquellas muestras con más de 9000 secuencias solapadas para la nueva asignación taxonómica de OTUS mediante el programa QIIME versión libre.

Variables evaluadas

Para el análisis de las secuencias se cuantificó el número de OTUS, la abundancia en función de la frecuencia relativa de cada unidad taxonómica asignada, las diversidades alpha y beta, y la variación en el número de unidades taxonómicas identificadas por efecto de los tratamientos.

La diversidad alpha representa la riqueza de una comunidad estimada a nivel local (García *et al.*, 2016) siendo definida dentro de cada parcela experimental, y medida a partir de los índices de Simpson, inverso de Simpson y Shannon. La diversidad beta representa el grado de similitud o disimilitud entre las comunidades obtenidas en un área mayor (García *et al.*, 2016), esta se obtuvo a partir la comparación de muestras por tratamientos mediante los índices de Jaccard y Sorensen. Finalmente, se estimó la variación en el número de unidades taxonómicas identificadas por efecto de los tratamientos, representada en la dinámica de los grupos que surgen y que disminuyen por efecto de la aplicación de compost a través del tiempo.

Los datos fueron analizados mediante el programa libre Galaxy Project versión 17.01, suministrado por la Universidad Johns Hopkins. Posteriormente fueron seleccionadas las muestras con más de 9000 secuencias solapadas para la nueva asignación unidades taxonómicas operativas (UTOS) en ingles OTUS utilizando el programa QIIME versión libre (Caporaso *et al.*, 2010)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto a las muestras de suelo el resultado de 2649264 de secuencias solapadas provenientes de 48 muestras permitió la clasificación de 253469 OTUS unidades taxonómicas operativas), cuya distribución en relación con el número de secuencias, indicó que en aquellas muestras donde se obtuvo menos de 150000 secuencias, se encontró mayor concentración de OTUS

Tabla 1: Índices de diversidad alpha por tratamiento (a) y a través del tiempo (b).

(a) **Por tratamiento**

Trat.	Simpson	Cv	Simpson_e	Cv	Shannon	Cv
T0	0.98	3.1	0.036	111.1	8.32	15.0
T1	0.96	5.0	0.030	147.6	8.30	24.1
T2	0.96	5.2	0.034	194.9	8.57	10.7
T3	0.98	8.5	0.045	121.3	8.54	26.1

(b) **A través del tiempo**

Muestreo	Simpson	Cv	Simpson_e	Cv	Shannon	Cv
Antes	0.976	0.1	0.038	79.3	8.80	13.9
5 días	0.964	2.2	0.034	88.8	8.89	12.6
10 días	0.967	5.0	0.033	168	8.28	20
90 días	0.925	0.5	0.057	113	8.79	26.1

o de niveles de interés taxonómico expresando de mayor diversidad en el rango de secuencias mencionado. El análisis de la diversidad se presenta a continuación.

Índices de diversidad Alpha y Beta

Para la diversidad Alpha, el índice de Simpson generó valores cercanos a uno (tabla 1a) en todos los tratamientos, sin diferencias significativas entre ellos ($\alpha=0.05$), manifestando que algunos grupos taxonómicos dominaban sobre otros existentes, lo que se expresó en la mayor frecuencia relativa. El índice inverso de Simpson, osciló con valores muy bajos entre 0.030 y 0.045 indicando que las muestras evaluadas tenían grupos taxonómicos compuestos por alto número de individuos, y el índice de Shannon que osciló entre 8.3 y 8.57, reflejó mayor riqueza en los tratamientos T2 (dosis normal) y T3 (doble dosis) lo cual se pudo comprobar al identificarse mayor número de grupos taxonómicos a nivel de familia y género ($\alpha=0.05$).

Para los resultados obtenidos a través del tiempo según el momento del muestreo (tabla 1b) el índice de Simpson también indicó dominancia de algunos grupos taxonómicos, pero sin diferencias significativas entre los tres primeros muestreos ($\alpha=0.05$). De donde se puede inferir que a los 90 días (periodo bajo influencias de lluvias) la dominancia presentada en los primeros muestreos había disminuido en favor de una mayor riqueza y equidad, causada por los cambios de pH y humedad ocurridos en el suelo, comprobándose esto al observarse mayor

número de grupos taxonómicos a nivel de familia y género en este muestreo. El inverso de Simpson detectó disminución en el número de individuos por grupo a los 90 días, mientras que Shannon registró menor riqueza en el muestreo tomado a los 10 días, comprobándose posteriormente que en este periodo ocurrió una disminución de grupos taxonómicos a nivel de familia y género, como se detallará más adelante.

Los índices anteriores sugirieron un reacomodamiento en el número de individuos por grupo en pro de la estabilidad natural de la comunidad bacteriana con el paso del tiempo, luego del cambio causado en la rizosfera por efecto de la poda de las plantas de morera y el manejo del suelo, tal como lo registran Culman *et al.* (2006), puesto que encontraron con el paso del tiempo recuperación de las estructuras bacterianas de la comunidad del suelo en un sistema de cultivo de arroz-trigo, luego de ser afectadas con perturbaciones por manejo, solarización y temperatura.

Con relación a la diversidad beta medida en función de Jaccard y Sorensen (figuras 1 y 2), los valores sugirieron mayor variación solo al comparar el tratamiento T0 contra los demás, mostrando rangos que se incrementaron a través del tiempo y expresaron ganancia en la similitud hacia el último muestreo (90 días) y recuperación frente a las condiciones iniciales. En contraste en el caso de los tratamientos donde se aplicó compost (T1, T2 y T3) la tendencia de estos índices, a través del tiempo, fue decreciente

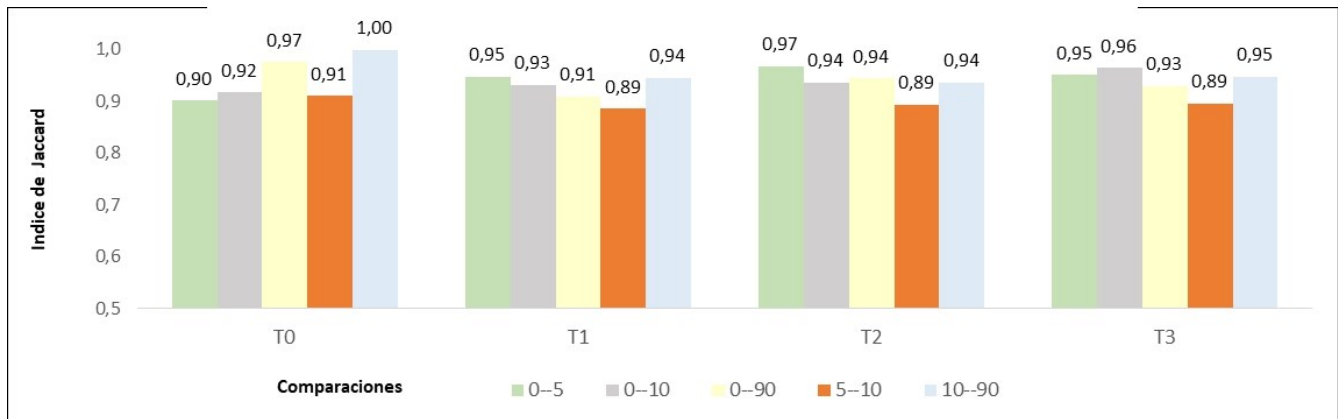


Figura 1. Índices de diversidad Beta, Jaccard por tratamiento a través del tiempo.

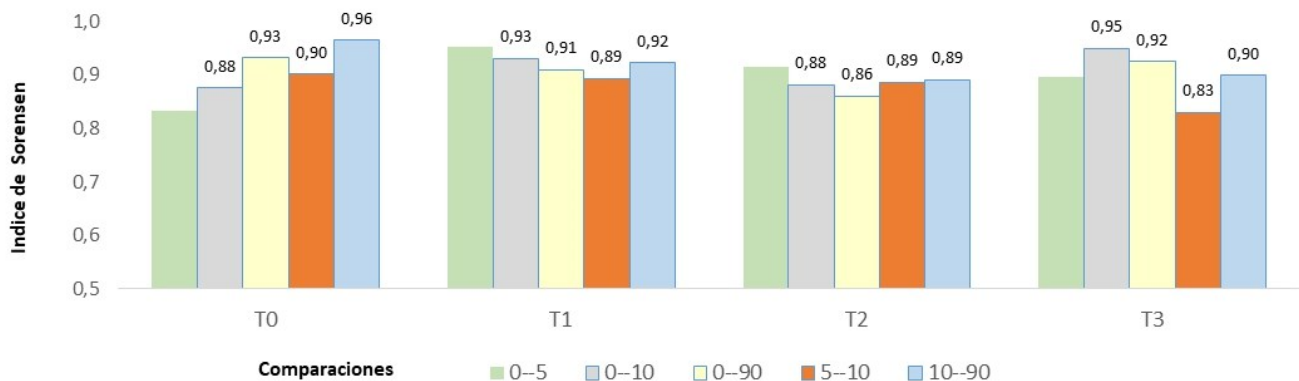


Figura 2. Índices de diversidad Beta por Sorensen por tratamiento a través del tiempo.

con el aumento de la dosis, indicando que las poblaciones fueron más disimiles en T3 y al final del periodo.

La tendencia anterior coincidió con el aumento de las unidades taxonómicas identificadas ocurridas a los 5, 10 y 90 días, especialmente en los niveles de familia y género, debido a los beneficios que el compost aportó (Carbono, nutrientes y energía). En consecuencia entre mayor disponibilidad de material orgánico descompuesto existió en la rizosfera, mayor fue la posibilidad de que se sustentara una población microbiana más grande y diversa en el suelo (Guerrero, 2012).

Al comparar la diversidad beta entre el muestreo tomado a los 5 días contra el tomado a los 10 días en términos generales, Jaccard y Sorensen detectan una disminución en la similitud, mostrando que algún factor influyó sobre las poblaciones alterando su abundancia. En contraste se observó una recuperación de similitud en el periodo comprendido entre los 10 y 90 días en todos los tratamientos.

Esta tendencia se asoció con la actividad radical, especialmente en el periodo comprendido entre el día 20 y 25 después de poda (muestreo a 10 días), cuando la raíces están en proceso de degradación, lo que pudo generar cambios en la excreción y secreción exudados al suelo y cambios en la composición de las poblaciones bacterianas según su hábito y metabolismo (Marshner, 2012).

Composición y abundancia bacteriana por efecto del compost aplicado

En la figura 3 se observa el incremento en el número de unidades identificadas en la medida en que aumenta la especificidad bacteriana. De igual manera, al comparar el número de OTUS por tratamiento, se observa que en todas las categorías taxonómicas se incrementó el número con respecto a T0, especialmente en T2 (dosis normal) y T3 (doble dosis) con diferencia del 30% entre estos dos, en favor del tratamiento T3.

Lo anterior permitió inferir que los aportes de C y principalmente de N y P realizados por las dosis

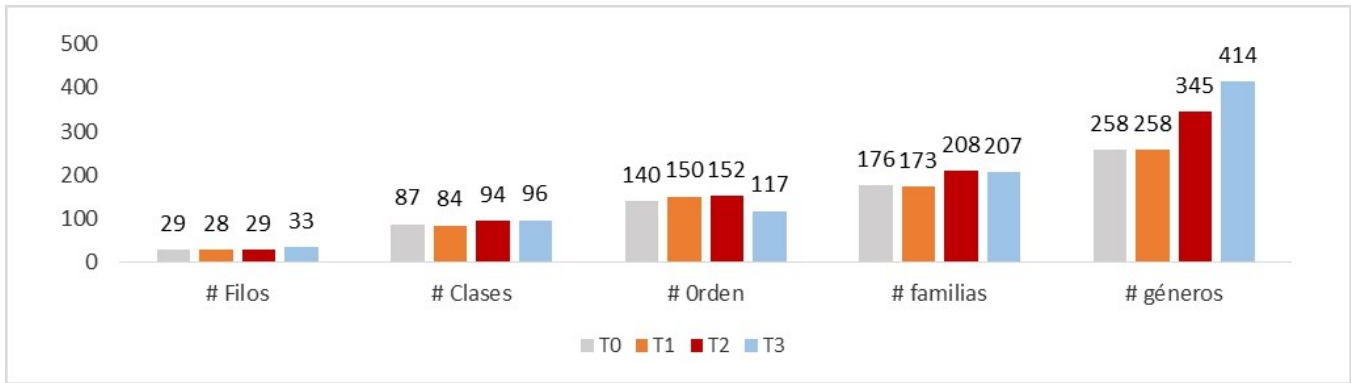


Figura 3. Número de grupos taxonómicos identificados por tratamiento.

Tabla 2. Comparación de grupos taxonómicos más abundantes en ecosistemas cultivados sin y con aplicación de compost.

Nivel	Tratamiento	Grupo taxonómico dominante			
Phylum	Sin compost	<i>Proteobacterias</i>	<i>Acidobacteria</i>	<i>Actinobacteria</i>	<i>Verrucomicrobias</i>
	Con compost	<i>Proteobacteria</i>	<i>Acidobacteria</i>	<i>Verrucomicrobia</i>	<i>Actinobacteria</i>
Clase	Sin compost	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Actinobacteria</i>
	Con compost	<i>Alphaproteobacteria</i>	<i>Gammaproteobacteria</i>	<i>Acidobacteria 6</i>	<i>Actinobacteria</i>
Orden	Sin compost	<i>Actinomycetales</i>	<i>Acidobacteriales</i>	<i>RB41</i>	<i>Pedosphaerales</i>
	Con compost	<i>Xanthomonadales</i>	<i>iii-15</i>	<i>Actinomycetales</i>	<i>RB41</i>
Familia	Sin compost	<i>Koribacteraceae</i>	<i>Chthoniobacteracea</i>	<i>Sinobacteriaceae</i>	<i>Enterobacteriaceae</i>
	Con compost	<i>Sinobacteriaceae</i>	<i>Xanthomonadaceae</i>	<i>Pseudomonadaceae</i>	<i>Opituteceae</i>
Género	Sin compost	<i>Ellin 506</i>	<i>Candidatus Solibacter</i>	<i>Candidatus Korinebact Serpens</i>	
	Con compost	<i>Pseudomonas</i>	<i>Opitutus</i>	<i>Luteolibacter</i>	<i>Luteimonas</i>

mayores de compost favorecieron la diversidad bacteriana del suelo incrementándola en función de su riqueza, factor importante para la estabilidad del ecosistema (Conforto *et al.*, 2012; Zhong *et al.*, 2010) especialmente en los niveles; orden, familia y género.

Grupos bacterianos dominantes

En las muestras de suelo con influencia de compost se encontraron entre los grupos taxonómicos dominantes a los filos: *Proteobacteria* con frecuencia relativa entre 58 y 80%, *Acidobacteria* entre 7 y 17% y *Verrucomicrobia* entre 4 y 11%; las clases *Alphaproteobacteria* (entre 28 y 61%), *Gammaproteobacteria* (9 y 18%) y *Acidobacteria 6* (4 y 8%); dentro de los órdenes *Xanthomonada-*

les (11 y 15%), *iii-15* (10 y 11%) y *Actinomycetales* (6 y 10%); entre las familias *Xanthomonadaceae* (6 y 11%), *Sinobacteriaceae* (7 y 10%) y dentro de los géneros *Pseudomonas* (2 y 11%), *Opitutus* (4 y 7%), *Luteimonas* (3 y 6%), *Luteolibacter* (3 y 5%) y *Nitrospira* (3 y 4%). Se infirió que es posible que los Nitratos provenientes del compost, hayan causado el dominio de *Pseudomonas* y *Opitutus* por ser reductoras de nitratos, y el nitrógeno orgánico mineralizado haya permitido el crecimiento de *Luteolibacter* y *Nitrospira*.

Al comparar los grupos dominantes existentes en las muestras sin aplicación y con aplicación de compost se observa en la tabla 2 que se conserva una estructura

muy parecida a nivel de *phylum* y clase, sin embargo, la composición bacteriana y su distribución cambian desde el nivel de orden posiblemente por efecto de la aplicación de compost, hasta el punto de que ningún género coincide, posiblemente debido a la presencia de poblaciones zimógenas (Gómez, Paulini y Hernández, 2010)

También fue posible cuantificar que la dominancia existente de algunos grupos taxonómicos disminuyó en la medida en que aparecieron nuevos grupos. Así como también se determinó que en aquellas parcelas donde se aplicó la mayor dosis de compost se dieron los mayores cambios incrementándose la diversidad bacteriana en función de la riqueza, esto pudo ocurrir por la mayor disponibilidad de N y P presente en el suelo. Hu *et al.* (2011), y Guerrero (2012) afirman que estos nutrientes son clave en el crecimiento de tal diversidad, especialmente el fósforo. Autores como Julca, (2001a). (2006) reporta incrementos de la diversidad bacteriana en suelos cultivables por influencia de las aplicaciones de materia orgánica, y otros como Conforto *et al.* (2012), encontraron que las comunidades microbianas en suelos con fertilización orgánica presentaron cambios en la biodiversidad, sugiriendo que esto se debió a la mayor utilización de sustratos carbonados y la mayor disponibilidad de nutrientes en el suelo.

Variación en el número de unidades taxonómicas identificadas

A pesar de la diversidad bacteriana existente en los suelos T0 (suelo sin aplicación de compost); 29 filos, 87 clases, 140 órdenes, 166 familias y 258 géneros, se encontró en este entorno menor cantidad de unidades taxonómicas con respecto a T1, T2 y T3, lo que puede estar relacionado principalmente con el incremento de material orgánico registrado después de la aplicación del compost, lo que generó mayor disponibilidad en el suelo de C, N y P, elementos que influyen directamente en el crecimiento de la diversidad bacteriana (Hu *et al.*, 2011). Aún, si se considera que estos elementos son deficientes en suelos de Clarete Alto. Sin embargo, los cambios de pH ocurridos en el suelo, variando entre 0.7 y 1.4 unidades por efecto de tal adición también influyeron en el aumento de unidades Taxonómicas. Tal es el caso de Fernández y Baath (2010) quienes encontraron cambios en la comunidad bacteriana del suelo hasta en un 50%, cuando el pH tuvo variaciones de 1.7 unidades.

Al comparar y detallar las unidades taxonómicas que aumentaron y disminuyeron en población en cada tratamiento frente a T0 (sin compost), se observó que a nivel de *phylum* los cambios no fueron significativos para la estructura de la comunidad. A nivel de clases solo dominaron las *Gammaproteobacteria* con frecuencia relativa importante (16.7 %), al aplicarse la dosis mayor de com-

post, generando posibles cambios en la estructura bacteriana. Algunas de estas bacterias se ha definido que participan en el ciclo del carbono, otras oxidantes del ácido sulfhídrico y del metano (Shapovalova *et al.*, 2008). Las pocas clases que mostraron sensibilidad a la aplicación de compost registraron frecuencias inferiores al 1% (*Fusarium* y *Spirochaetes*), sin causar cambios significativos en la estructura.

Con relación a los órdenes, con la aplicación de las mayores dosis de compost (T2 y T3) surgieron 24 órdenes, resaltándose a *Entomoplasmatales* (4.4%), *Solilubrobacteriales* (1.7%), *Rhodospirillales* (1.5%) con las mayores frecuencias. Las entomoplasmatales, viven dentro de los intestinos o hemolinfa de insectos, no son degradadores de M.O en el suelo (Davis *et al.*, 2017). Las *Rhodospirillales* incluyen bacterias fijadoras de nitrógeno, otras oxidan el CO con gas de hidrógeno, y pueden usar sulfuro en bajas concentraciones para la reducción de CO₂ (Amoozegar *et al.*, 2013). Sobre *Solilubrobacteriales* no se encontró información disponible de carácter fisiológico. Solo las *Desulfuromonadales* que con frecuencia mayor al 1% mostraron sensibilidad al compost, al parecer debido al cambio de pH (Holmes *et al.*, 2016).

De las 77 familias surgidas luego de la aplicación de compost solo dos presentaron frecuencia mayor a 1%; *Chthoniobacteraceae* con 4.5% y *Rhodospirillaceae* con 2.8%, considerándose familias importantes dentro de la nueva estructura. Las *Chthoniobacteraceae* metabolizan el carbono orgánico proveniente de residuos vegetales y el aumento de este en el suelo favorece su presencia (Victoria *et al.*, 2012). Las *Rhodospirillaceae* algunas son heterótrofas aerobias facultativas y otras estrictamente aeróbicas son diazotróficas que habitan la rizósfera y promueven el crecimiento de las plantas. En cuanto a las 40 familias que perdieron visibilidad luego del abonamiento, ninguna registró frecuencias por encima de 1%.

Con relación a los 70 géneros que surgieron luego de la aplicación de compost y los 64 que disminuyeron hasta perder visibilidad, la variación más significativa ocurrió en T3 (mayor dosis de compost), sin embargo ninguno alcanzó frecuencia mayor a 1%, como para significar cambios considerables en la estructura bacteriana.

La disminución de los grupos taxonómicos analizados por tratamientos sugiere que la supresividad en el suelo pudo haberse manifestado impidiendo que algunas bacterias se mantuvieran en la rizósfera e interfiriendo en el restablecimiento de otras. Entre los factores que pudieron inducirla se puede mencionar al cambio de pH por la adición de compost, la mayor disponibilidad de nutrientes (De Luca y Pérez 2014) y la supresividad implí-

ta del compost utilizado (Doussoulin y Moya, 2011) inducida posiblemente por la presencia *Pseudomonas* y *Xanthomonas*, las cuales fueron encontradas en el compost (Robledo *et al.*, 2010).

CONCLUSIONES

Se evidenció un efecto sobre la diversidad bacteriana de suelos con aplicación de 1 Kg.m² de compost, mostrando cambios positivos en la composición, riqueza y abundancia en los niveles taxonómicos orden, familia y género, como consecuencia de la variación presentada por el pH y la humedad del suelo.

AGRADECIMIENTOS

Los autores expresan agradecimientos a la Universidad del Cauca por su aporte en la logística, a la Universidad Nacional de Colombia sede Palmira por la formación posgradual del primer autor y al sericultor Carlos Gurrute por facilitar el cultivo de morera para el desarrollo de esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- Amoozegar, M.A., Makhdoumi-Kakhki, A., Ramezani, M., Moshtaghi, M., Abolhassan, S., Schumann, S., and Ventosa, A. (2013). *Limimonas halophila* gen. Nov., sp. nov., an extremely halophilic bacterium in the family *Rhodospirillaceae*. *International Journal of Systematic Evolutionary Microbiology*, 63 (4), 1562-1567.
- Bello, R., García, M., Martínez, V., y Abeledo, C. (2011). Efecto de dos abonos orgánicos en el cultivo de la morera (*Morus alba*), La Habana, Cuba. *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, 18 (3), 203-206.
- Beltrán Pineda, P. (2014). La solubilización de fosfatos como estrategia microbiana para promover el crecimiento vegetal. CORPOICA. Ciencia Tecnología. *Agropecuaria*, 15 (1), 101-113.
- Camelo, M., Vera, P., Bonilla, R. (2011). Mecanismos de acción de las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal. *Revista CORPOICA - Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 12 (2), 159-166.
- Caporaso, J. G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F. D., Costello, E. K., ... & Huttley, G. A. (2010). QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data. *Nature methods*, 7(5), 335. doi:10.1038/nmeth.f.303.
- Compant, D., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., & Barka, E. (2005). Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: Principles, mechanisms of action, and future prospects. *Appl. Environ. Microbiology*, 71, 4951-4959.
- Conforto, O., Correa, A., Rovea, M., Boxler, S., Rodríguez Grastorf, J., Minteguiaga, J., Meriles, J., & Vargas Gil. (2012). Influencia de la fertilización inorgánica sobre la actividad microbiana del suelo. IAH8, diciembre. p 20.
- Cortes-Lopez, N. G., Montor-Antonio, J. J., Olvera-Carranza, C., Pena-Castro, J. M., & del Moral, S. (2014). Metagenómica: una ventana de oportunidad a nuevos genes y genomas microbianos. *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 1, 45-58.
- Culman, S.W., Duxbury, J.M., Lauren, J.G., Thies, J.E., (2006). Microbial community response to soil solarization in Nopales rice-wheat cropping system. *Soil Biology. Biochem.*, 38, 3359-3371.
- Davis Robert, E., Shao, J., Zhao, Y., Gasparich, G., Gaynor, B., and Donofriod, N. (2017). Complete Genome Sequence of *Spiroplasma citri* Strain R8 -A2T, Causal Agent of Stubborn Disease in Citrus Species. *Genome Announc.*, 5(16), e00206-17. Published online 20. doi: 10.1128/genomeA.00206-17.
- Decelle, J., Romac, S., Sasaki, E., Not, F., Mahé, F. (2014). Intracellular Diversity of the V4 and V9 Regions of the 18S rRNA in Marine Protists (Radiolarians) Assessed by High-Throughput Sequencing. *Plos one. August 9*, 1-8. doi.org/10.1371/journal.pone.0104297.
- De Gannes, V., Eudoxie, G., Hickey, W. (2013). Prokaryotic successions and diversity in compost as revealed by 454-pyrosequencing. *Bioresour. Technol.* 133, 573-580 10.1016/j.biortech.2013.01.138.
- De Luca, L., Pérez, M. (2014). Inducción de supresividad a fitopatógenos del suelo. Una estrategia para la transición agroecológica en horticultura. *European Scientific Journal*, 10, (24), 1857 - 7881.
- Doussoulin Jara, H., Moya Elizondo, E. (2011). Suelos supresivos a enfermedades radicales: Declinación el mal de pie (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) en trigo. *Revista: Agro Sur*, 39 (2), 67-78. ISSN: 0304-8802. doi: 10.4206/agrosur.2011.v39n2-01.
- Fernández-Calviño, D. and Baath E. Growth. (2010). Response of the bacterial community to pH in soils differing in pH. *Microbiology Ecology*, 1, 73 (1), 149-56. doi: 10.1111/j.1574-6941.2010.00873.
- Fujino, K., Matsuda, Y., Ozawa, K., Nishimura, T., Koshiba, T., Fraaije, M., and Sekiguchi, H. (2008). Narrow Leaf 7 controls leaf shape mediated by auxin in rice. *Molecular Genetics and Genomics*, 279, 499-507.
- García de Jesús, S., Moreno, C., Morónb, M., Castellanos, I., y Pavón, N. (2016). Integrando la estructura taxonómica en el análisis de la diversidad alfa y beta de los escarabajos Melolonthidae en

- la Faja Volcánica Transmexicana. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 87, 1033–1044.
- Gómez, Y., Paolini, J., y Hernández, R. (2010) La sustitución de la sabana nativa por plantaciones de pino y la variabilidad temporal en la biomasa microbiana y la mineralización del carbono y nitrógeno en el suelo. *Terra Latinoamericana*. Chapingo. 28 (2).
- Guerrero-Ortiz, P., Quintero-Lizaola, R., Espinoza-Hernández, V., Benedicto-Valdés, G. y Sánchez-Colín, M. (2012). Respiración de CO₂ como indicador de la actividad microbiana en abonos orgánicos de *Lupinus*. *Terra Latinoamericana*, 30 (4), 355-362.
- Caporaso, G., Kuczynski, J., Stombaugh, J., Bittinger, K., Bushman, F., Costello, E., Fierer, N., Gonzalez, A., Goodrich, J., Gordon, J., Huttley, G., Kelley, S., Knights, D., Koenig, J., Ley, R., Lozupone, C., McDonald, D., Muegge, B., Meg, P., Reeder, J., Sevinsky, J., Turnbaugh, P., Walters, W., Widmann, J., Yatsunencko, T., Zaneveld, J. y Knight, B. (2010). Métodos de la naturaleza. doi: 10.1038 / nmeth.f.303
- Holmes, D., Dang, Y., Walker, D., Lovley, D. (2016). The electrically conductive pili of *Geobacter* species are a recently evolved feature for extracellular electron transfer. *Microb Genom.*, 25, 2(8): e000072. doi: 10.1099/mgen.0.000072. eCollection Aug.
- Hu, J., X. Lin, J. Wang, J. Dai, R. Chen, J. Zhang, y M.H. Wong. (2011). Microbial functional diversity, metabolic quotient, and invertase activity of a sandy loam soil as affected by long-term application of organic amendment and mineral fertilizer. *J. Soils Sed.*, 11, 271-280
- ICONTEC. (2004). Norma técnica colombiana 5167. Editada en junio.
- Julca, A., Meneses, L., Blas, R., Bello, S. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencia de uso en la agricultura. IDESIA Arica (Chile). 24 (1), 49-6.
- Neher Deborah, A., Thomas, R., Weicht, Scott, T., Bates Jonathan, W., and Noah Fierer. (2013). Changes in Bacterial and Fungal Communities across Compost Recipes, Preparation Methods, and Composting Times. *Journal List, PLoS One*, V.8 (11). PMC3836849.
- Marschner, H. (2012). *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*, 3rd Edn London: Academic Press. p 672.
- Montenegro Gómez, S. (2012). Diversidade de bactérias diazotróficas e fixação biológica do nitrogênio na Mata Atlântica. Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Universidade de São Paulo. Doutorado em Microbiología Agrícola. Piracicaba. Brasil. p110.
- Moreau Corrie, S., Benjamin, E. R., Rubin Jon, G., Sanders Jarrad., Hampton-Marcell Sarah, M., Owens Jack, A. (2014). DNA extraction protocols cause differences in 16S rRNA amplicon sequencing efficiency but not in community profile composition or structure. *Microbiology Open*. First published: 26 September.
- Ortiz Texon, J., Delgadillo Martínez, J., Rodríguez Mendoza, M., y Calderón Zavala, G. (2016). Inoculación bacteriana en el crecimiento y calidad del fruto de cinco variedades de fresa en suelos con pH contrastante. *Terra Latinoamericana*, 34 (2), 177-185.
- Paz Concha, J., Ospina Montealegre, R. (2014). Relación bosque comunidad: estudio de caso vereda clarete alto, municipio de Popayán Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial. 12 (2), 207-212.
- Pentón-Fernández, G., Martín-Martín, G., Rivera-Espinosa, R., Martín-Alonso, G., González-Cañizares, P., Oropeza-Casanova, K. (2016). Manejo de la nutrición y la defoliación de *Morus alba* (L.) var. Tigreada para la producción de hojas. *Pastos y Forrajes*. 39 (4), 252-258.
- Robledo, O., Etchebehere, C., Lercari, D. (2010). Relación entre la estructura de la comunidad bacteriana y la supresión al ahogamiento causado por *Rhizoctonia solani* en sustratos para plántulas de tomate. Universidad de Colima. México. *Avances en Investigación Agropecuaria*, 14 (2), 67-84, ISSN 0188789-0.
- Shapovalova, A. A. Khijniak, T. V. Tourova, T. P Muyzer, G. (2008). Heterotrophic denitrification at extremely high salt and pH by *haloalkaliphilic Gammaproteobacteria* from hypersaline soda lakes. 12 (5), 619–625. doi: 10.1007/s00792-008-0166-6. PMID: PMC2525850.
- Storey, S., Ní Chualain, D., Doyle, O., Lipson, N., Do, E. (2015). Comparison of bacterial succession in green waste composts amended with inorganic fertiliser and wastewater treatment plant sludge. *Journal homepage: www.elsevier.com/locate/biortec. Bioresource Technology*, 179, 71–77.
- Victoria, R., Banwart, A., Negro, H., Ingram, J., Joosten, H., Milne, E., Noellemeyer, E., (2012). Beneficios del carbono del suelo. Capítulo de Prospectiva en el Anuario del PNUMA 2012. Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. ISBN 9789280732146. p 19-33.
- Zhong, W., Gu, T., Wang, W., Zhang, B., Lin, X., Huang, Q. and Shen, W. (2010). The effects of mineral fertilizer and organic manure on soil microbial community and diversity. *Plant Soil*, 326, 523: doi: 10.1007/s11104-009-0099-6.