



BIOACTIVIDAD DE MATERIA ORGANICA HUMIFICADA DE RESIDUOS CARBONOSOS GENERADOS EN LA ZONA MINERA DEL CARIBE COLOMBIANO

Nelson Osvaldo Valero.^{1,2}✉; Liliana Cecilia Gómez¹; Manuel Pantoja¹

¹Universidad Popular
del Cesar, Grupo de
Investigación en
Microbiología Agrícola
y Ambiental;

²Universidad de La
Guajira, Facultad de
Ciencias Básicas



nvalerov@uniquajira.edu.co

Palabras claves:

Ácidos húmicos,
fitoestimulación,
residuos carbonosos.

RESUMEN

La bioactividad de la materia orgánica humificada (MOH) comprende una serie de respuestas en la arquitectura de la raíz, el metabolismo vegetal y la comunidad microbiana de la rizosfera en plantas tratadas con diferentes fracciones húmicas; por su parte la minería de carbón a cielo abierto es una actividad que genera subproductos carbonosos que constituyen una fuente de MOH. En este trabajo se evaluaron parámetros relacionados con la bioactividad de dos tipos de ácidos húmicos (AH): 1) obtenidos mediante extracción alcalina con NaOH (AH-NaOH) y 2) obtenidos mediante actividad de bacterias que solubilizan el carbón (AH-BSC), a partir de residuos carbonosos generados en la zona carbonífera del departamento del Cesar. Para ello se realizó la extracción de los AH por los dos métodos y se realizaron ensayos para detectar cambios en la proliferación de raíces y la estimulación de la elongación de coleóptilos en trigo, además de ensayos para evaluar cambios en cantidad de ADN microbiano y el perfil metabólico (mediante el sistema Biolog- Eco plate™) de la comunidad microbiana de la rizósfera en plantas de maíz. Se encontró que el tratamiento de plántulas de maíz mediante aspersión foliar de los dos tipos de AH ocasionó incrementos en la cantidad de ADN microbiano; igualmente los dos tipos de AH también indujeron cambios en el perfil metabólico de la comunidad microbiana rizosférica; el tratamiento de coleóptilos de trigo con los dos tipos de AH genera cambios en la longitud con efectos que dependen de la concentración y a 40 ppm para AH- NaOH y 20ppm para AH – BSC, la respuesta es similar a la ocasionado por el tratamiento AIA; igualmente estas concentraciones ocasionaron incrementos significativos en la longitud radical de plántulas de trigo. El conjunto de resultados indica que los AH obtenidos de los materiales carbonosos evaluados generan bioactividad que depende del tipo de materia prima utilizada y de la concentración aplicada.

BIOACTIVITY OF HUMIFIED ORGANIC MATTER OF CARBONY WASTE GENERATED IN THE COLOMBIAN CARIBBEAN MINING AREA

KEY WORDS

Humic acids,
phytostimulation,
carbonaceous residues.

ABSTRACT

The bioactivity of humified organic matter (MOH) comprises a series of responses in root architecture, plant metabolism and the rhizosphere microbial community in plants treated with different humic fractions; On the other hand, open-pit coal mining is an activity that generates carbon by-products that constitute a source of MOH. In this work, parameters related to the bioactivity of two types of humic acids (AH) were evaluated: 1) obtained by alkaline extraction with NaOH (AH-NaOH) and 2) obtained through the activity of bacteria that solubilize carbon (AH-BSC), from carbonaceous waste generated in the coal zone of the department of Cesar. To do this, the extraction of the HA was carried out by the two methods and tests were carried out to detect changes in the proliferation of roots and the stimulation of elongation of beetles in wheat, in addition to tests to evaluate changes in the amount of microbial DNA and the profile metabolic (through the Biolog-Eco plate™ system) of the rhizosphere microbial community in corn plants. It was found that the treatment of corn seedlings by foliar spraying of the two types of AH caused increases in the amount of microbial DNA; Likewise, the two types of AH also induced changes in the metabolic profile of the rhizospheric microbial community; the treatment of wheat coleoptyls with the two types of AH generates changes in length with effects that depend on the concentration and at 40 ppm for AH-NaOH and 20ppm for AH-BSC, the response is similar to that caused by the AIA treatment; Likewise, these concentrations caused significant increases in the radical length of wheat seedlings. The result set indicates that the HA obtained from the carbonaceous materials evaluated generate bioactivity that depends on the type of raw material used and the concentration applied.

SUELOS
ECUATORIALES
48 (1 y 2): 9-15

ISSN 0562-5351

Rec.: 04.04.2018
Acep.: 08.06.2018

INTRODUCCIÓN

Un bioestimulante vegetal se define como cualquier sustancia o microorganismo que al ser aplicado a las plantas puede desencadenar mejoras en la eficiencia nutricional, tolerancia al estrés abiótico y/o mejorar las características del cultivo, independiente de su estatus nutricional (du Jardín, 2015)

Además de los efectos ampliamente conocidos sobre las propiedades físicas y químicas del suelo, las sustancias húmicas (SH) también pueden considerarse bioestimulantes vegetales debido a que exhiben bioactividad sobre las plantas, este

En suelos con baja fertilidad natural, las principales adaptaciones de las plantas incluyen cambios anatómicos en el sistema de raíces, como la hiperproducción de raíces laterales y proliferación de pelos radicales, con el consiguiente aumento de la longitud y superficie de la raíz; cambios en la geometría de las raíces que pueden estar vinculadas a una mayor rhizodeposición de exudados de aniones orgánicos y enzimas, la acidificación de la rizosfera y la asociación con microorganismos benéficos específicos (Brown et al., 2013), entonces todos estos procesos podrían estar mediados por fracciones de SH solubles, de tal forma que el desarrollo y aplicación de una tecnología basada en la aplicación de fracciones purificadas de MOH a manera de sustancias promotoras del crecimiento vegetal, podría contribuir a mejorar el desempeño de las plantas en la rehabilitación de suelos degradados, o mitigar el estrés vegetal mejorando el desempeño de plantas cultivadas en zonas marginales para la agricultura; en el caribe colombiano áreas de interés en este sentido se encuentran en los ecosistemas áridos y semiáridos, así como tierras degradadas por salinidad, minería de carbón e intensificación agrícola en los departamentos del Cesar y La Guajira.

En trabajos previos hemos encontrado que carbones poco evolucionados tipo lignito y residuos carbonosos generados en la minería de

fenómeno conduce a la estimulación del crecimiento, un mejor desempeño en suelos con baja fertilidad o bajo condiciones limitantes, una mejor eficiencia metabólica y estimulación de la población de microorganismos benéficos de la rizosfera. La bioactividad de la materia orgánica humificada (MOH) comprende una serie de efectos que conducen a respuestas en la arquitectura de la raíz, el metabolismo primario y secundario, la geometría de las raíces y la comunidad microbiana de la rizosfera en plantas tratadas con diferentes fracciones húmicas (Canellas y Olivres 2014);

carbón a cielo abierto presentan un contenido de MOH que puede ser liberada al medio a través de la biotransformación de estos materiales por microorganismos y generar efectos benéficos sobre el suelo, las plantas y la microbiota (Valero et al., 2012 Valero et al 2014., Cubillos et al 2015., Valero et al., 2016)

Otros estudios han demostrado que hay aumento de MOH en suelos rehabilitados que contienen residuos carbonosos, con respecto a suelos sin disturbio (Dick *et al.*, 2006; también se ha visto que los residuos carbonosos contribuyen al incremento de las fracciones hidrofóbicas (carbonos aromáticos y/o alquílicos) y cadenas alifáticas, importantes en la agregación del suelo (Rumpel y Kogel., 2002); se ha observado que los residuos de carbón en suelos en rehabilitación sufren procesos de mineralización y humificación y entran a hacer parte del subciclo edáfico del carbono (Rumpel y Kogel., 2004), con efectos favorables a largo plazo sobre las propiedades del suelo (Dick et al., 2006).

De acuerdo a lo anterior, resulta importante determinar la bioactividad de la MOH procedente de los carbones pobres que se incorporan o podrían incorporarse como enmiendas orgánicas a suelos rehabilitados, igualmente resulta conveniente comparar la bioactividad de fracciones de AH que se liberan del carbón mediante actividad microbiana o que se obtienen

mediante extracción alcalina; para ello, en este trabajo se presentan los resultados de algunos parámetros relacionados con respuestas a la bioactividad de AH obtenidos mediante dos

métodos (extracción alcalina y actividad microbiana) denominados AH-NaOH y AH-BSC, a partir de residuos carbonosos generados en la zona carbonífera del Cesar y la Guajira.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se obtuvieron fracciones de ácidos húmicos a partir de carbones pobres tipo lignito mediante dos metodologías: 1) extracción alcalina (AH - NaOH) siguiendo la metodología descrita por la International Humic substances society (IHSS,2007), y 2) mediante la actividad de bacterias solubilizadoras de carbón (BSC) según el protocolo descrito por Valero *et al* (2014).

Se evaluó in vitro la capacidad de los AH-NaOH para promover el alargamiento celular, mediante el ensayo de elongación de coleóptilos de trigo y se determinó una concentración que tuviera efectos similares al tratamiento con AIA a una concentración de 2,0 mgL⁻¹ (concentración determinada en ensayos previos). En un segundo experimento, se evaluaron AH- BSC, a diferentes concentraciones (20, 40 y 80 y 150 mgL⁻¹), y se comparó el efecto con el ocasionado por la concentración de AH-NaOH determinada en el experimento anterior (40 mgL⁻¹) y un tratamiento de referencia con AIA. En complemento a los ensayos anteriores se evaluó el efecto fitoestimulador de los dos tipos de AH a través de la determinación de incrementos en longitud y número de raíces en plántulas de trigo.

Para evaluar el efecto de los AH sobre la población microbiana en la rizosfera se realizó un ensayo con plantas de maíz, bajo condiciones de casa de malla, en el cual se tomó suelo rizosférico de plantas tratadas con cada tipo de AH y se realizó la extracción y cuantificación del ADN microbiano en comparación con plantas no tratadas. Adicionalmente se determinaron cambios en el perfil metabólico de la comunidad microbiana

rizosférica analizando el uso de 31 sustratos orgánicos con estructuras ecológicamente relevantes en el suelo, dentro de los que se encuentran al menos 9 exudados radicales, para ello se aplicó el sistema Biolog- Eco plate™, asumiendo que los cuales ocurren en respuesta a cambios en los exudados radiculares de las plantas tratada con AH (Preston-Mafham *et al.*, 2002).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al evaluar el efecto de los AH-NaOH, se evidenció que la concentración de 40 mgL⁻¹ indujo un mayor alargamiento del coleóptilo y raíces en las plántulas de trigo (Tabla 1). Dichos resultados indican una mayor actividad de los AH a dicha concentración, la cual resultó semejante al efecto del tratamiento con una solución de AIA a 2,0 mgL⁻¹, evidenciándose diferencias estadísticamente significativas ($P \leq 0,001$). Por otra parte se encuentra variación en la respuesta al variar las concentraciones de AH aplicados, lo cual concuerda con la típica respuesta hormonal ocasionada por las auxinas. Estos resultados podrían sugerir que los AH evaluados se comportan como fitoestimulantes de acuerdo al planteamiento de que las SH estimulan una respuesta en las células vegetales similar al de las auxinas, conocido como crecimiento ácido, el cual es promovido por la acumulación de hidrogeniones en el apoplasto como consecuencia de la actividad H⁺-ATPasa (Canellas y Olivares, 2015).

Tabla 1. Bioactividad de AH- NaOH sobre los parámetros de crecimiento de plántulas de trigo. Letras diferentes indican grupos diferentes.

Tratamiento	Longitud promedio de Coleóptilo (mm)	Longitud promedio de Raíces (mm)	Incremento promedio en el número de Raíces %, con respecto al control
Agua destilada (control)	37,60 c	38,90 b	0b
AIA 2,0 mgL ⁻¹	43,30 b	41,10 b	70a
AH-NaOH 2,0 mgL ⁻¹	25,90 d	12,36 d	15b
AH-NaOH 20 mgL ⁻¹	32 ,00c	18,86 c	0b
AH-NaOH 40 mgL ⁻¹	49,10 a	48,20 a	77a
AH-NaOH 80 mgL ⁻¹	34,60 c	15,78 cd	38ab
AH-NaOH 150 mgL ⁻¹	29,30 cd	10,60 d	8b

En la tabla 2 se observa que los AH- BSC presentan mayor actividad a una concentración de 20 mgL⁻¹, siendo ésta superior a la actividad registrada con la utilización de AH- NaOH a una concentración de 40 mgL⁻¹, en todos los parámetros de crecimiento evaluados. Sobre este aspecto, Canellas y Olivares (2014) comprobaron que la fuente de SH incide sobre el efecto de los mismos sobre el crecimiento vegetal, mostrando una mayor capacidad estimuladora del crecimiento aquellas sustancias extraídas a partir de sustratos compostados (turba, vermicompost), donde necesariamente han intervenido microorganismos. No obstante, Trevisán et al. (2010), plantea que además de la fuente, deben

considerarse otros factores, tales como la concentración de SH, la especie vegetal utilizada, la edad de la misma y las condiciones de cultivo.

En la figura 1 se observa que el tratamiento de plántulas de maíz con AH-BSC producidos por dos bacterias (*Bacillus micoydes* y *Microbacterium* sp) y por AH - NaOH, a diferentes concentraciones, ocasionaron una estimulación en la comunidad microbiana de la rizosfera, lo que se ve reflejado en el aumento del ADN microbiano total en este microhábitat, sin embargo no se evidencia un patrón definido en la respuesta al variar la concentración de AH.

Tabla 2. Comparación entre el efecto de AH- BSC vs el efecto de AH - NaOH, sobre los parámetros de crecimiento radicular y alargamiento de coleóptilos en plántulas de trigo (P≤0,001).

Tratamiento	Longitud promedio de Coleóptilo (mm)	Longitud promedio de Raíces (mm)	Incremento promedio en el número de Raíces %, con respecto al control
Agua destilada	28,50 c	24,30 c	0 b
AIA 2 mgL ⁻¹	50,20 a	32,80 a	77 a
AH-NaOH 40 mgL ⁻¹	42,50 b	28,20 b	0 b
AH-BSC 20 mgL ⁻¹	54,60 a	36,80 a	46 ab
AH-BSC mgL ⁻¹	28,20 c	24,70 d	15 b
A AH-BSC 80 mgL ⁻¹	24,40 c	23,50 c	-10 b

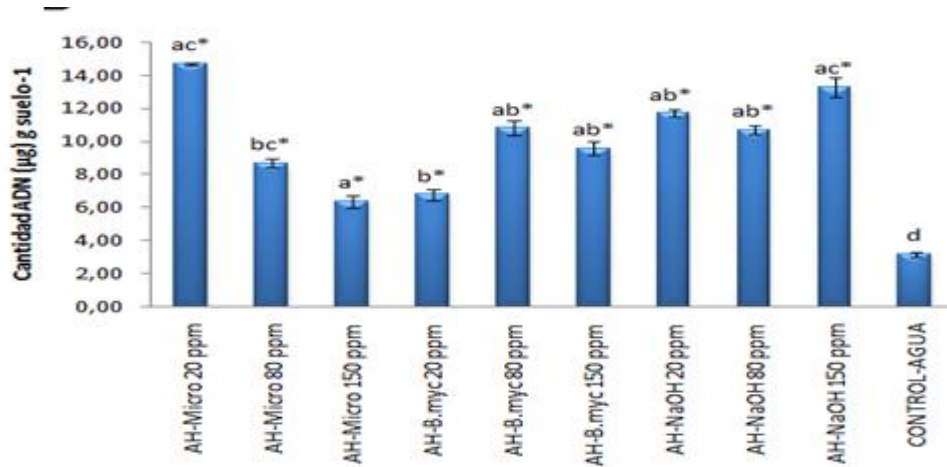


Figura 1. Efecto del tratamiento de *Zea mays* mediante aspersión foliar con AH-NaOH y AH-BSC obtenidos por dos bacterias (*AH-B. mycoides* y *AH-Microbacterium* sp) a 20, 80 y 150 ppm, sobre el ADN microbiano total en la rizósfera. Tratamientos con (*) difieren significativamente del control.

En la figura dos se presenta un análisis de componentes principales elaborado con base en resultados de los cambios en el uso de 31 sustratos orgánicos por la comunidad microbiana de la rizósfera de plantas de maíz tratadas con AH-NAOH y dos tipos de AH- BSC (producidos por dos bacterias diferentes, se evidencia que los

dos tipos de AH ocasionan cambios en el metabolismo de la comunidad microbiana rizosferica, pero con un efecto más marcado en respuesta al tratamiento con AH – NaOH, los dos tipos de AH – BSC presentan cambios menores con respecto al control pero semejantes entre los dos tipos de AH.

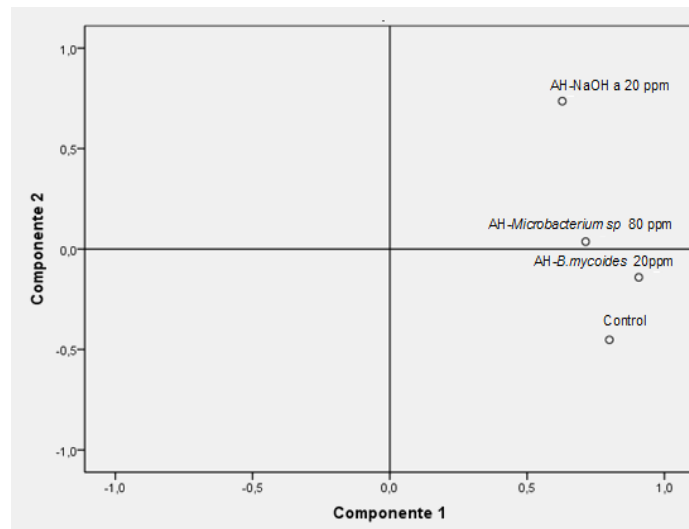


Figura 2. Análisis por componentes principales del perfil metabólico de la comunidad microbiana en muestras de suelo rizosférico de plantas de maíz tratadas mediante aspersión foliar con AH-BSC (*AH-B. mycoides* a 20ppm, *AH-Microbacterium* sp a 80 ppm) y AH-NaOH a 20 ppm.

Los resultados presentados en las figuras 1 y dos pueden explicarse por una estimulación de los AH sobre el metabolismo de la planta, lo cual influye en una mayor liberación de exudados, que consecuentemente favorecen la colonización de mayor cantidad de microorganismos en la rizosfera, población que además puede cambiar en diversidad y actividad metabólica en respuesta a los cambios en la composición de la materia orgánica exudada por las raíces de las plantas, fenómeno que ha sido previamente explicado en plantas de maíz tratadas con AH por Puglissi et al (2009).

CONCLUSION

El conjunto de resultados presenta evidencia sobre la bioactividad de los AH obtenidos de los materiales carbonosos evaluados, esta actividad fitoestimuladora puede variar depende del tipo de tratamiento (químico o microbiológico) utilizado para su obtención y de la concentración aplicada.

BIBLIOGRAFIA

- Brown, L. K., George, T. S., Dupuy, L. X., & White, P. J. (2013). A conceptual model of root hair ideotypes for future agricultural environments: what combination of traits should be targeted to cope with limited P availability?. *Annals of botany*, 112(2), 317-330.
- Canellas, L. P., & Olivares, F. L. (2014). Physiological responses to humic substances as plant growth promoter. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 1(1), 1.
- Canellas, L. P., Olivares, F. L., Aguiar, N. O., Jones, D. L., Nebbioso, A., Mazzei, P., & Piccolo, A. (2015). Humic and fulvic acids as biostimulants in horticulture. *Scientia Horticulturae*, 196, 15-27.
- Cubillos-Hinojosa, J. G., Valero, N. O., & Melgarejo, L. M. (2015). Assessment of a low rank coal inoculated with coal solubilizing bacteria as an organic amendment for a saline-sodic soil. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 2(1), 1-10.
- Dick, D. P., Knicker, H., Ávila, L. G., Inda, A. V., Giasson, E., & Bissani, C. A. (2006). Organic matter in constructed soils from a coal mining area in southern Brazil. *Organic geochemistry*, 37(11), 1537-1545.
- du Jardin, P. (2015). Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. *Scientia Horticulturae*, 196, 3-14
- International Humic Substances Society (IHSS), 2007. Isolation of IHSS Soil Fulvic and Humic Acids. www.ihss.gatech.edu/soilhafa.html
- Preston-Maffham, J., Boddy, L., & Randerson, P. F. (2002). Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilisation profiles—a critique. *FEMS Microbiology Ecology*, 42(1), 1-14.
- Puglisi, E., Fragoulis, G., Ricciuti, P., Cappa, F., Spaccini, R., Piccolo, A. & Crecchio, C. (2009). Effects of a humic acid and its size-fractions on the bacterial community of soil rhizosphere under maize (*Zea mays* L.). *Chemosphere*, 77(6), 829-837.
- Rumpel, C., & Kögel-Knabner, I. (2002). The role of lignite in the carbon cycle of lignite-containing mine soils: evidence from carbon mineralisation and humic acid extractions. *Organic Geochemistry*, 33(3), 393-399.
- Rumpel, C., & Kögel-Knabner, I. (2004). Microbial use of lignite compared to recent plant litter

- as substrates in reclaimed coal mine soils. *Soil Biology and Biochemistry*, 36(1), 67-75.
- Trevisan, S., Francioso, O., Quaggiotti, S., & Nardi, S. (2010). Humic substances biological activity at the plant-soil interface: from environmental aspects to molecular factors. *Plant signaling & behavior*, 5(6), 635-643.
- Valero Valero, N., Rodriguez Salazar, L. N., Mancilla Gomez, S., & Contreras Bayona, L. (2012). Obtaining Low Rank Coal Biotransforming Bacteria from Microhabitats Enriched with Carbonaceous Residues. *Acta Biologica Colombiana*, 17(2), 335-348.
- Valero, N., Gómez, L., Pantoja, M., & Ramírez, R. (2014). Production of humic substances through coal-solubilizing bacteria. *Brazilian Journal of Microbiology*, 45(3), 911-918.
- Valero, N., Melgarejo, L. M., & Ramírez, R. (2016). Effect of low-rank coal inoculated with coal solubilizing bacteria on edaphic materials used in post-coal-mining land reclamation: a greenhouse trial. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 3(1), 1-10.