

Nota Técnica

EFFECTO DE DIFERENTES REGIMENES DE HUMEDAD EN LA MIGRACION DEL PROTOZOARIO *Colpoda* spp. ENTRE AGREGADOS DE SUELO¹

Ronald Vargas *

ABSTRACT

Effect of soil moisture regime on protozoan migration among soil aggregates. A soil microcosm experiment is described in which the migration of *Colpoda* spp. among soil aggregates, as affected by soil moisture regime, was studied. When soil aggregates were wetted with a cell suspension containing only *Colpoda* spp., protozoan migration was rather limited. Very few protozoan cells migrated among soil aggregates at water contents below 50% of water holding capacity (W.H.C.). Even above this level, more than 90% of the aggregates remained free of protozoan cells. When the moisture regime of the soil aggregates was adjusted with suspensions of the bacterial prey *Klepsiella pneumoniae* IAM1102, at two different initial densities, plus a suspension of *Colpoda* spp., a larger number of soil aggregates was found positive for protozoan presence. At the highest moisture level and with the highest initial bacterial density, 93% of the aggregates contained protozoan cells. It is concluded that both soil moisture regime and prey density are critical factors in determining the extent of protozoan migration among soil aggregates.

INTRODUCCION

Las interacciones entre los diferentes componentes de la microbiota del suelo juegan un importante papel en las transformaciones de los nutrientes del suelo y por lo tanto, en su disponibilidad para las plantas. Elliott *et al.* (1980) postularon que los protozoarios del suelo son importantes en la aceleración del proceso de la mineralización de nutrientes inmovilizados microbiológicamente. El principal factor regulador en la dinámica de la interacción bacterias-pro-

tozoarios en el suelo es el agua (Fenchel, 1987; Foissner, 1987). Bryant *et al.* (1982), Darbyshire (1976) y Vargas y Hattori (1986) demostraron que la actividad depredadora de los protozoarios es fuertemente reducida por bajos contenidos de humedad del suelo.

Losina-Losinsky y Martinov (1930) establecieron que condiciones relativamente secas pueden limitar el efecto depredador de los protozoarios debido a su incapacidad para desplazarse dentro del suelo. Vargas y Hattori (1986) demostraron que aún cuando los protozoarios son capaces de atacar células bacterianas presentes en la zona externa de los agregados del suelo, éstos no son capaces de atacar bacterias localizadas en otros agregados debido a su incapacidad migratoria, cuando la humedad es baja.

El presente trabajo evaluó el efecto de diferentes regímenes de humedad en la migración del protozoario *Colpoda* spp. entre agregados de suelo, en presencia o ausencia de células bacterianas.

1/ Recibido para publicación el 21 de junio de 1990.
* Laboratorio de Microbiología de Suelos, Centro de Investigaciones Agronómicas, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica. Miembro del Programa de Apoyo Financiero a Investigadores Científicos del Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Tecnológicas (CONICIT) de Costa Rica.

MATERIALES Y METODOS

El presente experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología de Suelos del Instituto de Ecología Genética, Universidad de Tohoku, Sendai, Japón.

Suelo

El suelo empleado se recolectó en Kumanodou, cerca de Sendai, Japón. Las características de este suelo son las mismas descritas anteriormente por Vargas y Hattori (1986). El suelo se secó al aire y se tamizó para obtener agregados de suelo de 1 a 2 mm de diámetro. Un gramo de agregados se colocó en tubos de ensayo y se esterilizó a 120°C por 2 horas en 4 días sucesivos.

Microorganismos

Un mutante de *Klebsiella pneumoniae* IAM1102, resistente a la estreptomina, fue empleado como presa de los protozoarios (Obaton, 1971).

Se utilizó el ciliado *Colpoda* spp., aislado del suelo (Vargas y Hattori, 1986).

Humedad de los agregados de suelo

Se realizaron 3 experimentos diferentes para evaluar el efecto de la humedad en la migración de los protozoarios inoculados entre agregados de suelo:

Experimento I: el contenido de humedad de los agregados de suelo (Cuadro 1), fue ajustado adicionando una suspensión de células activas de *Colpoda* spp. (aproximadamente 61 ± 7 células/ml) sin *K. pneumoniae* IAM1102.

Experimento II: la humedad de los agregados de suelo fue ajustada adicionando una suspensión de $3,2 \times 10^5$ células de *K. pneumoniae* IAM1102/ml, hasta que se alcanzó 75% de la humedad deseada. El 25% restante se alcanzó mediante la inoculación de una suspensión conteniendo células activas de *Colpoda* spp. de igual manera que en el Experimento I.

Experimento III: se procedió de igual forma que en el Experimento II, con la excepción de que la densidad inicial de *K. pneumoniae* IAM1102 fue de 8×10^8 células/ml.

Incubación

Luego de la inoculación y ajuste de la humedad, todos los tubos conteniendo los agregados de suelo fueron incubados a 27°C durante una

semana, en una cámara húmeda para evitar la pérdida excesiva de humedad por evaporación.

Enumeración

Al cabo de una semana de incubación a 27°C, cada uno de los agregados (conteniendo *Colpoda* spp.), fue colocado dentro de un anillo de vidrio (2,5 cm de diámetro), al cual se le agregó con anterioridad una suspensión de 3×10^9 células de *K. pneumoniae* IAM1102/ml de acuerdo a la metodología descrita por Singh (1946). Durante este proceso se tuvo cuidado de no destruir los agregados. La presencia de *Colpoda* spp. en cada uno de los agregados se determinó microscópicamente luego de 3 días de incubación a 27°C. Se asumió que la presencia de protozoarios en cada uno de los agregados analizados, en función del contenido de humedad de los mismos, era la resultante de su multiplicación, dispersión y migración en el sistema.

El número promedio de agregados/g de suelo fue 528 ± 54 (N=10) luego de su esterilización. El número de repeticiones por tratamiento fue de 3.

RESULTADOS

Los resultados obtenidos en el Experimento I (Cuadro 1) demostraron que *Colpoda* spp. es capaz de migrar de un agregado de suelo a otro a través de las películas de agua que conectan agregados adyacentes como resultado del aumento en la humedad del suelo. En condiciones inferiores a un 50% de la capacidad de retención de humedad (C.R.H.), muy pocos protozoarios pudieron dispersarse y migrar debido a limitaciones hídricas. Bajo estas condiciones, los protozoarios inoculados pueden ser considerados como una masa o unidad de células adicionadas, de la cual la mayoría se enquistó, mientras que un reducido grupo pudo desplazarse a distancias muy cortas. Por otro lado, cuando los contenidos de humedad de los agregados de suelo superaron el 50% de la C.R.H., las células de *Colpoda* spp. pudieron dispersarse y migrar con mayor libertad entre los agregados de suelo, a través de las películas de agua que conectan los agregados de suelo adyacentes.

Es importante señalar que aún cuando las células de *Colpoda* spp. fueron capaces de migrar entre agregados con contenidos de humedad superiores al 50% de la C.R.H., la mayoría de éstos (cerca de un 90%) permanecieron libres de

Cuadro 1. Número de agregados de suelo positivos a *Colpoda* spp. a diferentes contenidos de humedad del suelo.

% C.R.H.	Número de agregados positivos ^a		
	Experimento I	Experimento II	Experimento III
40	11,00±4,1 (2)	52,80±4,78 (10)	96,48±5,43 (18)
45	15,01±3,0 (3)	110,88±7,51 (20)	121,76±2,21 (23)
50	19,21±2,9 (4)	142,56±2,70 (27)	253,44±3,11 (48)
55	31,52±9,2 (6)	248,16±6,18 (47)	274,56±1,08 (52)
60	39,11±4,1 (7)	269,28±8,20 (51)	306,24±9,13 (58)
65	47,43±8,7 (9)	269,28±4,86 (51)	343,20±7,18 (65)
70	54,50±3,9 (10)	279,84±6,48 (53)	411,84±6,71 (78)
75	57,10±4,9 (11)	300,96±9,36 (57)	475,20±6,59 (93)
80	58,14±7,1 (11)	316,18±4,11 (60)	491,04±6,79 (93)

C.R.H.= capacidad de retención de humedad.

^a Promedio de 3 repeticiones ± desviación estandar. Valores entre paréntesis indican porcentaje de agregados positivos presentes en un gramo de suelo.

Colpoda spp. a 80% de la C.R.H. La ausencia de células bacterianas probablemente limitó la capacidad reproductora de los depredadores, y por tanto su migración.

La adición de bacterias, previamente a la inoculación de los depredadores (*Colpoda* spp.), provocó un aumento en el número de agregados conteniendo este último grupo de organismos (Cuadro 1, Experimento II). A un 40% de la C.R.H., aproximadamente un 86% de los protozoarios inoculados pudieron dispersarse y migrar entre los agregados de suelo. Las células bacterianas inoculadas suministraron a los protozoarios la energía necesaria para estimular una mayor actividad metabólica y reproductora en la zona externa de los agregados (Vargas y Hattori, 1986). Como resultado de lo anterior, los depredadores mostraron una mayor capacidad migratoria. Aumentos en el contenido de humedad de los agregados resultaron en un mayor número de agregados positivos para *Colpoda* spp., indicando que las células del depredador fueron capaces de multiplicarse y migrar con mayor libertad. Más de un 50% de los agregados contenían *Colpoda* spp. a 80% de la C.R.H.

Una mayor densidad bacteriana (8×10^9 células/ml), causó un marcado aumento en el número de agregados con células de *Colpoda* spp. (Cuadro 1, Experimento III). A 40% de C.R.H. se detectó la presencia de *Colpoda* spp. en 18% de los agregados. A 80% de la C.R.H. el 93% de los agregados fueron colonizados por *Colpoda* spp.

Esto sugiere que cuando el contenido de humedad de los agregados y la densidad bacteriana (*K. pneumoniae* IAM1102) inicial no son limitantes, las células de *Colpoda* spp. se multiplican rápidamente, se dispersan y migran libremente hacia otros agregados adyacentes.

DISCUSION

Los resultados de Vargas y Hattori (1986) apoyan las observaciones realizadas en esta investigación, ya que aunque las células de *Colpoda* spp. son capaces de atacar células bacterianas presentes en la zona externa de los agregados de suelo, con contenidos de humedad entre 30% y 60% de la C.R.H., éstas son incapaces de migrar libremente a otros agregados.

Estos resultados y las observaciones de Lousier (1974a, 1974b), Darbyshire (1976) y Couteaux *et al.* (1988), permiten concluir que el contenido de humedad del suelo es el factor crítico determinante de la capacidad migratoria de los protozoarios entre agregados de suelo. Asimismo, la densidad bacteriana presente en el suelo es, junto con la humedad, un factor importante que afecta el tamaño y distribución de la población de depredadores en el suelo.

Finalmente, los resultados coinciden con las observaciones de Vargas y Hattori (1990) de que en condiciones de campo y bajos contenidos de humedad, aún en presencia de altas poblaciones

de bacterias, la distribución de los protozoarios en el suelo es conglomerada debido al efecto que ejerce la humedad del suelo en su dispersión y migración.

RESUMEN

Se describe el efecto de diferentes regímenes de humedad sobre la migración del protozoario *Colpoda* spp. entre agregados de suelo. Cuando los agregados fueron humedecidos con una suspensión de *Colpoda* spp. únicamente, la migración de los protozoarios fue limitada. Muy pocos protozoarios migraron a través de los agregados cuando el contenido de humedad del suelo fue inferior al 50% de la Capacidad de Retención de Humedad (C.R.H.). Por encima de este valor, más del 90% de los agregados permanecieron libres de protozoarios al final del período de incubación. Cuando la humedad de los agregados fue ajustada con una suspensión de bacterias *Klebsiella pneumoniae* IAM1102, a 2 diferentes densidades iniciales, y una suspensión de *Colpoda* spp., un mayor número de agregados de suelo fueron colonizados por los protozoarios. A mayor contenido de humedad y mayor densidad bacteriana, mayor número de los agregados resultaron positivos a la presencia de protozoarios.

AGRADECIMIENTO

A la Lic. Lilliana Araya Villolobos, por su ayuda y apoyo constante durante la realización del presente trabajo; a la Agencia de Cooperación Internacional Japonesa (JICA) por su apoyo durante mi estadía en Japón.

LITERATURA CITADA

- BRYANT, R.J.; WOODS, L.E.; COLEMAN, D.C.; FAIRBANKS, B.C.; McCLELLAN, J.F.; COLE, C.V. 1982. Interactions of bacterial and amoebal populations in soil microcosms with fluctuating moisture contents. *Applied Environmental Microbiology* 43:747-752.
- COUTEAUX, M.M.; FAURIE, G.; PALKA, L.; STEINBERG. 1988. La relation prédateur-proie (protozoaires-bactéries) dans les sols: Role dans le régulation des populations et consequences sur les cycles du carbone et de l'azote. *Review of Ecology and Biology of Soils* 25(1):1-31.
- DARBYSHIRE, J.F. 1976. Effects of water suction on the growth in soil of the ciliate *Colpoda steinii* and the bacterium *Azotobacter chroococcum*. *Journal of Soil Science* 27:369-376.
- ELLIOTT, E.T.; ANDERSON, R.V.; COLEMAN, D.C.; COLE, C.V. 1980. Habitable pore space and microbial trophic interactions. *Oikos* 35:327-335.
- FENCHEL, T. 1987. *Ecology of protozoa: The biology of free-living phagotrophic protists*. Berlin, Springer-Verlag. 197 p.
- FOISSNER, W. 1987. Soil protozoa: fundamental problems. Ecological Significance. Adaptations in Ciliates and Testaceans. Bioindicators and Guide to the Literature. *Progress in Protistology* 2:69-212.
- LOSINA-LOSINSKY, L.; MARTINOV, P.F. 1930. A method of studying the activity and rate of diffusion of protozoa and bacteria in the soil. *Soil Science* 29:349-363.
- LOUSIER, J.D. 1974a. Response of soil testacea to soil moisture fluctuations. *Soil Biology and Biochemistry* 6:235-239.
- LOUSIER, J.D. 1974b. Effects of experimental moisture fluctuations on turnover rates of testacea. *Soil Biology and Biochemistry* 6:19-26.
- OBATON, M. 1971. Utilisation de mutants spontanés résistants aux antibiotiques pour l'étude écologique des *Rhizobium*. *Comptes Rendus Hebdomadaires de l'Académie des Sciences. Serie D. Sciences Naturelles (Paris)* 272:2630-2633.
- SINGH, B.N. 1946. A method of estimating the numbers of soil protozoa, specially amoebae, based on their differential feeding on bacteria. *Annals of Applied Biology* 33:112-119.
- VARGAS, R.; HATTORI, T. 1986. Protozoan predation of bacterial cells in soil aggregates. *FEMS Microbiology and Ecology* 38:233-242.
- VARGAS, R.; HATTORI, T. 1990. The distribution of protozoa among soil aggregates. *FEMS Microbiology and Ecology* Submitted.