

Influencia de la lignina de biomasa cañera en la microbiota de suelos afectados por el cambio climático

Adolfo Brown-Gómez^{1*}, Héctor Toribio-Cuaya², Sheila Brown-Roldan³, Lorena Pedraza-Segura², Amaury Álvarez-Delgado¹, Juan A. Leal-Alfonso¹, Milaydis Reina-Hernández¹

1. Instituto Cubano de Investigaciones de los Derivados de la Caña de Azúcar (ICIDCA).

Vía Blanca No. 804 esq. a Carretera Central, San Miguel del Padrón, La Habana, Cuba.

* adolfo.brown@icidca.azcuba.cu

2. Universidad Iberoamericana (UIA). Paseo de la Reforma 880. Lomas de Santa Fe 01219, México, DF.

3. Facultad de Química, Universidad de la Habana, Cuba

RESUMEN

El estudio con lignina, obtenida de la biomasa cañera, permitió evaluar su impacto en suelos de control afectados por la erosión, salinidad y sodicidad, tomando en consideración el papel de la lignina en el ciclo del carbono orgánico del suelo. Los ensayos a nivel de banco demostraron que los suelos tratados con lignina alcalina modificaron su textura con un incremento en su población microbiana a partir del resultado alcanzado en los ensayos de identificación de hongos y levaduras, que indica una mejor retención hídrica del suelo tratado y un incremento del aporte de nutrientes a la planta, lo que contribuye a la esbeltez del tallo y su germinación.

Palabras clave: lignina, suelos, microbiota, cambio climático.

ABSTRACT

The study with lignin obtained from sugar cane biomass, allowed evaluating its impact on control soils affected by erosion, salinity and sodicity, taking into account the role of lignin in the cycling of organic carbon in the soil. Bench-level tests showed that alkaline lignin-treated soils modified their texture with an increase in their microbial population, based on the results obtained in the fungal and yeast identification tests, all of which indicate better water retention of the treated soil, and an increase in the contribution of nutrients to the plant, which contributes to the slenderness of the stem and its germination.

Key words: lignin, floors, microbiota, climatic change.

INTRODUCCIÓN

Cuba es un país predominantemente agrícola donde el suelo juega un papel importante para el desarrollo económico y alimentario del país. Uno de los factores más favorables para la economía es que el 60 % de los suelos son agrícolas y, del 40 % restante, la mitad puede utilizarse con fines pecuarios o forestales. La erosión natural del suelo no es un problema de gran importancia, debido a que la mayor parte del territorio es de llanuras, pero la forma en que se han realizado los desmontes, ha contribuido a empobrecer grandes extensiones de suelos. Las condiciones climáticas, topográficas y edafológicas que existen, han provocado erosión que se pueden considerar entre fuerte y media. Por otro lado, la salinidad y sodicidad ocupan áreas que superan el millón de hectáreas como parte de los efectos del cambio climático.

La importancia de la materia orgánica como factor limitante de la fertilidad del suelo es una evidencia científica aceptada para todos los sistemas de cultivos. Desde las técnicas agrícolas más tradicionales hasta los más modernos sistemas de producción agraria, se utilizan los abonos orgánicos, en mayor o menor proporción, no sólo por el aporte de nutrientes que se logra con su aplicación, sino contando en mayor medida con los efectos beneficiosos que la adición de materia orgánica induce, especialmente en lo que se refiere a la mejora de las propiedades físicas, el incremento de la actividad biológica y de la dinámica de nutrientes en ellos. Su influencia sobre las propiedades físicas del suelo se traduce en tres aspectos fundamentales:

1. En una reducción de la densidad aparente del suelo.
2. Un aumento de la retención hídrica del suelo.
3. Una mejora de su estructura. Esta mejora estructural también repercute sobre la porosidad del suelo, lo que conduce al aumento del agua infiltrada en el perfil de este, incrementado su permeabilidad y una adecuada relación agua-aire.

En este último aspecto, la formación de complejos arcillo-húmicos repercute directamente sobre la estabilidad estructural del suelo. Además, la materia orgánica posee componentes con acción cementante, tales como los polisacáridos y las sustancias húmicas (ácidos húmicos, fúlvicos y huminas), que favorecen la creación de agregados entre las partículas del suelo, la proliferación de microorganismos que reducen la cantidad de agentes patógenos, lo que mejora su estabilidad. La materia orgánica modera, así mismo, los cambios de temperatura y su color oscuro favorece la absorción de las radiaciones solares, eleva la temperatura del suelo y beneficia procesos como la germinación de las semillas y la actividad microbiana (1).

Todas estas mejoras propician al suelo una mayor estabilidad frente a los agentes atmosféricos, que se traduce en menor pérdida del suelo y, por tanto, en menor erosión.

Desde el punto de vista químico, la materia orgánica es responsable de la capacidad de cambio iónico del suelo, ya que constituye la mayor parte del complejo adsorbente y de cambio, permite retener elementos nutritivos útiles para la planta, pero también elementos contaminantes presentes en el suelo. Así mismo, la fracción coloidal orgánica mejora el poder amortiguador del suelo frente a la adición de agentes ácidos o básicos, mantiene un nivel constante de pH y evita las fluctuaciones de este parámetro (capacidad tampón). Existen tres nutrientes de suma importancia para el suelo fértil: el nitrógeno (N), para garantizar el crecimiento de las hojas y los tallos, el fósforo (P), para las raíces, las frutas y las semillas, y el potasio (K), para la resistencia contra las enfermedades y buena evolución de las plantas. Los suelos más fértiles experimentan contenidos de N y C (carbono) superiores al 25 %, y contenidos de azufre (S) y C bajos, para garantizar un buen pH (2).

La materia orgánica aporta de forma directa elementos nutritivos durante su mineralización y contribuye a su reserva, participa en fenómenos de quelatación y complejación y ejerce una acción muy directa sobre los procesos de persistencia, transporte, movilización, retención y biodisponibilidad de metales pesados y compuestos orgánicos tóxicos. Los nutrientes aportados por la materia orgánica no pueden compararse con los suministrados por los fertilizantes minerales, con respecto a su rápida disponibilidad en el suelo; los de origen orgánico, tienen a su favor que se liberan de forma gradual y, por tanto, son menos sensibles que aquellos a fenómenos adversos, tales como la lixiviación y volatilización (caso del nitrógeno), o la fijación (como en el caso del fósforo). En cuanto a los micronutrientes, en su solubilidad y asimilabilidad influyen los fenómenos de quelatación, de modo que, numerosos productos orgánicos procedentes de la microbiota del suelo (ácidos alifáticos, aminoácidos y polifenoles), así como las sustancias húmicas, se consideran involucradas en tales procesos de quelatación (3, 4).

La materia orgánica es el soporte de la vida microbiana del suelo, ya que actúa como fuente de energía y de elementos esenciales para el desarrollo de la microbiota, favorece su proliferación. Los microorganismos degradan la materia orgánica y liberan ácidos orgánicos e inorgánicos capaces

de alterar los componentes minerales del suelo. También liberan agentes quelatantes y enzimas, provocando pequeñas alteraciones de pH y de potencial redox que pueden favorecer la liberación y asimilación de elementos nutritivos para la planta. Así mismo, pueden establecerse asociaciones simbióticas planta/microorganismo que favorecen la asimilación de nitrógeno y fósforo (5).

Las sustancias húmicas son, probablemente, los materiales de carácter orgánico más ampliamente distribuidos en la naturaleza, representan aproximadamente el 50 % de la materia orgánica total del suelo y esta (humus) participa en la nutrición vegetal (6, 7).

La lignina constituye un componente importante, en volumen, de la biomasa lignocelulósica. A partir de los métodos de pretratamiento y delignificación en medio básico, con agentes oxidantes, se puede obtener lignina de diversas clases. Se han realizado estudios referidos a suelos con problemas de erosión y existen reportes de que la lignina reacciona con los ácidos húmicos del suelo y forma redes que modifican su estructura, ayuda a retener agua y evitar la pérdida de los estratos superficiales. La lignina y sus productos de degradación son considerados como los principales precursores de la fracción orgánica que forman las sustancias húmicas (8, 9, 10).

Los agricultores se han visto obligados a desarrollar métodos para prevenir la alteración perjudicial del suelo, debido al cultivo excesivo, a la baja rotación y para reconstruir suelos alterados por los cambios climáticos. El conocimiento de los componentes minerales y orgánicos, así como la aireación y capacidad de retención del agua, son necesarios para garantizar un buen rendimiento en cada cosecha (11).

Los requerimientos del suelo varían mucho, en función del tipo de plantas, no debe generalizarse sobre el terreno ideal. Muchas plantas, como la caña de azúcar, requieren suelos húmedos que estarían insuficientemente drenados para el trigo. Las características apropiadas para obtener con éxito determinadas cosechas no sólo son inherentes al propio suelo; algunas de ellas, pueden ser creadas con un adecuado acondicionamiento del suelo (12).

El objetivo del trabajo es la extracción de lignina, a partir de fibras de bagazo integral de caña (BI), y evaluar a escala de banco, su impacto en la modificación de la microbiota de suelos de control, afectados por el cambio climático.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el desarrollo del estudio se utilizó fibra de bagazo integral de caña de azúcar (BI), procedente del ICIDCA (recolectado en la Empresa Azucarera 30 de Noviembre, zafra 2018). Se revisaron varios métodos de extracción, a partir de reportes consultados para la industria de los derivados de la biomasa. Las experiencias de adecuación, clasificación y estimación de las cargas, se llevaron a cabo en la Planta de Composites que pertenece a la Dirección de Derivados del ICIDCA. Las fibras utilizadas pasaron una malla de 1mm y el porcentaje de humedad medido en la fibra fue de 9.0 %.

La caracterización de la lignina extraída de bagazo integral de caña (BI), para su análisis por espectroscopia infrarroja FTIR, se realizó en un FTIRPrestige21, Shimadzu Corp, 4000 a 500 cm^{-1} , Accesorio ATR: SPECAC con ventana de diamante) y caracterización de la lignina extraída por Calorimetría Diferencial de Barrido y Termogravimetría, DSC (Q20 V24. 10 Build 122) y TGA (Q50 V20. 13 Build 39) TA Instruments (13).

Se utilizaron varios medios de cultivo para ratificar la aparición de colonias o no en los suelos de control y en los modificados con lignina (14).

1 Control medio APD	4 Control medio AN	ARB = agar rosa de bengala
2 Lignina medio APD	5 Lignina medio AN	APD = agar papa dextrosa
3 Lignina medio APD	6 Lignina medio AN	AN = agar nutritivo

Método para la extracción de lignina de bagazo integral de caña

Se pesan 7.3 g de BI en un volumétrico de 500 mL. Se le adicionan 100 mL de agua y 1.5 g de NaOH en perlas (figura 1). Se extrae la lignina mediante un proceso alcalino/peróxido. Este tratamiento se realizó a partir de una suspensión de BI con un tamaño de partícula menor a 1 mm de diámetro y una carga de sólido del 7 % p/v. El pH de la suspensión del material lignocelulósico fue elevada a 12 y se utilizó NaOH (22 % p/p con respecto al bagazo). Después se adicionó H_2O_2 al sistema alcalino en una proporción de 13 % p/p en base al material (2.12 μ L de H_2O_2) y el sistema se colocó en una incubadora, con agitación a 50 °C y 160 rpm, por 2 horas.

Transcurrido ese tiempo se separó el material delignificado con un sistema de filtración a presión, el licor resultante contenía la lignina y polisacárido solubilizado. La lignina se precipitó acidificó el licor con una solución de ácido acético al 50 % p/p hasta pH = 3. La lignina que precipitó en el licor se reposó por una noche para facilitar así la separación del material mediante centrifugación. La suspensión se centrifugó a 2700 rpm por 15 minutos y se separó el sobrenadante. La lignina se secó por una noche a 105 °C, en un horno.



Figura 1. Muestras de bagazo integral para la extracción de lignina.

Preparación de suelos de control y modificados con lignina

Para el estudio a escala de banco se tomaron 120 g de suelo de control (poco fértil, erosionado y compactado, procedente de plantaciones mexicanas, con su metagenoma certificado) (figura 2). Se montaron 6 macetas experimentales y tres de ellas se mezclaron con 0.5 g de lignina (LIG) extraída del bagazo integral de caña. Los suelos modificados fueron homogeneizados manualmente con una espátula; luego se plantaron semillas de frijoles y calabaza.



Figura 2. Macetas experimentales (suelo de control).



Figura 3. Preparación de muestras de suelo para el análisis de la microbiota en los ensayos de control y de suelos tratados con LIG..

Luego de 15 días, las plantas alcanzaron un desarrollo determinado, se tomaron muestras de suelos para evaluar la permanencia de microorganismos, hongos y levaduras (modificación de la microbiota) (figura 3).

A las muestras de suelo pesadas (0.5 g) con LIG o sin ella, se les adicionó una solución de NaCl al 0.9 %. Se prepararon 2 muestras (de control y con LIG) en frascos con 50 mL y 10 mL de agua, respectivamente, de donde se tomaron muestras (en μ L) para la preparación de los tubos de ensayo que van a servir de base para la toma

de muestras que indicarán, a partir de los resultados revelados en la placa (después de 24 h), el crecimiento o no de bacterias, levaduras y hongos (figura 4) y mostrarán posibles cambios en la población microbiana del suelo mezclado con LIG.



Figura 4. Preparación de placas para evaluar el impacto de la modificación con LIG.

Si se analiza el suelo con lignina o formulaciones para mejorar su fertilidad, tanto la celulosa como la lignina desempeñan un rol importante en su ciclado del carbono orgánico; sin embargo, existe una gran diferencia entre los dos: la celulosa constituye una reserva de carbono lábil en el suelo, que consumen

rápidamente por los microorganismos presentes (bacterias y hongos), y la lignina constituye una reserva de carbono “recalcitrante” y los microorganismos tienden a demorar su consumo. Las unidades fenilpropano de la lignina están entrecruzadas por múltiples enlaces éter y C-C que son extremadamente resistentes al ataque enzimático. La degradación de la lignina ocurre en presencia de oxígeno y glucosa. El sistema enzimático contiene peroxidasas que catalizan la ruptura oxidativa de los β -O-4 éter y los C-C de la lignina y requieren H_2O_2 de la oxidación por la glucosa-oxidasa.

El término metagenoma hace referencia al conjunto de genes microbianos presentes en un entorno o ecosistema determinado. La metagenómica es el método utilizado para el análisis de este metagenoma. Refleja la capacidad potencial de un ecosistema específico, las acciones que sus genes pueden realizar. También explica cuáles son los microorganismos que están presentes. La metagenómica ha permitido estudiar la ecología microbiana de los suelos y descubrir elementos genéticos (15-19).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El método utilizado para la extracción de LIG de bagazo integral, reportó resultados satisfactorios para los objetivos trazados a escala de banco. En las siguientes figuras se puede observar el filtrado (figura 5), la operación de separación de LIG en dos fases en el interior del beaker (figura 6), y por último la obtención de LIG (figura 7) en forma de película no cristalina. En la tabla 1 se reportan los resultados alcanzados.



Figura 5. Proceso de filtrado para la extracción de LIG de bagazo integral.



Figura 6. Operación de separación de LIG en dos fases en el interior del beaker.



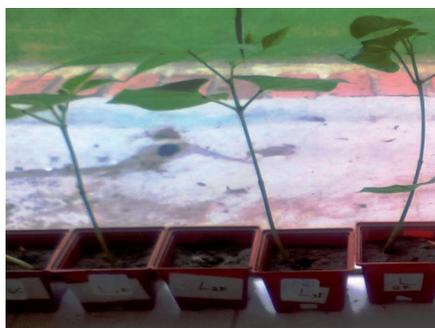
Figura 7. Obtención de LIG en forma de película no cristalina.

Se observaron cambios en la textura de los suelos modificados con LIG, con menor nivel de compactación. Cuando se modifica un suelo, se debe asegurar de que exista mayor cantidad de carbono recalcitrante que de carbono lábil, y la lignina afecta la estructura del suelo, la mineralización de los nutrientes pero actúa como sumidero de carbono, ya que favorece el secuestro de carbono atmosférico. Finalmente, la lignina aporta la estructura resistente y los polisacáridos aportarían los grupos funcionales más reactivos a las sustancias húmicas.

Tabla 1. Resultados para la extracción de LIG de fibras de bagazo integral

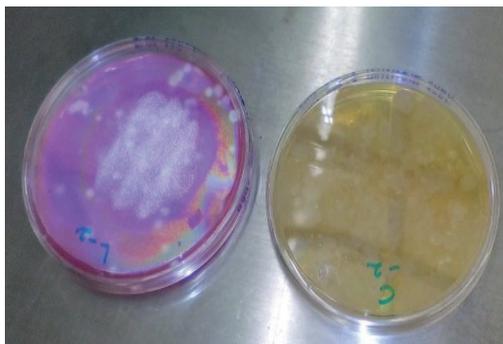
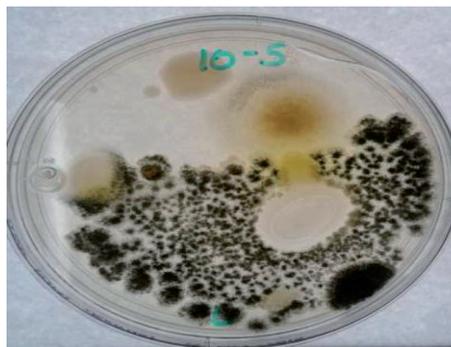
Muestra	Bagazo seco (g)	Lignina (g)	% Lignina	BI delignificado (g)	% BI delignificado
1	11.061	2.177	19.68	6.146	55.57
2	11.061	2.032	18.37	6.295	56.92
3	11.061	2.376	21.48	5.853	52.92
Promedio			19.84 ± 1.56		55.57 ± 2.03
Rendimiento de lignina extraída: 95.86 ± 7.54					

En conclusión, un mayor contenido de lignina en los suelos, reduce la mineralización de nutrientes propiciando una fertilización sostenible. En el caso de las muestras sembradas en los suelos de control la germinación fue débil y la fortaleza del tallo no fue suficiente para mantener erguida a la planta (figura 8). Los suelos tratados con LIG mostraron una mejor fertilidad y robustez en los tallos de la planta, (figura 9).

**Figura 8.** Suelo de control.**Figura 9.** Suelo tratado con LIG.

A partir de este resultado, se montaron los ensayos para evaluar, de forma preliminar, los cambios en la microbiota del suelo de control modificado con lignina, una vez concluido el proceso de germinación de las plantas experimentales.

En las figuras 10 y 11 se observa el incremento de hongos y levaduras para el suelo de control y el modificado con lignina.

**Figura 10.** Suelo de control.**Figura 11.** Suelo tratado con LIG.

Estos ensayos corroboran que, conjuntamente con la modificación de la textura del suelo, surge un incremento en el conteo de microorganismos, indica que el suelo modificado con LIG, a partir del incremento de hongos y levaduras, tuvo una mejor retención hídrica de la tierra, que favoreció un mejor aporte de nutrientes a la planta, la esbeltez del tallo y su germinación. Esta valoración indica una mejoría en el entorno o ecosistema del suelo modificado con LIG y refleja su capacidad potencial, a partir de los microorganismos presentes. El incremento de la biodiversidad microbiana en los

agroecosistemas juega un papel fundamental en procesos ecológicos, como la transformación de nutrientes, la descomposición de materia orgánica y la promoción del crecimiento de la planta, entre otras interacciones al proceso físico del suelo.

El empleo de la LIG puede contribuir a la solubilización del fósforo, acompañado del aumento de las enzimas fosfatasas, el incremento del contenido en potasio y la porosidad; mejorando, a su vez, la infiltración del agua de riego, aspecto que tiene relación con el cambio de textura del suelo.

El estudio demuestra la importancia que tiene la lignina como reguladora de las interacciones planta-microorganismo, a partir del aporte de carbono recalcitrante a los suelos agrícolas afectados por el cambio climático. Este carbono demora en ser consumido por los microorganismos del suelo, ya que se necesita mucha energía para oxidarlo o reducirlo y garantizar así una buena capacidad de retención de agua y reserva de nutrientes que favorecen el rendimiento agrícola y propician, sin lugar a dudas, a un cambio en la microbiota de los suelos.

CONCLUSIONES

- Se comprobó la eficacia del método empleado para la extracción de lignina, a partir de bagazo integral.
- Se comprobó el impacto de la lignina en la modificación de la textura y microbiota del suelo, aspectos que favorecen la germinación.
- Estos resultados indican que la lignina puede formar parte de un producto bioestimulante ya que, solo o combinado, puede mejorar la eficiencia de la planta, en cuanto al uso de nutrientes, su tolerancia al estrés abiótico y la calidad de la cosecha.
- Se demostró el impacto de la lignina en la capacidad productiva de los suelos afectados por el cambio climático y su posible empleo en viveros, medio idóneo para seleccionar, producir y propagar especies útiles al hombre, en una etapa en que las plántulas están expuestas a mayor vulnerabilidad, antes de ser trasplantadas a su lugar definitivo.

AGRADECIMIENTOS

Al colectivo de trabajo de la Universidad Iberoamericana de México, UIA, quienes permitieron el desarrollo de experiencias y caracterización de materiales a partir del equipamiento instrumental en sus laboratorios.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Julca-Otiniano, A.; Meneses-Florián, L.; Blas-Sevillano, R.; Bello-Amez, S. La materia orgánica, importancia y experiencia de su uso en la agricultura. IDESIA (Chile). Vol. 24, N° 1; 49-61, 2006.
2. García, Y.; Ramírez, W.; Sánchez, S. Indicadores de la calidad de los suelos: una nueva manera de evaluar este recurso. Pastos y Forrajes, Matanzas. Vol.35, No.2 (abril -junio 2012). ISSN 0864-0394.
3. Davidson, D. T.; Handy, R. L. "Soil stabilization." Highway engineering handbook, K. B. Wood, ed., McGraw-Hill, New York, Sect. 21, 1960.
4. Johnson, J. M.; Carpenter-Boggs, L.; and Lindstrom, M. J. "Humic acid and aggregate stability in amended soils." Proc., Natural Organic Matter in Soils and Water North Central Region Symposium, USDA, Ames, IA, 21, 2003.

5. Taylor, T.N. and Osborne, J.M. The importance of fungi in shaping the paleoecosystem. *Rev Paleobot Palyn* 90: 249-262, 1996.
6. Atlas, R.; Bartha, R. *Ecología microbiana y microbiología ambiental*. 4ta. ed. Addison Wesley. Madrid, España. 677 p. 2001.
7. Saussure, D. (1804). Antecedentes históricos y origen de las sustancias húmicas. <http://www.compostandociencia.com/2008/09/>.
8. Lora, J. H.; and Glasser, W. G. (2002). "Recent industrial applications of lignin: A sustainable alternative to nonrenewable Materials." *J. Polym. Environ.*, 10(1/2), 39-48.
9. Chen, C.L.; and Chang, H. *Chemistry of lignin biodegradation*. In *Biosynthesis and Biodegradation of Wood Components*. Higuchi, T. (ed.). Orlando, FL, USA: Academic Press, pp. 535-555, 1985.
10. Gellerstedt, G.; Henriksson, G. Lignins: major sources, structure and properties. In *Monomers, Polymers and Composites from Renewable Resources*. Belgacem, M., and Gandini, A. (eds). Amsterdam, the Netherlands: Elsevier, pp. 201-224, 2008.
11. Instituto de Suelos. La evaluación de tierras, base para el monitoreo de la degradación de los suelos. En: *Resúmenes del Taller "La metodología LADA y la evaluación de las tierras de Cuba"*. La Habana, Cuba. p. 25. 2006.
12. Colás, A.; *et al.* Análisis multivariado de las propiedades de un suelo Ferralítico Rojo (Oxisol), como base para la selección de indicadores de calidad. *Centro Agrícola*. 35 (3):17, 2008.
13. Brown Gómez, A.; Chala Bermello, A.L.; Toribio Cuaya, H.; Álvarez Delgado, A.; Leal-Alfonso J. A.; Reina Hernández, M. Estudio y caracterización de lignina para la modificación de polímeros adhesivos. *ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar*, Vol. 52 No. 3, 68-75, 2018.
14. Kersten, P.; Cullen, D. Extracellular oxidative systems of the lignin-degrading Basidiomycete *Phanerochaete chrysosporium*. *Fungal Genet Biol* 44: 77-87, 2007.
15. Daniel, R. The metagenomics of soil. *Nature Review Microbiology* 3:470-478, 2005.
16. Handelsman, J. Metagenomics: application of genomics to uncultured microorganisms. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68:669-685, 2004.
17. Taylor, T.N.; Osborne, J.M. The importance of fungi in shaping the paleoecosystem. *Rev Paleobot Palyn* 90: 249-262, 1996.
18. Martínez, A.T.; Speranza, M.; Ruiz-Dueñas, F.J.; Ferreira, P.; Camarero, S.; Guillén, F.; *et al.* Biodegradation of lignocellulosics: microbiological, chemical and enzymatic aspects of fungal attack to lignin. *Int Microbiol* 8: 195-204, 2005.
19. Escalante-Lozada, A.; Gosset-Lagarta, A. Diversidad bacteriana del suelo. Métodos de estudios no dependientes del cultivo microbiano e implicaciones biotecnológicas. *Agro Ciencia* 38: 583-592, 2004.