



UNIVERSIDAD NACIONAL DE CORDOBA  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS



## Área de Consolidación

---

Métodos Cuantitativos para la Investigación Agropecuaria

### Análisis del impacto de distintas prácticas agrícolas en los microorganismos del suelo

Integrantes:

- Arinci, Agustín
- Vignaroli, Tobías

Tutor: Andrea Natalia Peña Malavera

Año: 2014

## Introducción

La agricultura en la República Argentina ha tenido su auge en las últimas décadas debido a la incorporación de nuevos paquetes tecnológicos al esquema productivo, principalmente la siembra directa (SD) y la aparición de soja transgénica resistente al glifosato. Si bien los primeros pasos en la SD en la Argentina datan de la segunda mitad de la década del 70, se logró afianzar entrando los 90 (Aapresid, 2014). Según relevamientos de Aapresid, en el año 1999 se sembraron 9 millones de hectáreas en Argentina, y para el año 2009 esa cifra ascendió a 25 millones de hectáreas. Este proceso de “agriculturización” que atraviesa la Argentina ha generado una simplificación en los sistemas productivos actuales, caracterizado por la presencia del monocultivo con escasas o nulas rotaciones (Pérez Brandán, 2014). Esto ha agravado algunos de los problemas ambientales y generado nuevos, como son deforestación, pérdida de biodiversidad, contaminación de suelos y acuíferos por el creciente uso de agroquímicos, pérdida de la fertilidad del suelo por la extracción y escasa reposición de nutrientes y pérdida de la capacidad de resiliencia de tierras con potencial productivo, lo que aceleró algunos procesos que comprometen la sustentabilidad de los agroecosistemas (Pérez Brandán, 2014).

La cantidad de microorganismos en el suelo es un factor determinante en las actividades agrícolas y seguir su alteración de acuerdo al uso del suelo es de gran importancia para el estudio de la interacción entre éstos y las plantas. Los sistemas productivos alteran la reserva de materia orgánica, modificando los microorganismos presentes en el suelo (Abril, 2013). La respuesta de los microorganismos a los cambios ambientales difiere según la adaptación que tengan a esos factores cambiantes (Gray y Williams, 1971; Van Gestel et al., 1993).

La acción antropológica en un ecosistema provoca una distorsión en la dinámica de los nutrientes y de la actividad microbiana, brindándole menor capacidad para mantener las funciones y servicios del mismo. Los sistemas cultivados son mono-específicos, lo que afecta al tipo y cantidad de residuos, la cobertura y la diversidad de captación de nutrientes. La transformación de bosques en cultivos produce un fuerte impacto sobre la biota del suelo. La deforestación del bosque nativo, para la posterior implantación de los cultivos, es un proceso frecuente en nuestro país; provoca un incremento de la biomasa bacteriana, y a su vez cambia la dominancia de especies de microorganismos debido al aumento de residuos en la superficie y a la disponibilidad de raíces muertas (Abril, 2013). Si cambia la dominancia, se alteran los procesos que llevan a cabo los microorganismos, tales como la descomposición de la materia orgánica (MO), el reciclado del material vegetal, la movilización e inmovilización de minerales y contaminantes, la mejora en la aireación del suelo, la inhibición de patógenos, el incremento de la resistencia en plantas, la estructuración física del suelo y el aumento de la nutrición vegetal promoviendo su crecimiento, entre otras (Pérez Brandán, 2014).

La presencia de microorganismos va a estar condicionada por la naturaleza física y química del suelo. La porción abiótica del ecosistema del suelo posee varios componentes reconocibles: las condiciones físicas, químicas y los aspectos estructurales (pH, temperatura, humedad, fertilidad, etc). Cada especie de microorganismo posee un valor óptimo para cada factor físico y químico, que influye en su crecimiento o actividad, los cuales declinan a ambos lados del valor óptimo, influyendo en el desarrollo de la población total (Zuñiga, 2004).

Cualquier paso del bosque nativo a un sistema de producción agrícola va a modificar la biota del suelo, ya sea con labranza convencional o con SD. Debido a la tendencia actual hacia la SD se decidió trabajar con este tipo de sistemas; una tendencia que persigue evitar problemas de erosión hídrica y eólica que arrastraba la labranza convencional, pero que a su vez cuenta con ciertas ventajas como conservación de la humedad, aumento de la eficiencia en el ciclado de nutrientes, aumento de materia orgánica provocando una mejor permeabilidad e infiltración de agua en el perfil, y mayores rendimientos. También mejora la actividad y diversidad microbiana; y produce un incremento en las densidades poblacionales de microorganismos benéficos, debido principalmente a una menor perturbación física de la estructura del suelo, lo que genera, a escala espacial, modificaciones en la estructura de las comunidades microbianas residentes en el suelo (Pérez Brandán, 2014).

Una práctica no conservacionista muy extendida es el monocultivo que consiste en la utilización de una sola especie en campañas contiguas, generando agotamiento de las reservas de nutrientes en el suelo y con ello una disminución de las actividades y diversidad microbiana (Pérez Brandán, 2014). Técnicos de aapresid aseguran que, aun bajo SD, el monocultivo genera una importante pérdida de suelo y reduce la productividad.

La práctica contraria dentro de la SD es la rotación, que alterna diferentes cultivos en el mismo espacio y que tiene varios efectos positivos en el suelo. Desde el punto de vista físico, la rotación favorece la estructura, ya que permite la exploración radicular en diferentes estratos del perfil (Pérez Brandán, 2014). Además, la cobertura vegetal generada por el cultivo una vez cosechado (rastrojo) es un factor que afecta la magnitud de la población de microorganismos, y en consecuencia la intensidad de la actividad biológica. A su vez, la rotación permite el cambio en las características de la comunidad microbiana, fundamental para el control biológico de patógenos que lo habitan.

El objetivo de este trabajo es realizar un análisis comparativo de las condiciones del suelo bajo monocultivo de soja, a diferencia de una rotación Soja-Maíz y de un bosque nativo. En primer lugar identificar los principales cambios que se dan en el suelo con agricultura con respecto a su estado original, es decir, al bosque nativo. También ver la influencia de las rotaciones en la presencia de biocontroladores.

## **Materiales y Métodos**

### **Sitio de estudio, descripción y ubicación**

Se seleccionaron lotes comerciales sembrados bajo SD en la localidad de Las Lajitas, provincia de Salta. Cada lote tiene una superficie entre 40 y 60 has. La localidad de Las Lajitas está ubicada en el departamento de Anta, situado en el centro-este de la provincia a 1250 msnm (Latitud 24° 53' 2", longitud 65° 28' 23"). El tipo de suelo predominante en la zona es franco, correspondiente a la asociación Cerrados-Bañados. Esta localidad concentra el 65% de la producción provincial del cultivo de soja, con 230.000 has. Está ubicada a 230 km al este de la ciudad de Salta y su gran relevancia se debe al fuerte crecimiento productivo y a la continua incorporación de tecnología para el cultivo de soja principalmente. La zona posee un clima subtropical serrano con estación seca en invierno y en verano con precipitaciones que llegan a los 850 mm intensificándose hacia el oeste al acercarse a los cerros.

Con la finalidad de comparar situaciones contrastantes de manejo y de estudiar situaciones reales, se realizó un estudio observacional con lotes de producción. Se seleccionaron diferentes sitios (lotes) de distintas fincas donde se realiza manejo convencional en monocultivo y manejo conservacionista en rotación. Además se seleccionaron sitios de bosque tropical adyacente a los sitios bajo manejo. Los suelos de los diferentes manejos presentan textura franca-franca arenosa, con un promedio entre 2-2,70 % de MO, 0,2 % de N total y pH 6,6.

### **Diseño experimental**

El muestreo de suelos se llevó a cabo en enero en las campañas del 2009-2010 y 2010-2011. Se recogieron muestras de suelos agrícolas sometidos al monocultivo de soja (M) y la rotación de cultivos Soja-Maíz (R), y de suelo no alterado con vegetación nativa (NV). En los tratamientos bajo manejo en monocultivo se evaluaron sitios (lotes) con diferentes años de implantación de monocultivo de soja, mientras que en los tratamientos bajo manejo en rotación se analizaron sitios con distintos años de rotación (Soja-Maíz) (Tabla 1.). Además se incluyó en el análisis sitios de bosque tropical nativo asociado a cada situación de manejo contrastante. Los lotes fueron sembrados y manejados de acuerdo a los protocolos establecidos por los productores de la zona. A la siembra, las semillas de soja fueron tratadas con el curasemilla comercial a base de Carboxim + Thiram (Vitavax Flo), para el control de malezas se empleó glifosato (Roundup) a 4 l/ha y metsulfurón metil (Zamba) a dosis de marbete, mientras que para el control de plagas se aplicó metoxifenocida (Intrepid SC.) según dosis de marbete. Las variedades de soja sembradas en ambas fincas corresponden a variedades de grupo de madurez 8 (GM VIII), de ciclos determinados de Nidera, principalmente se sembraron las variedades A8000. La densidad de siembra fue de 22-26 semillas por metro lineal con un poder germinativo (PG) promedio del 85 %. A emergencia se establecieron 16-18 plantas por metro lineal con ese PG. La soja no fue fertilizada ni inoculada.

Para los sitios bajo rotación las variedades de maíz sembradas fueron híbridos tropicales resistentes a herbicidas y a plagas de la variedad DK390 VT triple pro (Monsanto). Además, se realizaron las siguientes aplicaciones para el control de malezas: Atrazina: 2,5 l/ha y Dual: 1,5

l/ha. El maíz se fertilizó con fosfato diamónico a razón de 50-70 kg/ha, también con 20-50 kg/ha de urea al voleo. Tanto el cultivo de soja como el de maíz fueron sembrados en SD.

Los lotes de bosque nativo eran adyacentes a las parcelas de monocultivo de soja (NV 24, NV 11) y a las parcelas de rotación de cultivos (NV 15, NV 4). Éstos se consideraron sitios de control. Estos lotes consistieron en praderas naturales que incluían las plantas nativas, y nunca fueron explotados por el hombre. (Tabla 1)

Tabla 1: tratamientos realizados en los distintos suelos

Manejo	Sitios	Historia
<b>Monocultivo (M)</b>	M 11	Monocultivo de soja desde hace 11 años
	M 24	Monocultivo de soja desde hace 24 años
<b>Rotación (R)</b>	R 4	Rotación soja-maíz desde hace 4 años
	R 15	Rotación soja-maíz desde hace 15 años
<b>Bosque Nativo (NV)</b>	NV 4	Bosque Nativo adyacente al lote R 4
	NV 11	Bosque Nativo adyacente al lote M 11
	NV 15	Bosque Nativo adyacente al lote R 15
	NV 24	Bosque Nativo adyacente al lote M 24

## Diseño de las muestras

Dentro de cada sitio, en cada lote se demarcó la zona de muestreo que fue georreferenciada, presentando una superficie de 900 m<sup>2</sup>. A partir de la zona demarcada se tomaron muestras de suelo para realizar las determinaciones correspondientes en el laboratorio. En cada parcela de tratamiento se establecieron seis estaciones de muestreo, siguiendo un diseño en W, a partir de las cuales se tomaron muestras de suelo compuestas por 10 submuestras.

A partir de las muestras de suelo se realizó la determinación de variables microbiológicas, químicas y físicas. Para evaluar los parámetros microbiológicos las muestras fueron extraídas a partir de la zona cercana a la raíz, sobre el surco, hasta los primeros 10 cm de profundidad abarcando las seis estaciones de muestreo por repetición contabilizando un total de 18 muestras por tratamiento.

Para la determinación de algunas variables microbianas (bioquímicas), las muestras fueron inmediatamente colocadas en freezer a -20 °C. Mientras que para la cuantificación del resto de determinaciones microbiológicas, las muestras fueron tamizadas (malla 2 mm) para ser inmediatamente colocadas en heladera y conservadas a 4 °C hasta su posterior procesamiento. Paralelamente se determinó la humedad (%) de cada muestra por lo cual se tomó el peso inicial de cada muestra y luego de siete días en estufa a 90 °C se determinó el peso final.

## Variables de estudio

De las muestras obtenidas se midieron las siguientes variables:

- **Carbono de la biomasa microbiana (mg CO<sub>2</sub>/g suelo):** es un indicador de cambios de la materia orgánica del suelo y refleja el tamaño de la población microbiana total. Es por esto que resulta muy útil ya que evidencia la respuesta del suelo frente a aportes orgánicos de diferente naturaleza.
- **Glomalina (mg g/g suelo seco):** es una glicoproteína producida por los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) que influye en la agregación del suelo, posee una gran adhesividad y resistencia a la degradación, y presenta en su estructura química entre un 30-40% de C, lo que la hace un componente importante de la MO, contribuyendo al secuestro de C en el suelo. La variable que se cuantifica son las proteínas relacionadas con la glomalina.
- **Hongos Totales (UFC/g suelo seco):** la abundancia de hongos totales es un indicador de calidad edáfica, y si además se correlaciona este parámetro con los potenciales biocontroladores, se puede conocer el potencial de inhibición de patógenos, en un determinado suelo.
- ***Trichoderma spp.* (UFC/g suelo seco):** hongo biocontrolador.
- ***Gliocladium spp.* (UFC/g suelo seco):** hongo biocontrolador.
- **Bacterias Totales (UFC/g suelo seco):** La cuantificación de las bacterias totales presentes en un suelo constituye un buen indicador que refleja su nivel poblacional en un suelo bajo un determinado manejo.
- **Actinobacterias (UFC/g suelo seco):** bacterias biocontroladoras.
- ***Pseudomonas fluorescentes* (UFC/g suelo seco):** bacterias biocontroladoras.
- **Respiración (g CO<sub>2</sub>/g suelo):** la medición del dióxido de carbono respirado es una estimación de la presencia microbiana en los suelos cultivados. Esto refleja la dinámica de su biota, por lo tanto, evidencia los procesos metabólicos edáficos.
- **Actividad enzimática (mol/g suelo):** la actividad proteasa-lipasa-esterasa evaluada mediante la hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA) es ampliamente aceptada como un método preciso y simple para medir la actividad microbiana total en una amplia gama de muestras ambientales, incluyendo los suelos.
- **pH (pH)**
- **Conductividad (mS/cm)**
- **Materia Orgánica (%):** expresa el contenido de Carbono Total.
- **Nitrógeno Total (%):** la mayor parte del N se encuentra en la fracción orgánica.

## Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo de cada una de las variables. Los estadísticos presentados son media, desvío estándar (D.E.), coeficiente de variación (CV), mínimo (Min) y máximo (Máx). Debido a datos extremos en algunas de las variables que pueden llegar a modificar el análisis se excluyeron 14 casos. También se realizó un análisis de la varianza (ANAVA) para cada variable con el fin de observar si en cada una de ellas había o no diferencias para los factores campaña, tratamientos, y su interacción. En aquellos casos en que las diferencias eran estadísticamente significativas ( $p$  valor  $<0,05$ ) se realizó el test a posteriori de comparación de medias DGC (Di Rienzo, et al., 2002). Para visualizar las relaciones entre las variables se realizó

una matriz de diagramas de dispersión y un análisis de correlación de Pearson. Con el objetivo de detectar las variables que tuvieron mayor inercia en la separación de los tratamientos se realizó un análisis de componentes principales (ACP). Se utilizó el software InfoStat para llevar a cabo los análisis estadísticos (Di Rienzo *et al.*, 2014).

## Resultados y discusión

Tablas de medidas resumen para datos completos 260 casos (Tabla 2) y luego para 246 datos (Tabla 3):

Tabla 2: estadística descriptiva. Casos completos. n=260

Variable	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
<b>Biomasa C</b>	0,88	0,48	54,85	0,08	3,22
<b>Glomalina</b>	2,87	1,23	42,77	0,67	8,66
<b>Hongos Totales</b>	6,2	0,53	8,57	0,00	7,40
<i>Trichoderma spp.</i>	4,56	2,15	47,1	0,00	6,32
<i>Gliocladium spp.</i>	1,99	2,51	125,82	0,00	5,48
<b>Bacterias Totales</b>	8,17	0,61	7,47	6,00	8,67
<b>Actinobacterias</b>	5,34	6,42	120,24	0,00	105
<b>Pseudomonas</b>	1,76	2,8	159,00	0,00	6,60
<b>Respiración</b>	0,86	2,71	315,38	0,00	25,04
<b>FDA</b>	41,25	15,57	37,74	9,3	111,9
<b>pH</b>	6,56	0,54	8,23	5,00	7,70
<b>Conductividad</b>	0,41	0,2	47,43	0,16	0,90
<b>MO</b>	2,42	0,73	30,34	1,16	3,79
<b>Total N</b>	0,13	0,03	26,35	0,07	0,19

Tabla 3: estadística descriptiva. Sin casos atípicos. n=246

Variable	Media	D.E.	CV	Mín	Máx
<b>Biomasa C</b>	0,85	0,44	51,81	0,08	2,32
<b>Glomalina</b>	2,84	1,22	42,97	0,67	8,66
<b>Hongos Totales</b>	6,22	0,37	6	5,00	7,40
<i>Trichoderma spp.</i>	4,67	2,06	44,18	0,00	6,32
<i>Gliocladium spp.</i>	2,02	2,51	124,3	0,00	5,48
<b>Bacterias Totales</b>	8,15	0,62	7,59	6,00	8,67
<b>Actinobacterias</b>	4,95	1,66	33,52	0,00	6,30
<b>Pseudomonas</b>	1,78	2,81	157,47	0,00	6,60
<b>Respiración</b>	0,39	0,25	63,84	0,00	1,00
<b>FDA</b>	40,76	15,64	38,37	9,30	111,9
<b>pH</b>	6,57	0,54	8,29	5,00	7,70
<b>Conductividad</b>	0,41	0,2	48,01	0,16	0,90
<b>MO</b>	2,39	0,73	30,3	1,16	3,79
<b>Total N</b>	0,12	0,03	25,99	0,07	0,19

Se eliminaron casos en función de las variables Actinobacterias y Respiración que presentaban valores extremos que posiblemente sean resultado de un error a la hora de la toma de datos.

## Análisis de la Varianza

Los resultados de los ANAVA realizados para cada variable como un bifactorial con interacción se encuentran resumidos en la siguiente tabla, donde se encuentran las diferencias entre tratamientos, entre campañas y la interacción entre ambos.

Tabla 4: Valores p para los ANAVAS bifactoriales para los factores de tratamiento, campaña y la interacción Tratamiento\*Campaña. Valores  $p < 0,05$  indican diferencias significativas.

	Tratamiento	Campaña	Trat * Camp
Biomasa C	<0,0001	0,6424	<0,0001
Glomalina	<0,0001	0,0248	<0,0001
Hongos Totales	<0,0001	<0,0001	<0,0001
<i>Trichoderma spp.</i>	<0,0001	<0,0001	0,1713
<i>Gliocladium spp.</i>	0,0003	<0,0001	0,0389
Bacterias Totales	<0,0001	0,4928	<0,0001
Actinobacterias	<0,0001	0,0129	0,1206
Pseudomonas	0,0023	0,0011	0,0013
Respiración	<0,0001	<0,0001	<0,0001
FDA	<0,0001	<0,0001	<0,0001
pH	<0,0001	0,0138	<0,0001
Conductividad	<0,0001	0,0222	<0,0001
MO	<0,0001	<0,0001	<0,0001
Total N	<0,0001	<0,0001	0,0003

En cuanto a los tratamientos, todas las variables presentan diferencias significativas. Con respecto a campaña, solo Biomasa C y Bacterias Totales no presentan diferencias significativas. Para la interacción Tratamiento\*Campaña, *Trichoderma spp.* y Actinobacterias son los únicos dos que no presentan diferencias significativas (Tabla 4).

Se realizó un análisis de la varianza para cada una de las variables para identificar si existen diferencias entre tratamientos, particionado por campaña. Se utilizó el test DGC ( $p \leq 0,05$ ). Los gráficos resultantes de los ANAVA y la prueba a posteriori DGC fueron ordenados de la misma manera: los tratamientos (barras) se disponen en forma decreciente de izquierda a derecha en cuanto a la cantidad de años bajo tratamiento. A su vez, cada NV presenta el tratamiento adyacente a la derecha, ya sea monocultivo o rotación.

El contenido de carbono de la biomasa microbiana mostró diferencias entre tratamientos (Fig. 1). En todos los suelos de bosques nativos de las dos campañas la biomasa microbiana fue mayor que en los tratamientos de monocultivo y rotación. A su vez, en la campaña 2009-2010, el carbono de la biomasa microbiana en NV 24 fue significativamente mayor a NV 15 y NV 4. NV 11 presentó el nivel más bajo de carbono de la biomasa microbiana de los tratamientos bajo bosque nativo. Con respecto a los tratamientos de monocultivo (M) y rotación (R), se evidenció diferencias significativas entre ambos. En la campaña 2010-2011, el que mayor

biomasa microbiana presentó fue también NV 24, evidenciando diferencias significativas con NV 11, NV 4 y éstos presentaron diferencias significativas con NV 15. En M y R no se presentaron diferencias significativas en la última campaña.

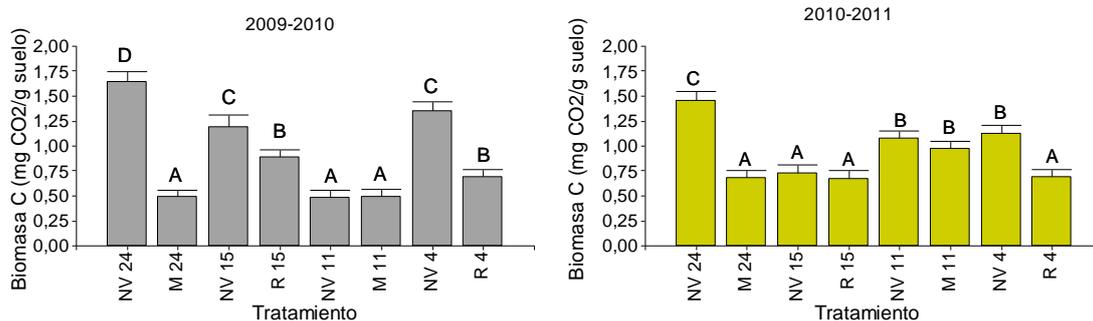


Fig. 1: Carbono de la biomasa microbiana en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

En la figura 2 se muestra las poblaciones de Hongos Totales cultivables encontradas en los distintos suelos. En la campaña 2009-2010 los tratamientos NV 11 y NV 15 presentaron la mayor cantidad de hongos totales con diferencias significativas sobre el resto de los tratamientos de esa campaña. La particularidad en la campaña 2010-2011 es que todos los tratamientos de NV presentaron mayor cantidad de hongos totales con diferencias significativas respecto a su tratamiento complementario, tanto de R como de M. Los tratamientos de R no presentaron diferencias significativas en las dos campañas. Al mismo tiempo los tratamientos M presentaron diferencias significativas entre ellos para las dos campañas.

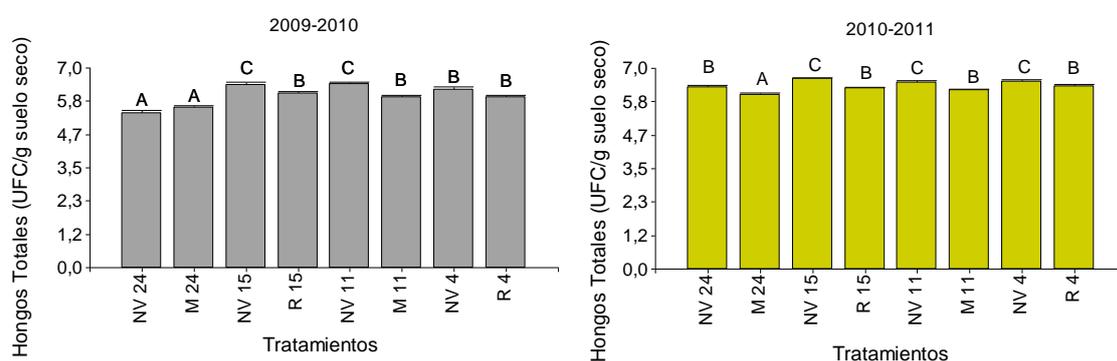


Fig. 2: Hongos Totales en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

Con respecto a las poblaciones de *Trichoderma spp.* (Figura 3.a) en la campaña 2009-2010 los tratamientos NV 24 y M 24 presentaron bajo contenido del hongo con diferencias significativas con respecto a los demás tratamientos. En la campaña siguiente sucede algo similar: los tratamientos NV 24, M 24 y M 11 presentan el menor contenido de *Trichoderma spp.* con diferencia significativa con respecto al resto.

Las UFC de *Gliocladium spp.* de la primera campaña (Figura 3.b) presentaron en los tratamientos R 15, NV 11 y M 11 diferencias significativas con los demás tratamientos. Los restantes tratamientos de bosque nativo (NV 24, NV 15 y NV 4), no presentaron poblaciones de *Gliocladium spp.* En la campaña 2010-2011 los tratamientos de monocultivo (M) junto con NV 24 presentaron los más bajos niveles de *Gliocladium spp.* con diferencias significativas.

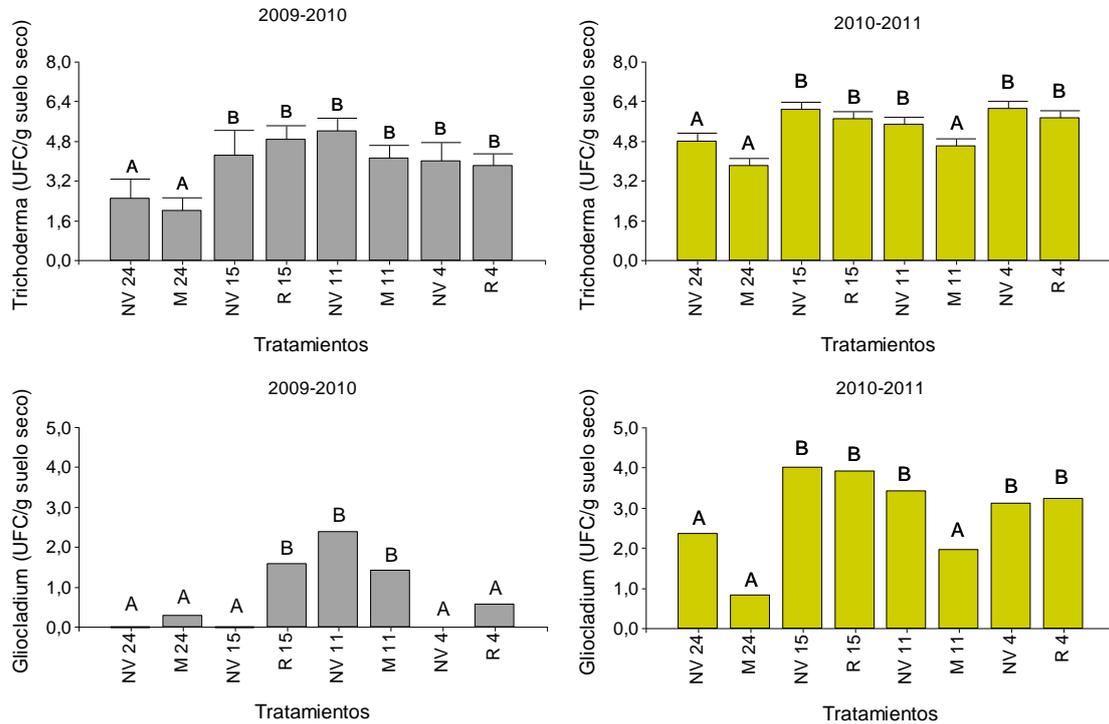


Fig. 3: Hongos biocontroladores (*Trichoderma* spp. (a) y *Gliocladium* spp. (b)) en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

La presencia de bacterias cultivables presentó un comportamiento similar al Total de Hongos. En la última campaña los tratamientos NV presentaron mayores niveles de UFC significativos que los tratamientos de R y M. A su vez, en los dos M hubo mayor cantidad de bacterias de manera significativa con respecto a los dos R. Con respecto a la campaña 2009-2010 los únicos dos tratamientos que presentaron bajos niveles de bacterias fueron M 24 y NV 4.

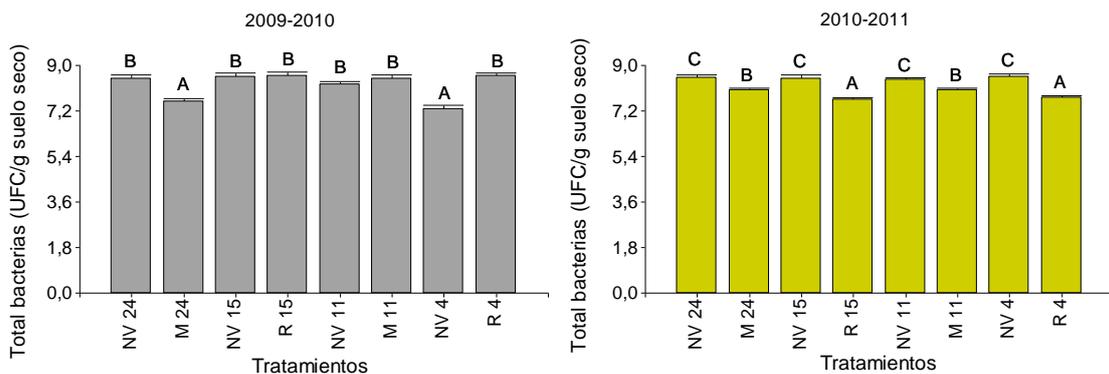


Fig. 4: Total de bacterias en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas

entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

Las Actinobacterias (Figura 5.a), que actúan como biocontroladores, se encuentran en mayor cantidad en todos los bosques nativos (NV) de la campaña 2009-2010 con respecto los lotes de monocultivo (M) y de rotación (R), presentando sólo diferencias significativas R 15 y M 11 con respecto a los demás tratamientos. En la campaña 2010-2011 los dos tratamientos que presentan menor cantidad de Actinobacterias con diferencias significativas respecto al resto son los tratamientos bajo monocultivo (M).

En contraposición, los valores de Pseudomonas (Figura 5.b) encontrados en los suelos de NV son menores a los suelos con M y R en la campaña 2009-2010, pero en ningún caso hay una diferencia significativa. En la campaña 2010-2011 también hay niveles bajos de Pseudomonas pero con un máximo muy importante, con diferencia significativa, en los lotes con rotación R 15 y R 4, alcanzando unos valores de 4,26 y 4,65 UFC/g suelo seco.

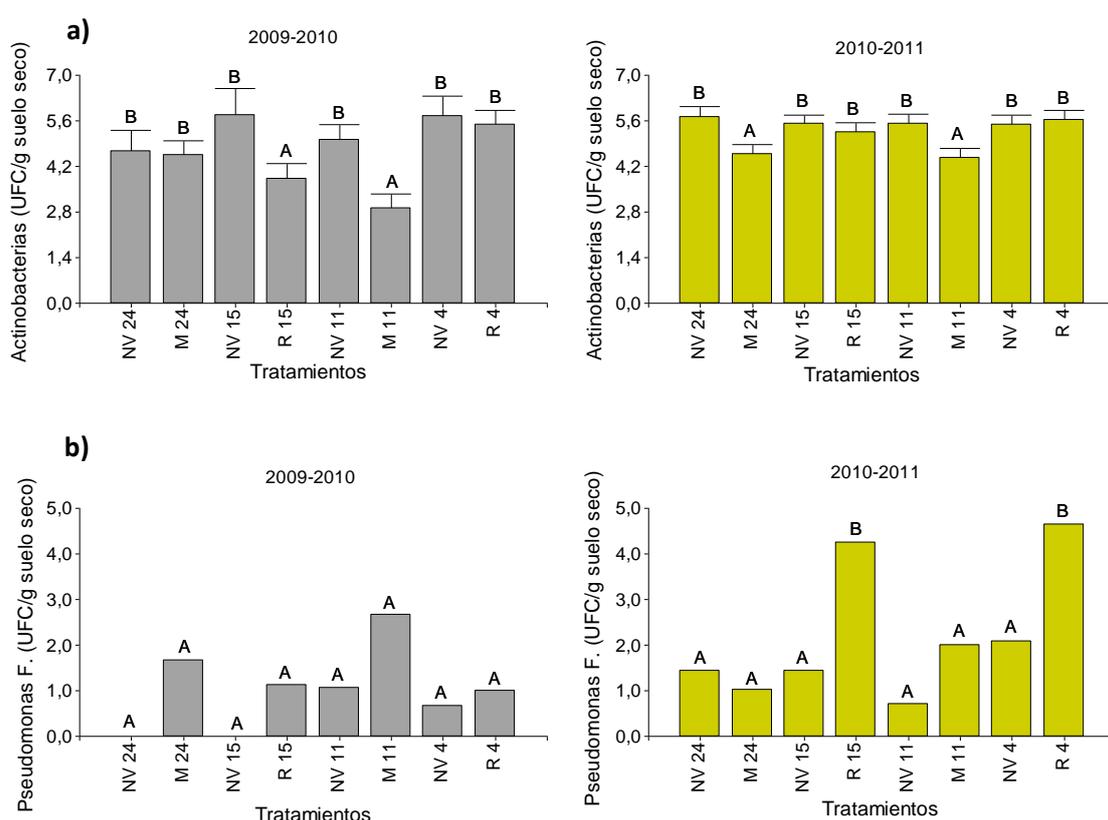


Fig. 5: Bacterias que actúan como biocontroladores (Actinobacterias y Pseudomonas) en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

La cantidad de proteína relacionada con la Glomalina (Figura 6) en la campaña 2009-2010 fue máxima en el tratamiento NV 4 con diferencias significativas sobre los demás. También alcanzó un valor elevado el tratamiento NV 15 con diferencias significativas. La menor cantidad de proteína relacionada con la Glomalina se presentó en los lotes con rotación, NV 11 y M 11. En la campaña siguiente también se presenta un valor máximo con diferencia significativa

respecto al resto en el tratamiento NV 11. Los lotes de rotación, al igual que la campaña anterior, no presenta diferencias pero los tratamientos de M presentan una gran diferencia.

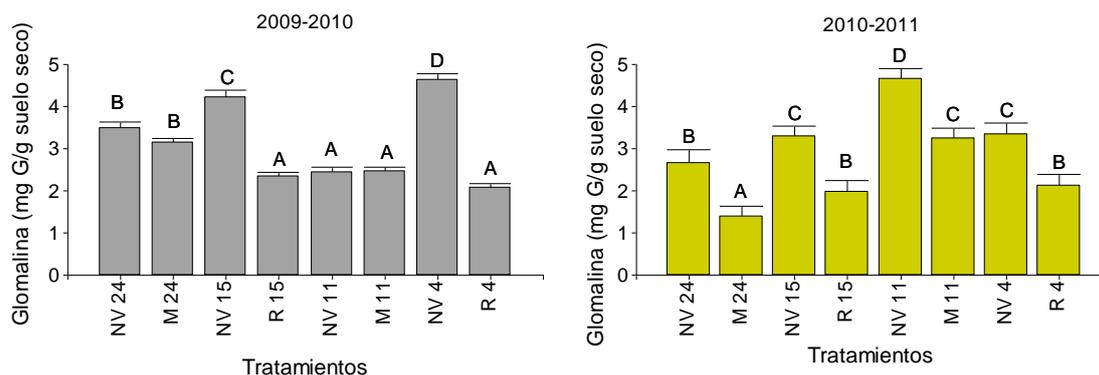


Fig. 6: Glomalina presente en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

Los lotes de M de la campaña 2009-2010 presentaron los niveles más bajos de respiración microbiana pero no hay diferencias significativas con los tratamientos de R 4 y NV 24 (Figura 7). Al mismo tiempo, NV 11 es el único que presentó el mayor nivel de respiración con diferencias significativas con los demás tratamientos. Entre los lotes de rotación, R 15 presentó diferencias con R 4, siendo la respiración microbiana menor en éste último. En la campaña 2010-2011 los valores de los tratamientos en suelos de bosque nativo fueron mayores significativamente, con excepción de NV 11. A su vez el tratamiento M 24 evidenció la menor presencia de respiración microbiana presentando diferencias significativas con los demás tratamientos. Entre los lotes en rotación no hay diferencias significativas.

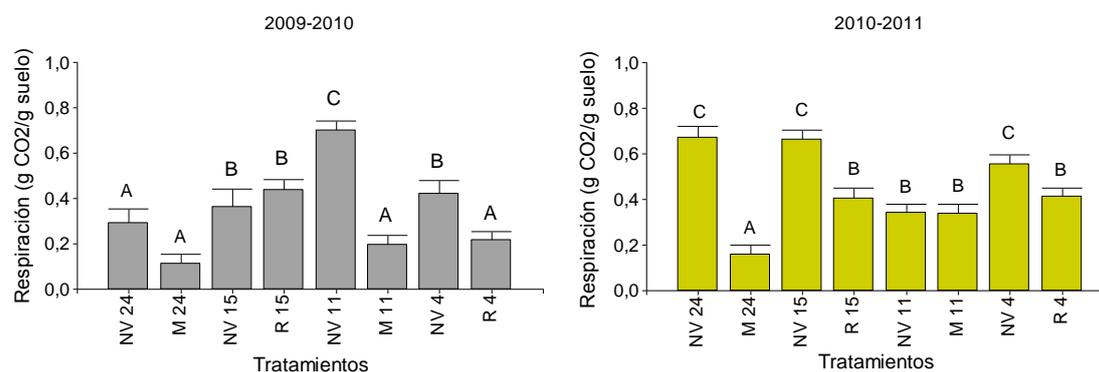


Fig. 7: Respiración microbiana en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

No hubo diferencias significativas entre lotes de rotación, ni entre lotes de monocultivo en la campaña 2009-2010 con respecto a la actividad enzimática (Figura 8). El tratamiento NV 11 contó con la mayor actividad enzimática con diferencias significativas sobre el resto. A su vez, en la campaña 2010-2011, el que contó con la mayor actividad enzimática con diferencias significativas sobre el resto fue NV 15. Entre R 4 y R 15 no hay diferencias significativas. El

menor valor de actividad enzimática se presentó en M 24 evidenciando diferencias significativas con M 11 y sobre los demás tratamientos, tanto de NV como de R.

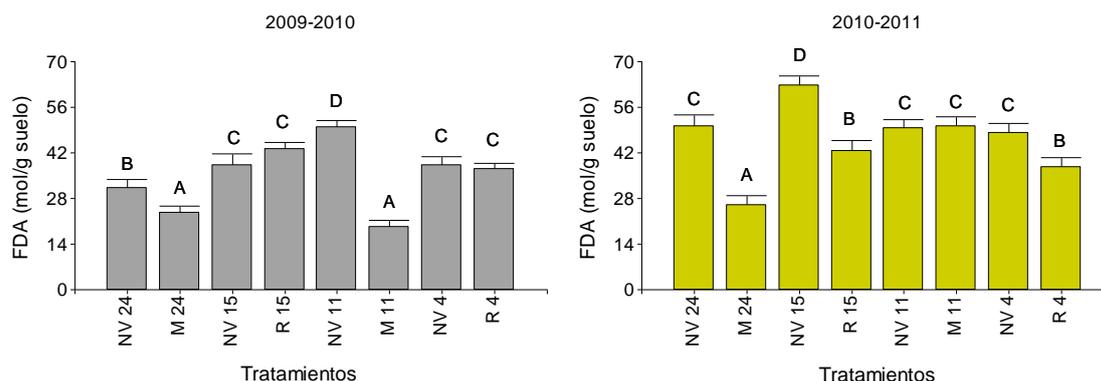


Fig. 8: Actividad enzimática en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

Con respecto al pH (Figura 8), se evidenció algo común para las dos campañas: todos los tratamientos de R y M presentaron mayor pH que su lote contiguo de bosque nativo NV (tratamiento control), y a su vez con diferencias significativas, a excepción de NV 4-R 4 de la primera campaña.

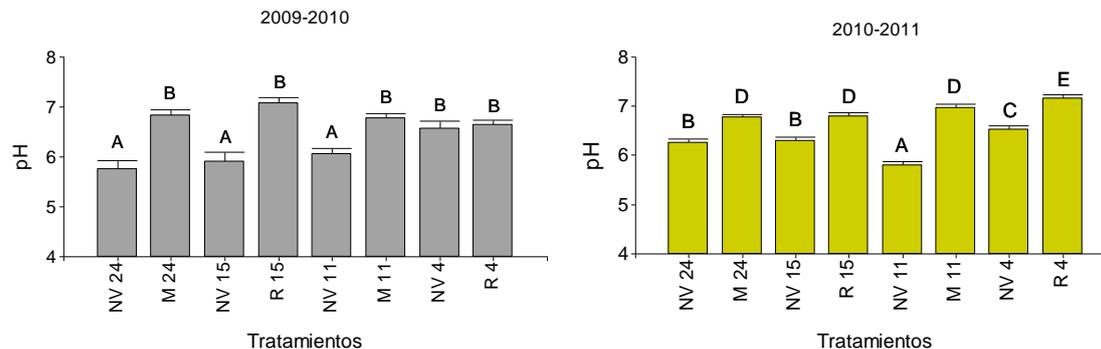


Fig. 8: pH en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

A excepción del tratamiento M 11 y su tratamiento control (NV 11) de la campaña 2010-2011 (Figura 9), todos los tratamientos bajo suelos de bosque nativo presentan mayor conductividad eléctrica con diferencias significativas con respecto a su tratamiento contiguo. A su vez, en la primera campaña se observaron diferencias significativas entre todos los tratamientos de NV, entre los dos lotes de monocultivo y entre los de rotación. Por otra parte, en la campaña siguiente, los NV 24, NV 15 y NV 11 no presentaron diferencias significativas, al igual que R 15 y R 4. En cambio, si presentaron diferencias los lotes de monocultivo entre sí.

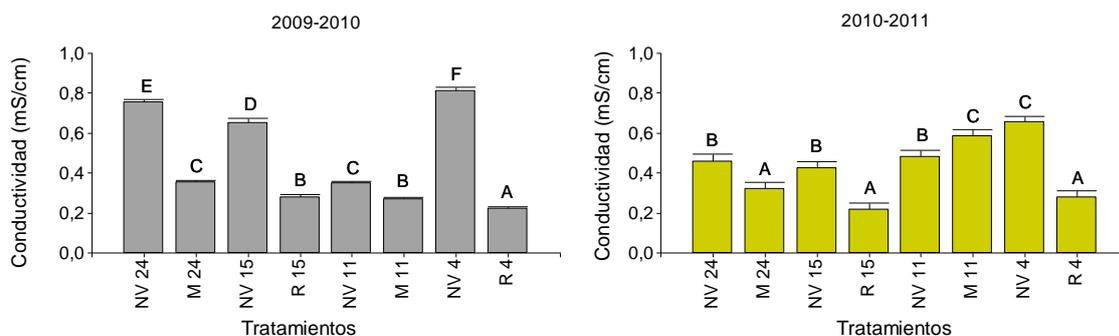


Fig. 9: Conductividad eléctrica en suelos bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

En los gráficos (Figura 10) de MO y de Nitrógeno Total se puede ver una alta correlación y una alta variabilidad de datos. Por un lado, a excepción de los tratamientos NV 11 y M 11 de la campaña 2010-2011, todos los tratamientos de NV presentaron los máximos niveles de MO y Nt con diferencias significativas con respecto a su contiguo tanto de R como de M.

En cuanto a la MO (Figura 10.a) de la campaña 2009-2010, los lotes con rotación presentaron los niveles más bajos con diferencias significativas entre ellos. En un nivel medio de MO se encuentran los lotes de monocultivo pero sin diferencia entre ellos. Los bosques nativos presentan los mayores porcentajes de MO con la particularidad de que entre todos ellos hay diferencias significativas. En la campaña siguiente los lotes de rotación mantuvieron los niveles más bajos de MO pero ahora sin diferencias significativas, y con los tratamientos de M sucede lo mismo que la campaña anterior: niveles medios y sin diferencias entre ellos. Por último, el contenido de MO de los bosques nativos presentó los mayores niveles pero esta vez sin diferencias, a excepción de NV 11 como se mencionó en el párrafo anterior.

Por el hecho de estar correlacionados, con el contenido de Nt ocurrió algo similar al contenido de MO (Figura 10.b): en la campaña 2009-2010 los lotes en rotación presentaron bajos niveles con diferencia entre ellos, los lotes en monocultivo niveles medios sin diferencia entre ellos y los tratamientos en bosques nativos presentaron alto contenido de Nt con diferencia entre ellos. En la campaña siguiente los lotes en rotación también presentaron niveles más bajos sin diferencia entre ellos, los de monocultivo niveles medios con diferencia entre ellos y los tratamientos bajo bosque nativo, a excepción del NV 11, presentaron los niveles más altos sin diferencia entre ellos.

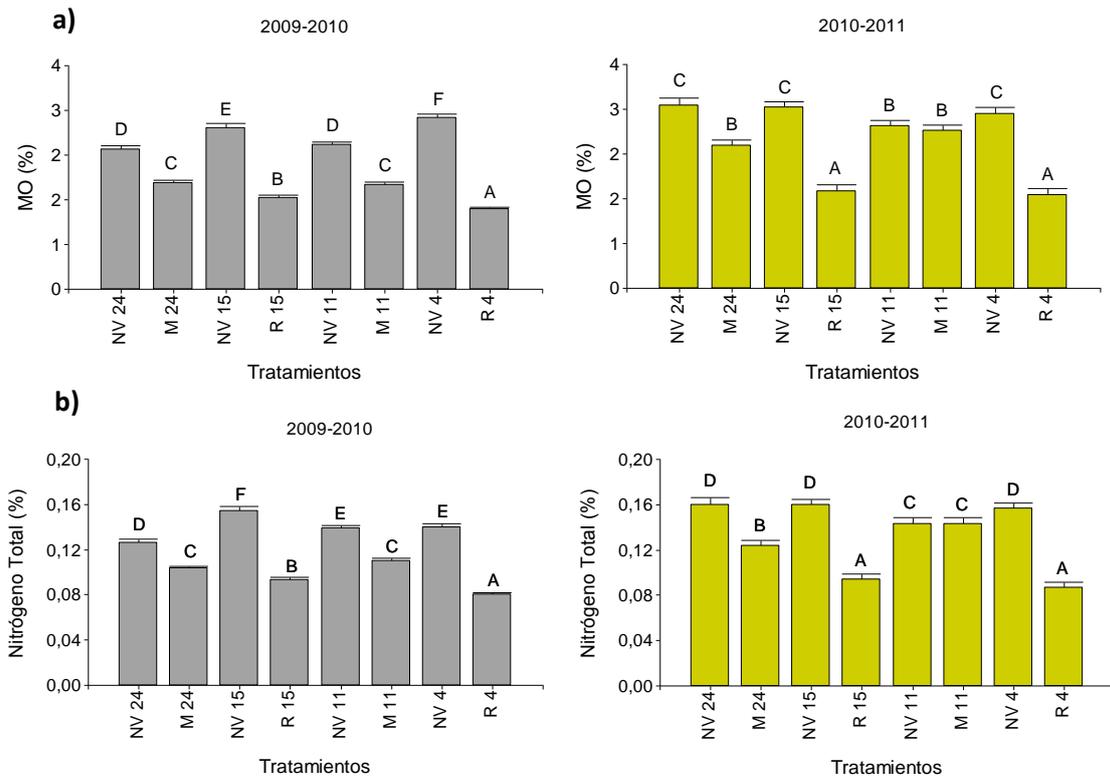


Fig. 10: Contenido de MO (a) y de Nitrógeno Total (b) bajo Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) para las campañas 2009-2010 y 2010-2011. Letras distintas indican diferencias significativas entre tratamientos con el test DGC ( $P \leq 0,05$ ).

### Matriz de diagramas de dispersión y análisis de correlación

La figura 11 muestra la matriz de diagramas de dispersión en donde se visualizaron las relaciones entre el conjunto de variables (parámetros biológicos). No se incluyeron los biocontroladores porque presentan valores discretos, es decir, hay biocontroladores (valores entre 5 y 6) o no hay biocontroladores (valores = 0). Debajo del gráfico se encuentra la tabla con el análisis de correlación de Pearson, donde también están ausentes los biocontroladores por el mismo motivo.

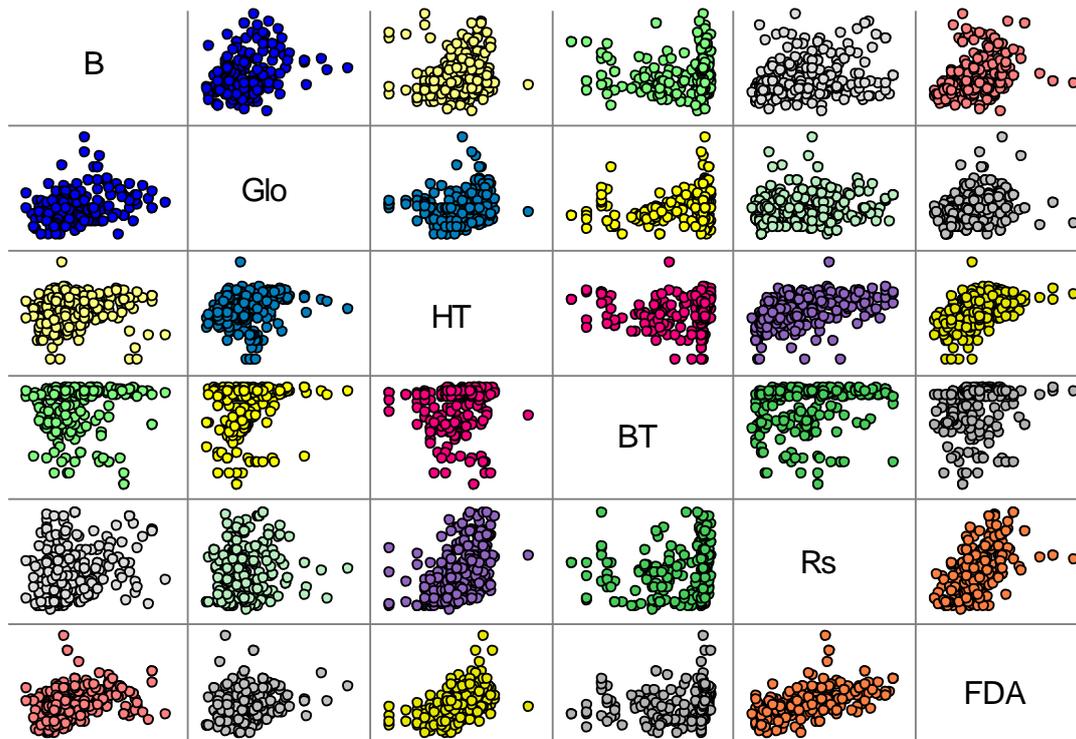


Fig. 11: Matriz de diagramas de dispersión para las variables Biomasa-C (B), proteína relacionada con la glomalina (Glo), Hongos Totales (HT), Bacterias Totales (BT), Respiración (Rs) y actividad enzimática (FDA). Parámetros biológicos

Tabla 5: Análisis de correlación de Pearson para las variables Bacterias Totales (BT), Carbono de la Biomasa Microbiana (B), proteína relacionada con la glomalina (Glo), Hongos Totales (HT), Respiración (Rs) y actividad enzimática (FDA). Parámetros biológicos. (\*) indica que existe correlación entre las variables con p valor de 0,05.

	B	Glo	HT	BT	Rs
Glo	0,320*				
HT	0,139*	0,187*			
BT	-0,020	0,164*	0,126*		
Rs	0,245*	0,130*	0,484*	0,166*	
FDA	0,323*	0,214*	0,507*	0,165*	0,580*

En la figura 12 se muestra la matriz de diagramas de dispersión para los parámetros químicos del suelo. Debajo del gráfico se encuentra la tabla con el análisis de correlación de Pearson.

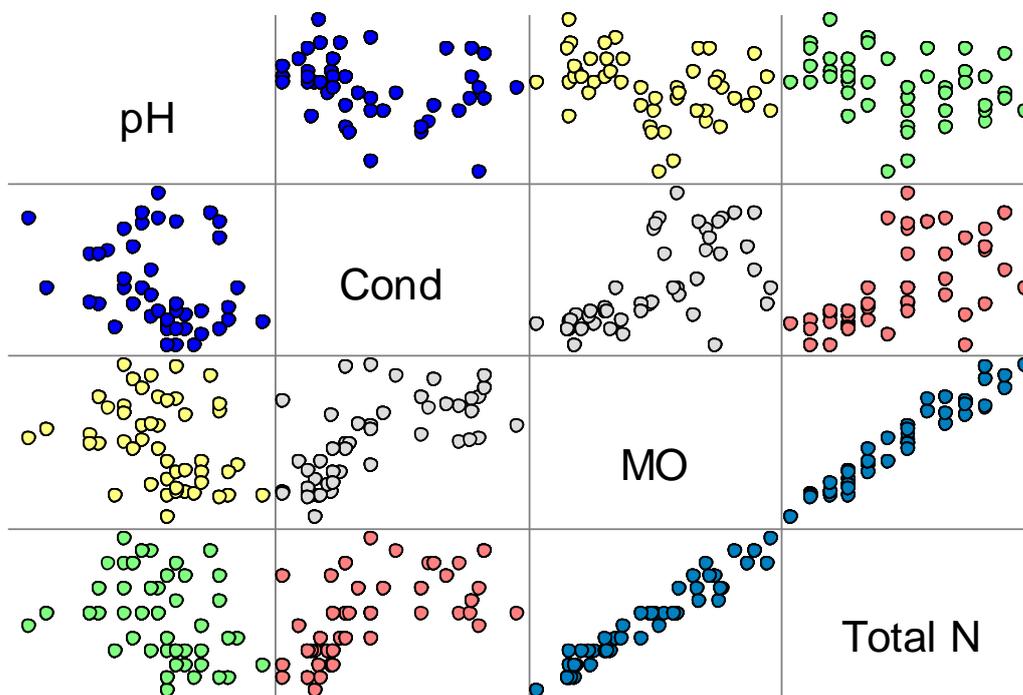


Fig. 12: Matriz de diagramas de dispersión para las variables pH, Conductividad eléctrica (Cond), Materia Orgánica (MO) y Nitrógeno Total (Total N). Parámetros químicos

Tabla 6: Análisis de correlación de Pearson para las variables pH, Conductividad eléctrica (Cond), Materia Orgánica (MO) y Nitrógeno Total (Total N). Parámetros químicos. (\*) indica que existe correlación entre las variables con p valor de 0,05.

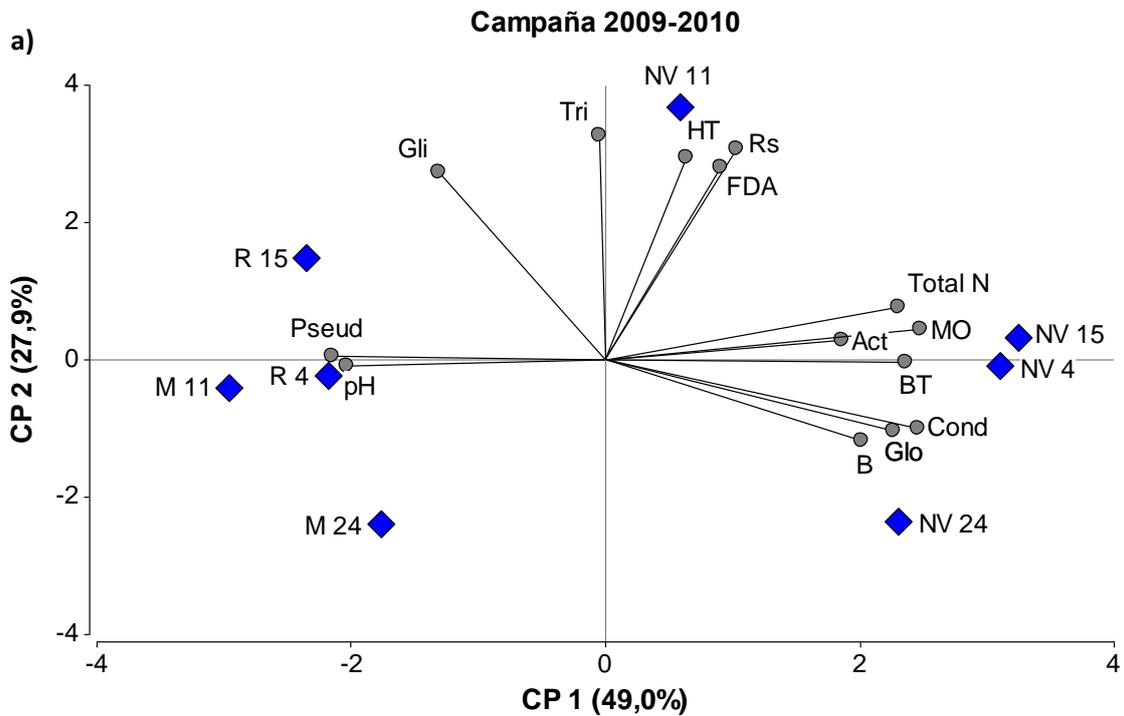
	pH	Cond	MO
Cond	-0,213*		
MO	-0,302*	0,675*	
Total N	-0,297*	0,636*	0,971*

En la tabla 5 se observan correlaciones significativas positivas pero la mayoría con coeficiente por debajo de 0,05, excepto BT cuya correlación con B no es significativa.

En la tabla 6 se observa que todas las correlaciones son significativas. El coeficiente de correlación más alto es entre MO y Total N (0,97). También existe una correlación positiva entre Cond y las variables MO y Total N (0,67 y 0,63 respectivamente). El pH presentó una correlación negativa con las otras tres variables con coeficientes menores al valor absoluto de -0,4.

### Análisis de Componentes Principales

En la Figura 12.a. se presenta el gráfico biplot resultante del ACP principales para cada campaña. Como puede verse la primera componente (CP1) separó pH y Pseud del resto de las variables, por lo tanto la mayor variabilidad entre los distintos lotes se explica con estas variables. Los dos primeros ejes (CP1 y CP2) explicaron el 76,9 % de la variabilidad total. A lo largo de CP1 (49 %), los sitios NV4, NV11, NV15 Y NV 24 se separaron de los lotes de monocultivo y rotación, éstos se localizaron del lado izquierdo del plano. Las variables que más contribuyeron a las separaciones de los sitios NV de los sitios agrícolas fueron: B, Glo, Cond, BT, Act, MO y Total N.



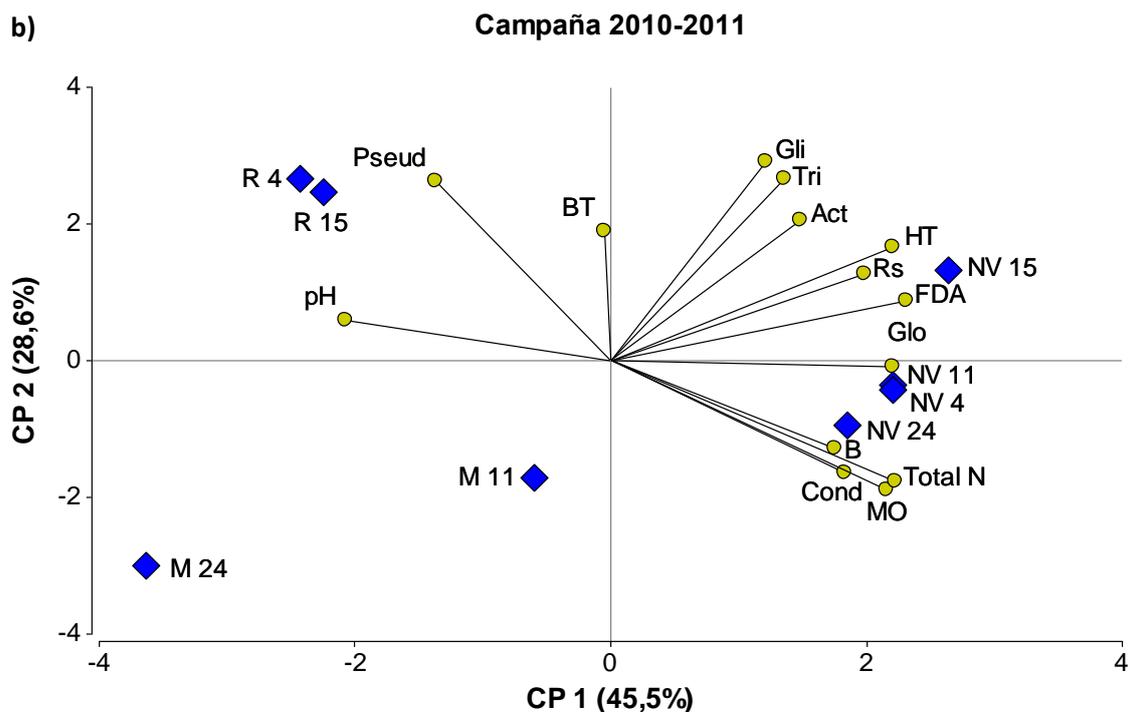


Fig. 13: Biplots resultantes del ACP de las campañas 2009-2010 (a) y 2010-2011 (b), para los tratamientos de Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) sobre parámetros biológicos del suelo. Los números 24, 15, 11 y 4 indican los años bajo cada tratamiento. CP = Componente principal, HT = Hongos totales, BT = Bacterias totales, Tri = *Trichoderma spp.*, Gli = *Gliocladium spp.*, Act = Actinobacterias, Pseud = *Pseudomonas fluorescens*, B = Carbono de la biomasa microbiana, Glo = Proteínas relacionadas a la glomalina, Rs = Respiración microbiana, FDA = Actividad FDA, Total N = Total Nitrógeno, MO = materia orgánica, Cond = conductividad eléctrica.

Para la campaña 2010-2011 (Figura 12.b) los resultados que se visualizan en el biplot muestran una separación de las variables pH y Pseud del resto de las variables por parte del CP1. Los dos primeros ejes (CP1 y CP2) explicaron el 74,1 % de la variabilidad total. Los tratamientos NV se presentaron a la derecha del CP1 (45,5 %) y tanto los tratamientos M como R se ubicaron a la izquierda de CP1, al igual que en la campaña anterior. A su vez, el CP 2 (28,6%) separó a los tratamientos R y M en la parte izquierda del plano. Las variables que más contribuyeron a la separación de los bosques nativos con los suelos agrícolas son: Cond, MO, Total N, B, Glo, FDA, Rs y HT.

Para corroborar los resultados similares que se dan en las dos campañas se realizó un ACP para las dos campañas. Los resultados se muestran en la figura 14.

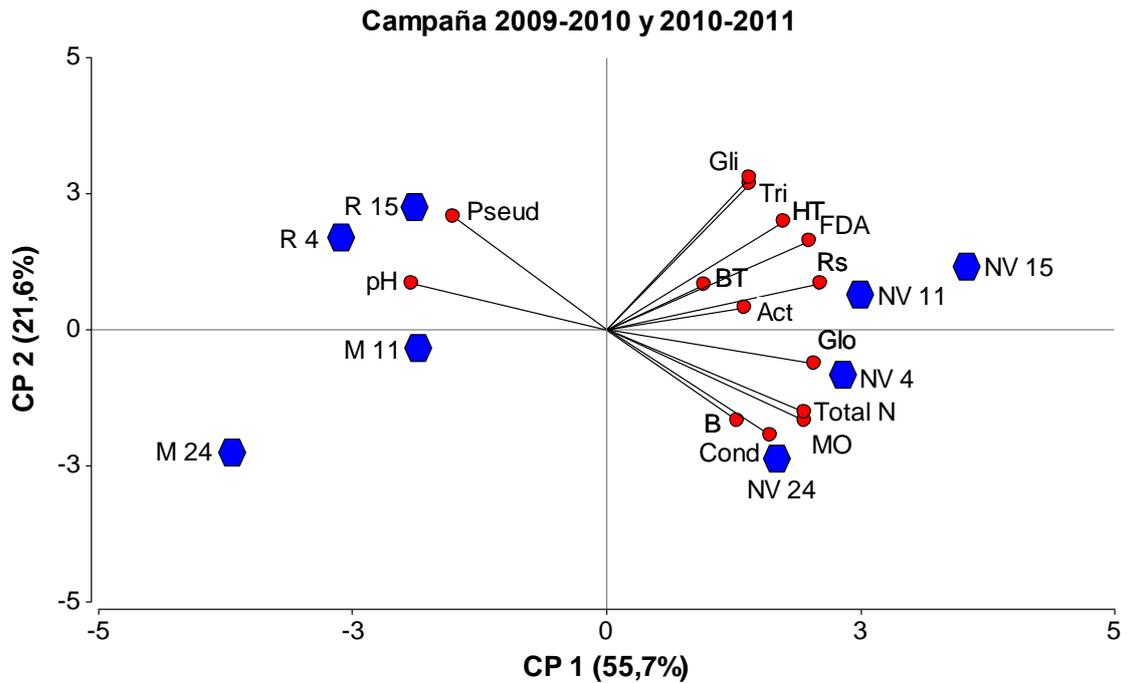


Fig. 14: Biplot resultante del ACP de las dos campañas para los tratamientos de Bosque Nativo (NV), Rotación Soja-Maíz (R) y Monocultivo de Soja (M) sobre parámetros biológicos del suelo. Los números 24, 15, 11 y 4 indican los años bajo cada tratamiento. CP = Componente principal, HT = Hongos totales, BT = Bacterias totales, Tri = *Trichoderma spp.*, Gli = *Gliocladium spp.*, Act = Actinobacterias, Pseud = *Pseudomonas fluorescens*, B = Carbono de la biomasa microbiana, Glo = Proteínas relacionadas a la glomalina, Rs = Respiración microbiana, FDA = Actividad FDA, Total N = Total Nitrógeno, MO = materia orgánica, Cond = conductividad eléctrica.

## Discusión y Conclusión

A lo largo de este trabajo se observó la influencia que tienen las distintas prácticas agrícolas sobre las poblaciones de microorganismos del suelo. En primer lugar estos cambios se visualizan en las variables donde se refleja la presencia, el tamaño y la actividad microbiana: respiración (Rs), el carbono de la biomasa microbiana (B) y la actividad enzimática (FDA). Los suelos de bosque nativo presentaron los mayores niveles en estas variables. Es ampliamente conocido que la rotación de cultivos favorece el ciclado de nutrientes, mejora las condiciones de la rizósfera y alterna los residuos disponibles para los microorganismos. Esto se evidenció en los resultados obtenidos ya que los suelos bajo rotación presentaron mayores niveles de Rs, B y FDA. Por lo tanto, un manejo conservacionista supone un aporte indispensable de carga microbiana a los sistemas y un incremento de los stocks de CO<sub>2</sub>, contribuyendo al aumento del secuestro de C y a una mejora de la calidad biológica del suelo.

En este estudio, el manejo agrícola influyó negativamente en las densidades de poblaciones de HT, BT y potenciales biocontroladores, respecto a los lotes de bosque nativo. En general, los niveles de HT, BT, *Trichoderma spp.*, *Gliocladium spp.* y Actinobacterias fueron mayores en los suelos de bosque nativo con respecto a los suelos agrícolas. No ocurrió lo mismo con las *Pseudomonas fluorescentes*, en donde los suelos de bosque nativo presentaron niveles muy bajos con respecto a los suelos agrícolas, en contraposición a otros trabajos realizados (Pérez Brandán, 2014). El mayor impacto en las poblaciones microbianas se vio en los tratamientos bajo monocultivo. Las poblaciones de HT, BT, *Trichoderma spp.*, *Gliocladium spp.*, Actinobacterias y *Pseudomonas fluorescentes* bajo monocultivo fueron menores respecto a las mismas poblaciones bajo rotación. Se concluye que los residuos aportados por el maíz en la rotación tuvieron un efecto positivo sobre las poblaciones de biocontroladores y sobre las poblaciones de HT y BT demostrando la importancia y el impacto de las prácticas conservacionistas en el establecimiento de microorganismos benéficos.

El efecto negativo de las prácticas agrícolas en los parámetros físicos y químicos del suelo también fue reflejado por los resultados de este trabajo. Se evidenció una disminución en el porcentaje de MO de los suelos agrícolas. Dentro de los suelos agrícolas, los niveles más bajos de MO y Nt se presentaron en los suelos bajo rotación, a diferencia de otros trabajos realizados sobre este tema. Pérez Brandán (2014) sostiene que el monocultivo de soja reduce significativamente el contenido de MO y de Nt en comparación con suelos en rotación. En este trabajo no se llegó a la misma conclusión, ya que los niveles de MO y Nt de los suelos bajo monocultivo en las dos campañas fueron significativamente mayores a los valores presentados bajo rotación (Figura 10).

Con respecto al pH, los resultados evidencian un aumento en los suelos agrícolas con respecto al bosque nativo. Lo contrario se observó en los valores de conductividad eléctrica: los valores más elevados se presentaron en los suelos de bosque nativo. Algunos autores afirman que la pérdida de MO por efecto de las prácticas convencionales, pueden incrementar la retención de cationes, alterando el efecto tampón del pH y disminuyendo la conductividad eléctrica.

A pesar de que hubo diferencias significativas en los niveles de pH entre los diferentes tratamientos, los valores se mantuvieron dentro del óptimo para suelos agrícolas, entre 6 y 7.

De manera general, se concluye que las actividades agrícolas reducen la cantidad de MO; a su vez producen una disminución en el contenido de Nitrógeno Total, una disminución en la conductividad y un cambio del pH del suelo por la pérdida de la capacidad buffer que le brinda al suelo la MO.

A través de este trabajo podemos concluir que las prácticas realizadas sobre el suelo como la deforestación, el monocultivo y la rotación afectan la composición y función de las comunidades microbianas del suelo. Seleccionar e implementar prácticas de gestión eficaces en un sistema de producción, de manera económica y ambientalmente viable, requiere una mayor investigación de los sistemas complejos del suelo, una mayor comprensión de la biota y ecología esencial del mismo, sobre todo teniendo en cuenta el papel principal de los microorganismos en la mejora de la calidad del suelo, y en el uso sostenible de la tierra y de la gestión de los recursos.

Las herramientas estadísticas usadas en este trabajo presentan un gran valor a la hora de hacer proyectos de investigación, debido a su estrecha relación con el método científico. Podemos ver después de este tiempo de cursado en el Área y las horas dedicadas a este trabajo, la importancia que tiene el conocimiento estadístico para diseñar el estudio, analizar de una manera correcta los datos relevados y fundamentalmente para interpretar los mismos y llegar a conclusiones agronómicas con un fundamento científico, que a posteriori sirven en un proceso de toma de decisiones.

## **Agradecimientos**

A todos los docentes del Área de Consolidación por dedicación, su paciencia y enseñanza a lo largo de todo el cursado.

A nuestra tutora, Lic. Andrea Natalia Peña Malavera por acompañarnos y guiarnos en este trabajo, por su disposición en todo momento.

A Silvina Vargas Gil por brindarnos la base de datos para realizar el trabajo.

## Bibliografía

- Aapresid. (2013). *La SD en Argentina*. Consultada el 14 de noviembre de 2014, en <[http://www.aapresid.org.ar/wp-content/uploads/2013/02/la\\_sd\\_en\\_argentina.pdf](http://www.aapresid.org.ar/wp-content/uploads/2013/02/la_sd_en_argentina.pdf)>
- Aapresid. (2013). *Por monocultivo, el suelo pierde un 30% de su materia orgánica*. Consultada el 14 de noviembre de 2014, en <<http://www.aapresid.org.ar/blog/por-monocultivo-el-suelo-pierde-un-30-de-su-materia-organica/>>
- Abril, A. (2013). *Microbiología agrícola: apunte teórico*. Córdoba: UNC, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Bautista-Zúñiga, F., Delfín-González, H., Palacio-Prieto, J. L., & Delgado-Carranza, M. (2004). *Técnicas de muestreo para manejadores de recursos naturales*. México: UADY-CONACYT-INE-UNAM.
- Di Rienzo, J. A., Guzmán, A. W., & Casanoves, F. (2002). A multiple-comparisons method based on the distribution of the root node distance of a binary tree. *Journal of Agricultural, Biological, and Environmental Statistics*, 7(2), 129-142.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. (2014). InfoStat versión 2014. Grupo InfoStat, Ed Brujas, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Gray, T; Williams, S. (1971). *Soil microorganism*. Edimburgh: Oliver and Boyd.
- Pérez Brandán, C. (2014). *Impacto de diferentes prácticas agrícolas sobre la diversidad microbiana del suelo y la sustentabilidad de un agroecosistema sojero del Norte Argentino*. Córdoba: UNC, Facultad de Ciencias Agropecuarias.
- Pérez Brandán, C., Huidobro, J., Grumberg, B., Scandiani, M.M., Luque, A.G., Meriles, J.M. & Vargas-Gil, S. 2014b. *The effect of crop sequences on soil microbial, chemical and physical indicators and its relationship with soybean sudden death syndrome (complex of Fusarium species)*. Spanish Journal of Agricultural Research 12: (1), 252-264.
- Pérez Brandán, C.; Huidobro, J.; Scandiani, M.; Luque, A.; Meriles and S. Vargas Gil. 2014a. *Soybean fungal soilborne diseases: a parameter for measuring the effect of agricultural intensification on soil health in northern Argentina*. Canadian Journal of Microbiology 60: (2), 73-84.
- Van Gestel, M; Merckx, R & Vlassak, K. (1993). *Microbial biomass responses to soil drying and rewetting: the fate of fast- and slow- growing microorganism in soils from different climates*. Soil Boil. Biochem. 25 (1) 109-123.