

Actividad microbiológica de un suelo sometido a distintos usos y su relación con variables físico- químicas

Microbiological activity of a soil under different uses and its relation with physico-chemical variables

Cesar Augusto Di Ciocco ¹, Rosana Veronica Sandler ², Liliana Beatriz Falco ², Carlos Eduardo Coviella ²

Originales: Recepción: 09/09/2013 - Aceptación: 19/02/2014

RESUMEN

Gran parte de los procesos microbianos que contribuyen a la fertilidad de los agroecosistemas y el ciclado de nutrientes ocurren en el suelo. Este ciclado de nutrientes depende críticamente de la actividad microbiológica de los suelos, la cual a su vez está mediada por la estructura y funcionamiento de la microbiota edáfica. En este contexto, el objetivo de este trabajo, fue determinar si la actividad microbiana puede ser buena indicadora de la intensidad de uso del suelo, analizando: 1- si las diferencias en la intensidad de uso del suelo se relacionan con diferencias en la actividad microbiológica estimada a través de la respiración edáfica y la actividad enzimática; y 2- las posibles relaciones entre estas variables microbiológicas y las variables físico-químicas. Entre 2008 y 2010 se realizaron muestreos trimestrales en campos de la provincia de Buenos Aires en suelos Argiudoles bajo diferentes usos: 1- Agricultura intensiva continua, 2- Agricultura reciente, y 3- Pastizales naturalizados. Tres sitios de muestreo se seleccionaron como réplicas para cada uso de suelo, con 5 muestras por fecha y réplica. La actividad microbiana se evaluó midiendo la respiración edáfica y la actividad de las enzimas nitrogenasas y se analizaron variables físico- químicas. Tanto las variables microbiológicas como

ABSTRACT

Much of the microbial processes that contribute to agroecosystems fertility and nutrient cycling take place in the soil. This nutrient cycling depends critically on the soils' microbiological activity, which is, in turn, mediated by the structure and functioning of the edaphic biota. In this context, the objective of this work was to determine if the microbial activity can be a good indicator of soil use intensity, by analyzing: 1- if differences in soil use intensity are related to differences in microbiological activity estimated through soil respiration and enzymatic activity, and 2- the possible relationships between these variables and physico-chemical variables. Samplings were conducted every three months between 2008 and 2010 in fields in the Buenos Aires province on argiudoll soils under different land uses: 1- Intensive continuous agriculture, 2- Recent agriculture and 3- Naturalized grasslands. Three sampling sites (replicates) were selected for soil use and five samples were collected per replicate and date. Microbial activity was then assessed by measuring soil respiration and nitrogenase enzyme activity, and physico-chemical variables were measured as well. Data were analyzed by means of a Kruskal-Wallis test ($P < 0.05$). A non- parametric analysis was performed (Spearman multiple correlation) between

1 Grupo de Sustentabilidad Agropecuaria. 2 Programa de Investigaciones en Ecología Terrestre. Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable y Departamento de Ciencias Básicas. Universidad Nacional de Luján, Ruta 5 y Avenida Constitución. (6700) Luján. Buenos Aires, Argentina.

las físico-químicas se analizaron mediante Kruskal-Wallis ($P < 0,05$). Se exploró la asociación entre las variables físico-químicas y microbiológicas aplicando el coeficiente de correlación no paramétrico (Spearman). Los distintos usos de un mismo suelo presentaron diferencias en la actividad microbiológica. La respiración edáfica fue significativamente mayor en los pastizales naturalizados que en los sistemas con agricultura. La actividad nitrogenasa resultó significativamente mayor en los pastizales naturalizados respecto de la agricultura continua y no se diferenció significativamente de la agricultura reciente. Las variables físico-químicas resultaron menos consistentes en detectar diferencias entre usos. Se detectaron correlaciones significativas entre la actividad microbiológica y algunas de las variables físico-químicas. Los resultados muestran que la actividad microbiológica puede resultar útil para diferenciar intensidades de usos de suelo.

the physicochemical and microbiological variables. The different uses of the same soil showed significant differences in microbiological activity. Soil respiration was higher in the naturalized grasslands and lower in the continuous agricultural system. Nitrogenase activity was higher in the naturalized grasslands, intermediate in the recent agricultural system and lower in the continuous agriculture fields. The physico-chemical variables measured were less consistent in detecting differences among soil uses. Significant correlations were detected between microbiological activity and some of the physico-chemical variables measured. The results show that microbiological activity can be useful to detect differences in soil use intensity.

Palabras clave

actividad nitrogenasa • respiración edáfica • propiedades físico-químicas • sustentabilidad • agroecosistemas

Keywords

nitrogenase activity • soil respiration • physico-chemical properties • sustainability • agroecosystems

INTRODUCCIÓN

Los procesos microbianos edáficos que en gran parte determinan la descomposición de la materia orgánica, el ciclado de nutrientes y la incorporación de nitrógeno atmosférico entre otros servicios ecosistémicos, dependen de manera crítica de la estructura de la comunidad de microorganismos presentes (7). Estos microorganismos mantienen funciones ecológicas esenciales que determinan en gran medida la sustentabilidad a largo plazo de los agroecosistemas (4, 7, 11, 19). Así, la diversidad de la biota edáfica en general y de los microorganismos de suelo en particular, se relacionan con su capacidad productiva, el uso eficiente de agua y los nutrientes (38). Adicionalmente el mantenimiento de una alta biodiversidad puede conferir resistencia y resiliencia favoreciendo la sustentabilidad de los ecosistemas (11, 17).

Diferentes usos del mismo suelo, pueden afectar diferencialmente a los microorganismos del suelo, modulando así los servicios ecosistémicos brindados por este grupo de organismos. La respiración edáfica y la capacidad bacteriana para la fijación de nitrógeno atmosférico, son dos variables que pueden ser utilizadas para medir indirectamente la actividad microbiológica (1) y estimar así la capacidad del suelo para el reciclado de nutrientes y el impacto de la actividad humana sobre éste.

El nitrógeno es uno de los nutrientes que más impacta sobre la productividad de los agroecosistemas y en consecuencia, la medición de la actividad fijadora puede ser utilizada como estimador indirecto de sustentabilidad (12). La fijación biológica de nitrógeno se lleva a cabo por microorganismos libres del suelo y cianobacterias que pueden formar costras en la superficie del suelo, además de la fijación de nitrógeno simbiótica que logran bacterias asociadas a las plantas leguminosas y actinomicetes que forman nódulos en alisos, casuarinas y otras especies forestales (12, 34, 40).

La disponibilidad de C-energía, dependerá del tipo de residuos vegetales y de su velocidad de descomposición y en los suelos agrícolas es el principal factor que limita la expresión de la actividad nitrogenasa de los organismos diazotróficos de vida libre (30, 31).

La relación entre un proceso oxidativo como es la respiración y otro reductivo como la reducción del nitrógeno atmosférico llevada adelante por una pequeña porción de la comunidad microbiana, permite evaluar el flujo de electrones y energía que se produce en el subsistema edáfico (30, 31, 32). La estructura de la comunidad microbiana y sus modificaciones pueden deberse a factores ambientales, residuos de cosecha, plaguicidas, fertilizantes u otras prácticas de manejo que podrían alterar las condiciones del suelo donde estos procesos tienen lugar.

La resistencia a la penetración del suelo, la materia orgánica, el pH y el nivel de nutrientes pueden contribuir a explicar el estado de la actividad biológica del suelo (27). Las prácticas de manejo afectan la estructura y dinámica de algunas poblaciones microbianas (21, 27, 29), su distribución en el perfil del suelo y los procesos asociados con la descomposición de la materia orgánica y el ciclado de nutrientes.

Los microorganismos presentan un interesante potencial como indicadores de alta sensibilidad a los cambios edáficos producidos por las prácticas de manejo agrícola y pueden ser utilizados como indicadores potenciales de calidad de los suelos.

Trabajos previos (1) observaron que los procesos microbianos son indicadores tempranos de la calidad del suelo y puedan anticipar su degradación antes que los parámetros físicos o químicos. Entre estos procesos microbianos la respiración edáfica, la actividad deshidrogenasa y las bacterias fijadoras de nitrógeno han sido reconocidas como los parámetros más sensibles entre distintos parámetros microbiológicos y bioquímicos que fueron evaluados en 49 suelos europeos afectados antrópicamente (16).

Según Abril (1) los parámetros biológicos fueron más sensibles que los químicos y entre estos se destacaron los nitrificadores, los celulolíticos y la respiración del suelo. Teniendo en cuenta que los parámetros microbiológicos son sensibles y fáciles de medir, éstos pueden constituirse en una herramienta útil para diferenciar distintas intensidades de uso de suelo.

Sobre la base de la información disponible y de ensayos anteriores en estos mismos suelos (13) se decidió estudiar la respiración edáfica y la actividad nitrogenasa de las bacterias libres fijadoras de nitrógeno. La hipótesis de trabajo fue que la intensidad del uso del suelo afectará la actividad microbiológica y que la misma estará correlacionada con las variables físico-químicas del suelo. Los objetivos de este trabajo fueron determinar si las diferencias en el uso del suelo se relacionan con diferencias en la actividad microbiana, medida a través de la respiración edáfica y la actividad nitrogenasa; y determinar las posibles relaciones entre estas variables microbiológicas y las variables físico-químicas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se realizó entre agosto de 2008 y diciembre de 2010 en campos ubicados en los partidos de Navarro y Chivilcoy, provincia de Buenos Aires. Los suelos estudiados fueron todos Argiudoles típicos bajo tres diferentes usos del suelo: 1- Campos agrícolas con más de 40 años de agricultura continua (AC), 2- Campos con agricultura reciente, los cuales contaban con una historia de más de 25 años de ganadería y que entraron en un ciclo agrícola 2 años antes del inicio de este trabajo (AR) y 3- Pastizales naturalizados dominados por gramíneas con muy bajo impacto antrópico (PN). En el uso agrícola la siembra directa fue el sistema predominante. Para cada uso de suelo se muestrearon tres campos distintos sometidos al mismo uso (réplicas).

En los campos con agricultura continua y reciente la rotación predominante fue trigo-soja de 2°, maíz soja de 1°. Los fertilizantes empleados fueron urea (46% de N) o fosfato diamónico (18% de N y 46% de P como P_2O_5) en la siembra en dosis menores a 100 kg ha⁻¹. Respecto del manejo fitosanitario, previo a la siembra de los cultivos y durante el desarrollo de soja se aplicó glifosato en dosis que alcanzaron los 12 L ha⁻¹año⁻¹ y el uso de plaguicidas se ajustó a las recomendaciones establecidas por el INTA para estos cultivos en estas zonas (información personal suministrada por los productores).

Muestreos

Se realizaron trimestralmente correspondiendo a 10 muestreos totales. En cada oportunidad se colectaron 5 muestras al azar de cada una de las tres réplicas por sistema, correspondiendo a 150 muestras totales por cada uso del suelo. Tanto las muestras de suelo destinadas a los análisis químicos como a los microbiológicos, se tomaron con pala a una profundidad de 0-10 cm de los mismos puntos. Dentro de un metro de radio de estos puntos se determinó la resistencia a la penetración, la densidad aparente y la humedad edáfica.

Análisis de variables microbiológicas

Se evaluó la respiración edáfica (R) (18) y la fijación biológica de nitrógeno, esta última a través de la actividad de las enzimas nitrogenasas (AN) (23). La respiración edáfica mide la actividad microbiológica y de la microfauna del suelo. Muestras de 20 g de suelo con el contenido de humedad original se colocan en recipientes de 350 ml, los cuales contienen, en su interior, un recipiente menor en el centro del frasco con

una trampa de álcali de 20 ml de Na OH 0,2 N. El sistema se cierra herméticamente y se incuba a 30°C durante 7 días. El CO₂ liberado por la respiración biológica se recupera en el recipiente con el Na OH. Como controles de la reacción se utilizaron frascos sin suelo y con la trampa de álcali. La producción de CO₂ se determina por titulación con ácido HCl 0,2 N y fenolfaleína como indicador.

La expresión de las enzimas nitrogenasas de los microorganismos diazotróficos de vida libre se midió por el método de reducción de acetileno, que una porción de la población microbiana del suelo transforma en etileno. El método consiste en tomar 20 g de suelo fresco que se colocan en frascos de 40 ml. Los tubos se cierran con tapa con orificio a rosca y septum de goma, y se reemplaza el 10% de su atmósfera con H₂C₂, se agitan por vortex y se incuban durante 20 hs a 30°C. Se asume que durante ese tiempo no se alcanza a producir un empobrecimiento de O₂ que limite la producción de CO₂.

La producción de etileno se analizó con un cromatógrafo de fase gaseosa (Perkin Elmer Sigma o KONIK Instruments, España) equipado con detector de ionización de llama y columna de Poropak N para el etileno (N₂ como gas carrier) y de conductividad térmica con columna de Poropak Q. La importancia de la actividad nitrogenasa es que permite analizar la estructura de la comunidad microbiana del suelo y sus modificaciones y es un indicador parcial de la calidad de esos suelos y su capacidad de fijar nitrógeno. Midiendo un proceso de reducción juntamente con un proceso oxidativo como es la respiración edáfica, la información provista permite estimar indirectamente la actividad microbiológica de los suelos y comparar los efectos de distintas intensidades de uso sobre los mismos (26, 31, 32).

Análisis de variables físico-químicas

Suelo de las mismas muestras se secaron al aire, se tamizaron por malla de 500 µm. Las variables medidas fueron: conductividad eléctrica (CE, conductímetro), materia orgánica (MO, Walkey-Black), contenido de P (Kurtz y Bray), N total (Kjeldahl), pH (1:2,5 (v/v) en agua), Ca y Mg (Titulación con EDTA) y Na y K (Fotómetro de llama). Para determinar la densidad aparente y humedad del suelo se empleó un barreno con un volumen de suelo de aproximadamente 126 cm³ (0-10 cm de profundidad). Dentro de un metro de radio desde estos puntos de muestreo, se determinó la resistencia a la penetración a dos profundidades (0-5 cm y 5-10 cm) con un penetrómetro de cono. A lo largo del trabajo se analizaron 450 muestras de suelo para cada determinación.

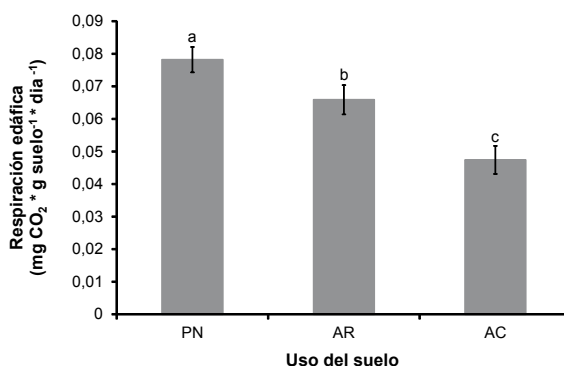
Análisis estadístico

Los datos de los parámetros físico-químicos se analizaron en busca de homogeneidad de varianzas (prueba de Shapiro). Se realizó un análisis no paramétrico de varianza (Kruskall-Wallis ANOVA) para evaluar las diferencias entre los sitios de estudio. Una prueba post-hoc (t de Tuckey) se utilizó para determinar diferencias significativas (p < 0,05) entre usos de suelo. Igual criterio fue aplicado para analizar las diferencias en las variables microbiológicas.

El coeficiente de correlación de Spearman (R) fue utilizado para explorar las correlaciones entre los parámetros microbiológicos y los físico-químicos. A fin de identificar la significación de la asociación el programa aplica el t de student (sistemas con más de 20 observaciones) Todas las pruebas se realizaron utilizando el software STATISTICA v 6 (37).

RESULTADOS

Los resultados de las variables microbiológicas se muestran en la figura 1 y figura 2 (pág. 79) y los de las variables físico-químicas se presentan en la tabla 1 (pág. 79).



PN: Pastizal naturalizado, AR: Agricultura reciente, AC: Agricultura continua. La respiración decrece significativamente al aumentar la intensidad de uso.

Letras distintas entre usos de suelo indican diferencias significativas (Kruskall-Wallis ANOVA, $p < 0,05$). Se muestran promedios y error estándar.

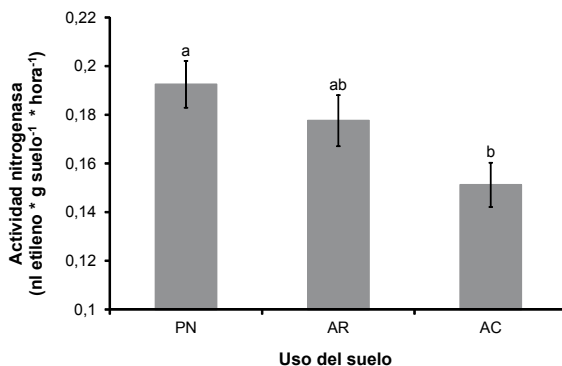
PN: Naturalized grassland, AR: Recent agriculture, AC: Continuous agriculture. Respiration significantly decreases as use intensity increases.

Different letters between soil uses indicate significant differences (Kruskall-Wallis ANOVA, $p < 0,05$). Means and standard errors shown.

Figura 1. Respiración edáfica de un suelo argidol sometido a tres diferentes intensidades de uso.

Figure 1. Soil respiration of an argidoll soil under three different use intensities.

Las variables microbiológicas mostraron diferencias estadísticamente significativas (KW $p < 0,05$) según uso del suelo. Respecto de la respiración edáfica, los mayores niveles corresponden a los suelos con pastizales naturalizados (PN) luego a suelos con agricultura reciente (AR) y los menores valores de respiración se registraron en los suelos que llevan varias décadas de actividad agrícola intensiva (AC) (figura 1). La respiración edáfica en los suelos del sistema PN, superó significativamente a la respiración de los suelos del sistema AR en 19% y en un 65% a la de los suelos del sistema AC. La actividad nitrogenasa de los suelos PN presentó niveles significativamente más altos que la del sistema agrícola intensivo AC (figura 2, pág. 79).



PN: Pastizal naturalizado, AR: Agricultura reciente, AC: Agricultura continua. La actividad nitrogenasa fue significativamente mayor en PN, intermedia en AR y significativamente menor en AC.

Letras distintas entre usos de suelo indican diferencias significativas (Kruskall-Wallis ANOVA, $p < 0,05$). Se muestran promedios y error estándar.

PN: Naturalized grassland, AR: Recent agriculture, AC: Continuous agriculture. Nitrogenase activity was higher for PN, intermediate for AR and lower for AC.

Different letters between soil uses indicate significant differences (Kruskall-Wallis ANOVA, $p < 0.05$). Means and standard errors shown.

Figura 2. Actividad nitrogenasa de un suelo argiudol sometido a tres diferentes intensidades de uso medida a través de la actividad reductora de acetileno (ARA).

Figure 2. Nitrogenase activity of an argiudoll soil under three different soil use intensities, as measured by acetylene reduction activity (ARA).

Tabla 1. Resultados de las variables físico-químicas medidas en cada sistema (n = 150 por sistema).

Table 1. Results for the physico-chemical variables measured in each system (n = 150 per system).

Parámetro	Método	Sitio		
		PN	AR	AC
P (ppm)	Kurtz y Bray	10,82 +/- 8,5 b	14,63 +/- 12 a	13,92 +/- 12 ab
MO (%)	Walkey-Black	4,07 +/- 1,5 a	4,20 +/- 1,5 a	4,33 +/- 1,4 a
CE (dS/m)	Conductimetría	1,5 +/- 1,3 a	0,8 +/- 0,5 b	0,7 +/- 0,5 c
Ph	1:2,5 (v/v) en agua	7,5 +/- 1 a	6 +/- 0,6 b	6 +/- 0,5 b
Densidad aparente (gr/cm ³)	Cilindro	1,2 +/- 0,2 a	1,1 +/- 0,1 b	1,2 +/- 0,1 a
Hr (%)	Cilindro	0,2 +/- 0,1 a	0,3 +/- 0,1 b	0,2 +/- 0,1 a
Ca (cmol /Kg suelo)	Titulación con EDTA	6,7 +/- 1,3 a	5 +/- 0,5 b	6 +/- 0,7 a
Mg (cmol /Kg suelo)	Titulación con EDTA	1,8 +/- 0,4 a	1,5 +/- 0,7 b	1,6 +/- 0,5 b
Na (cmol /Kg suelo)	Fotómetro de llama	1,3 +/- 0,5 a	0,8 +/- 0,2 b	0,7 +/- 0,2 c
K (cmol /Kg suelo)	Fotómetro de llama	1,6 +/- 0,5 a	1,3 +/- 0,3 b	1,6 +/- 0,5 a
N (%)	Kjeldahl	0,28 +/- 0,1 a	0,32 +/- 0,1 b	0,29 +/- 0,05 b
MR 0-5 (Kg/cm ²)	Cono	10 +/- 6 a	2,5 +/- 3 c	5,5 +/- 4 b
MR 5-10 (Kg/cm ²)	Cono	13 +/- 7 a	5 +/- 5 c	8 +/- 5 b

PN: pastizal naturalizado, AR: agricultura reciente, AC: agricultura continua. Los valores indican la media y su desvío estándar.

Letras diferentes en cada línea indican diferencias significativas entre sistemas, para $p < 0,05$ según la prueba de ANOVA de Kruskal-Wallis.

PN: naturalized grassland, AR: recent agriculture, AC: continuous agriculture. Means and standard deviations shown.

Different letters within each row indicate significant differences between systems, for $p < 0.05$ as tested by Kruskal-Wallis ANOVA.

La actividad nitrogenasa en los suelos PN fue un 27% superior respecto de suelos AC. Los suelos AR tuvieron valores de actividad nitrogenasa intermedios no diferenciándose significativamente ni de PN ni de AC.

Hardy y Holstein (23) establecieron una relación entre el etileno producido durante la medición y el nitrógeno fijado de 3:1 (C_2H_2/N_2). De acuerdo con esta estimación, el sistema PN fijaría aproximadamente $2,36 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, los suelos con AC $2,02 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$, y los suelos bajo AR $1,88 \text{ kg N ha}^{-1} \text{ año}^{-1}$. Para los distintos usos del suelo, se registraron diferencias significativas para algunas de las variables físico-químicas medidas (tabla 1, pág. 79). Los suelos con PN presentaron los mayores valores de resistencia a la penetración, sodio, magnesio y pH, en tanto que la materia orgánica fue muy semejante entre todos los tratamientos. En general las diferencias entre las variables físico-químicas no reflejaron una tendencia clara entre los distintos usos del suelo examinados.

El coeficiente de correlación de Spearman muestra que la actividad nitrogenasa se correlaciona significativa y positivamente ($p < 0,05$) con P, MO, CE, y N, en tanto que se estableció una correlación negativa con la HR. La respiración edáfica se correlacionó significativa y positivamente con P, MO, CE, pH, Mg, Na y N (tabla 2).

Tabla 2. Correlación entre parámetros microbiológicos y físico-químicos según Spearman.

Table 2. Spearman correlation coefficient between microbiological and physico-chemical parameters.

Variable	Actividad nitrogenasa	Respiración
P	0,102*	0,107*
MO	0,178*	0,131*
CE	0,206*	0,321*
pH	0,074	0,272*
Densidad aparente	-0,077	-0,021
Humedad relativa	-0,104*	-0,029
Ca	-0,031	-0,065
Mg	0,046	0,141*
Na	0,057	0,142*
K	0,002	0,043
N	0,196*	0,251*
Resistencia a la penetración 0-5 cm	0,023	-0,055
Resistencia a la penetración 5-10 cm	0,021	0,003

Las correlaciones con asterisco son significativas ($P < 0,05$ test de Mann-Whitney).

Asterisks indicate significant correlations ($P < 0.05$ Mann-Whitney U test).

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos indican claramente que la actividad microbiológica refleja la existencia del gradiente de intensidad de uso de los suelos estudiados, $AC > AR > PN$, mientras que las variables físico-químicas son menos consistentes en detectar este gradiente. Tanto la respiración edáfica como la actividad nitrogenasa son significativamente mayores en suelos de pastizales naturalizados comparados

con agricultura continua, mientras que la respiración en el sistema recientemente incorporado a la agricultura resulta intermedio entre ambos. Los suelos de pastizales tuvieron una actividad microbiológica mayor, lo que les permite mantener una elevada capacidad para descomponer residuos vegetales, animales y fijar nitrógeno de la atmósfera. Se supone, conociendo el manejo de estos suelos, que la mayor actividad microbiológica se asocia a un menor impacto negativo que sufre el suelo. Aunque se sabe que no siempre un impacto negativo lleva a menores valores de actividad microbiana y que definir umbrales o valores límites o rangos son muy difíciles de establecer, ya que cada sistema tiene características propias en cuanto a la actividad de las poblaciones microbianas (1).

Los mayores niveles de la actividad microbiológica en suelos con pastizales naturalizados posiblemente se relacionen con una estructura de la comunidad microbiológica adaptada a la mayor cantidad de sustratos fácilmente descomponibles (15, 20) presentes en un suelo con una cantidad de raíces y producción de sustratos rizosféricos a lo largo del año más constante que los producidos en un cultivo cuya duración no supera los 6 meses. La menor intensidad de disturbio de suelos con pastizales naturales también contribuyó a una mayor actividad microbiana. Así, la mayor estabilidad del ambiente edáfico en pastizales naturalizados favoreció la asociación entre la comunidad bacteriana y de plantas (39). Por otro lado, un aspecto a considerar sobre la actividad microbiana en los lotes con agricultura, es el empleo de plaguicidas que pudieron contribuir a disminuir tanto la respiración edáfica como la actividad nitrogenasa (22). Sin embargo, no todos los plaguicidas empleados podrían disminuir la respiración del suelo. Según Bórtoli *et al.* (9), la respiración del suelo y la actividad enzimática pueden aumentar como consecuencia de la aplicación de diferentes concentraciones del herbicida glifosato, uno de los herbicidas más usados en los sistemas agrícolas estudiados. Sin embargo, los resultados presentados en este trabajo no apoyan esta conclusión.

Otro aspecto relacionado con los menores niveles de respiración edáfica y actividad nitrogenasa observados en suelos bajo agricultura intensiva, pudo deberse a que en estos lotes bajo el paso de la maquinaria agrícola, aunque reducida por tratarse de sistemas bajo siembra directa, podría haber afectado la estructura del suelo (2, 8, 9), reduciendo la actividad biológica de los microorganismos edáficos (24, 27), a pesar de que los suelos con uso menos intensivos presentaron mayor compactación original.

Los efectos de la fecha a lo largo de los dos años de muestreo no fueron significativos como fuente de variación. La respiración edáfica no fue afectada por las bajas temperaturas ni por las lluvias ya que los mayores niveles se dieron en invierno, en tanto que la actividad fijadora de nitrógeno presentó los mayores niveles de actividad en la primavera, coincidiendo con precipitaciones elevadas y temperaturas no limitantes (datos no mostrados) para la enzima nitrogenasa (40). También podrían disminuir la actividad nitrogenasa la aplicación de fertilizantes nitrogenados como la urea y el fosfato diamónico según lo indican trabajos previos (25).

Otro aspecto que afecta la actividad microbiana en los suelos sometidos a agricultura, se relaciona con la mayor extracción de nutrientes de los cultivos. Si bien los suelos con agricultura se fertilizaron con N y P alcanzando niveles semejantes o superiores a los suelos con pastizales naturalizados, posiblemente otros micronutrientes esenciales para la actividad microbiana (no evaluados en este estudio) no fueron repuestos, como es el caso del cobalto y el molibdeno, dos elementos componentes de la enzima nitrogenasa, esenciales para llevar a cabo el proceso de fijación de nitrógeno atmosférico por las bacterias de vida libre del suelo. Aplicaciones reiteradas con nitrógeno y fósforo provocan descensos en el pH (25). El pH del suelo es una de las propiedades químicas más relevantes ya que controla la movilidad de iones, la precipitación y disolución de minerales, las reacciones redox, el intercambio iónico, la actividad microbiana y la disponibilidad de nutrientes (36). Ramos y Zuñiga (33), observaron que en condiciones estándares de humedad y temperatura, la respiración de suelo no fue influenciada por el pH entre valores de 4 y 8,2. Sin embargo, los resultados de este trabajo indican que los suelos con pH 7,5 (PN) superaron la actividad respiratoria de suelos con pH ácido, correspondiente a los suelos agrícolas, tanto AC como AR (tabla 1, pág. 79). Coincidentemente, los resultados aquí presentados muestran que el pH está positivamente correlacionado con la respiración edáfica.

La cantidad y la calidad de la materia orgánica edáfica juegan un rol fundamental en el funcionamiento y la sustentabilidad de los sistemas agropecuarios debido a que impacta significativamente sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (35). Todos estos suelos, más allá de su uso estaban muy bien provistos de materia orgánica. Diversos autores (3, 5) relacionan la calidad del suelo con su contenido de materia orgánica y consideran que es determinante para la capacidad productiva de ese suelo. Sin embargo, para detectar cambios en este parámetro como resultado de los sistemas productivos, se requieren de 5 a 10 años (15). Es interesante notar, que la mineralización de la materia orgánica en el suelo es controlada por el tamaño y la actividad de la biomasa microbiana, la cual puede responder a los disturbios en una escala de tiempo menor. Los resultados obtenidos en este trabajo apoyan esta conclusión. Mientras que la materia orgánica no varió entre suelos con diferentes usos, la actividad microbiológica sí lo hizo. El contenido de materia orgánica, semejante entre diferentes sistemas productivos también puede explicarse porque los diferentes usos pueden cambiar la proporción entre la materia orgánica lábil y humificada pero no el contenido de materia orgánica total (1). No obstante, los resultados de este estudio señalan que la respiración y la actividad nitrogenasa fueron favorecidas con la materia orgánica y el contenido de N.

El análisis de Spearman muestra que algunos de los parámetros físico-químicos se correlacionaron con las variables microbiológicas. Así, la actividad nitrogenasa se correlacionó significativa y positivamente con P, MO, CE, y N, en tanto que se estableció una correlación significativa pero negativa con la Hr. Por otro, lado la respiración edáfica se correlacionó positivamente con P, MO, CE, pH, Mg, Na y N. Estos resultados indican que el contenido de fósforo, nitrógeno total, la materia orgánica y la conductividad eléctrica favorecieron la respiración edáfica y la actividad nitrogenasa. Se observó que el contenido de N total corresponde a suelos muy bien provistos y

no difirió entre los usos de suelo evaluados. En tanto que los niveles de P son bajos para todos los suelos. Respecto de la conductividad eléctrica, si bien se observan diferencias significativas entre tratamientos, en todos los casos la salinidad es baja no afectando el desarrollo de los cultivos. El descenso en el pH y la disminución de los cationes básicos del suelo también afectaron la actividad microbiana en suelos agrícolas cultivados con maíz (2).

En algunos trabajos previos se destaca la influencia de la humedad relativa sobre la respiración edáfica y la actividad nitrogenasa (41), sin embargo, en este trabajo la humedad no se correlacionó positivamente con la respiración edáfica coincidiendo con los resultados obtenidos por Hendrix, Chun-Ru & Groffman (24) quienes no hallaron relación entre la humedad y la respiración del suelo, en tanto que elevados niveles de humedad relativa afectaron la actividad nitrogenasa.

Consistentemente con los resultados aquí presentados, Nannipieri (28), observó que los parámetros biológicos y bioquímicos tienden a reaccionar de una manera más rápida y sensible a los cambios producidos por el manejo del suelo, por lo tanto podrían constituir una señal temprana y ser de utilidad para estimar la calidad edáfica (6), incluso antes que las propiedades físicas y químicas logren detectar cambios de manera consistente.

Los resultados obtenidos en este trabajo, indican claramente que los parámetros biológicos resultaron ser más sensibles que los físico-químicos pudiendo detectar tempranamente los cambios producidos por el uso a que están sometidos los suelos. Estos resultados contribuyen a monitorear procesos de uso intensivo de los agroecosistemas que las variables físico-químicas tardan en reconocer, siendo los cambios en el funcionamiento de la microbiota edáfica buenos indicadores del impacto del suelo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Abril, A. 2003. ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología Austral*. 13: 195-204.
2. Álvarez-Solís, J. D.; M de J Anzueto-Martínez. 2004. Actividad microbiana del suelo bajo diferentes sistemas de producción de maíz en los altos de Chiapas, México. *Agrociencia*. 38(1): 13-22.
3. Álvarez, C. R.; Taboada, M. A.; Bustingorri, C.; Gutiérrez Boem, A.; Hernán, F. 2006. Descompactación de suelos en siembra directa: efectos sobre las propiedades físicas y el cultivo de maíz. *Ciencia del Suelo*. 24(1): 1-10.
4. Álvarez, R.; Steinbach, H.; Bono, A. 2011. An artificial neural network approach for predicting soil carbon budget agroecosystems. *Soil Science Society American Journal*. 75(3): 965-975.
5. Anderson, T. H. 1994. Physiological analysis of microbial communities in soil; Applications and limitations. Beyond the biomass. Ritz K, Dighton KE (Eds). John Wiley & Sons. Chichester, U. K. p 67-76.
6. Aruani, M. C.; Machuca, Y.; Gili, P. y Spera, N. 2012. Evaluación de las características físico-químicas y biológicas en dos suelos superficiales cultivados con pera (*Pyrus communis L.*) cv. Williams bajo manejo convencional. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*. Mendoza. Argentina. 44(1): 77-84.
7. Beare, M. H.; Reddy, M. V.; Tian, G.; Srivastava, S. C. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function in the tropics: the role of decomposer biota. *Applied Soil Ecology*, 6: 87-108.

8. Bennitende, S.; Bennitende, M.; David, D.; Sterren, M.; Saluzzio, M. 2012. Caracterización de indicadores biológicos y bioquímicos en alfisoles, molisoles y vertisoles de Entre Ríos. *Ciencia del Suelo*. 30(1): 23-29.
9. Bórtoli, P. V.; Verdenelli, R. A.; Conforto, C.; Vargas Gil, S.; Merelis, J. M. 2012. Efectos del herbicida glifosato sobre la estructura y el funcionamiento de comunidades microbianas de dos suelos de plantaciones de olivo. *Ecología Austral*. 22(1): 33-42.
10. Botta, G. F.; Jorajuria, D.; Balbuena, R.; Rosatto, H. 2004. Mechanical and cropping behaviour of direct drilled soil under different traffic intensities: effect of soybean (*Glycine max L.*) yields. *Soil and Tillage Research*. 86(1): 9-14.
11. Brussaard, L.; de Ruiter, P. C.; Brown, G. G. 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. *Agriculture Ecosystems and Environment*. 121: 233-244.
12. Córdoba-Sánchez, S.; Cárdenas-Navarro, R.; Peña-Cabriales, J. J.; Salgado-García, S.; Castelán-Estrada, M.; Lobbit-Phellipe, C.; Vera-Núñez, J. A. Fijación biológica de Nitrógeno por cuatro fabáceas en suelos ácidos de Tabasco, México. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo*. Mendoza, Argentina. 45(1): 1-9.
13. Di Ciocco, C. A.; Sandler, R.; Falco, L.; Penón, E.; Coviella, C. 2013. Actividad nitrogenasa, respiración edáfica y propiedades físico-químicas en suelos pampeanos con diferentes impactos productivos. *CONEBIOS III*. 24-26/4/13. Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
14. Doran, J. W.; Zeiss, M. R. 2000. Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Applied Soil Ecology*. 15: 3-11.
15. Ferreras, L.; Toresani, S.; Bonel, B.; Fernández, E.; Bacigaluppo, S.; Faggioli, V.; Beltrán, C. 2009. Parámetros químicos y biológicos como indicadores de calidad del suelo en diferentes manejos. *Ciencia del Suelo*. 27(1): 103-114.
16. Filip, Z. K. 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. *Agronomy Ecosystem Environmental*. 88: 169-174.
17. Folke, C.; Carpenter, S.; Walker, B.; Scheffer, M.; Elmquist, T.; Gunderson, L.; Holling, C. S. 2004. Regime shifts, resilience, and biodiversity in ecosystem management. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*. 35: 557-581.
18. Frioni, L. 1999. Procesos microbianos. Ed. de la Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto, Argentina. 322 pp.
19. Giller, K. E.; Beare, M. H.; Lavelle, P.; Izac, A. M. N.; Swift, M. J. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied Soil Ecology*. 6: 3-16
20. Gómez, M.; Kruger, H.; Sagardoy, M. 1996. Actividad biológica de un suelo de la zona semiárida bonaerense cultivado con la secuencia soja-trigo bajo tres prácticas culturales. *Ciencia del Suelo*. 14: 37-41.
21. Grayston, S. J.; Campbell, C. D.; Bardgett, R. D.; Mawdsley, J. L.; C. D. Clegg; Ritz, K.; Griffiths, B. S.; Rodwell, J. S.; Edwards, S. J.; Davies, W. J.; Elston, D. J.; Millard, P. 2004. Assessing shifts in microbial community structure across a range of grasslands of differing management intensity using CLPP, PLFA and community DNA techniques. *Applied Soil Ecology*. 25: 63-84.
22. Gupta, V. V. S. R.; Roper, M. M. 2010. Protection of free-living nitrogen-fixing bacteria within the soil matrix. *Soil and Tillage Research*. 109(1): 50-54.
23. Hardy, R. W. F.; Holstein, R. D. 1977. Methods for measurement of dinitrogen fixation, in: R.W.F. Hardy, A.H. Gibson (Eds), *A Treatise of Dinitrogen Fixation*. Section IV: Agronomy and Ecology, John Wiley and sons, Inc., p 451-490.
24. Hendrix, P. F.; Chun-Ru, H.; Groffman, P. M. 1988. Soil respiration in conventional and no-tillage agroecosystems under different winter cover crop rotations. *Soil and Tillage Research* 12: 135-148.
25. Liebig, M. A.; Varvel, G. E.; Doran, J. W.; Wienhold, B. J. 2002. Crop Sequence and Nitrogen Fertilization. Effects on Soil Properties in the Western Corn Belt. *Soil Science Society American Journal*. 66: 596-601.
26. López-Hernández, D.; Santaella, S.; Chacón, P. 2006. Contribution of nitrogen-fixing organisms to the N budget in *Trachypogon savannas*. *European Journal of Soil Biology*. 42: 43-50.
27. Mikanová, O.; Javůrek, M.; Šimon; Friedlová, M.; Vach, M. 2009. The effect of tillage systems on some microbial characteristics. *Soil and Tillage Research*. 105(1): 72-76.
28. Nannipieri, P. 1994. The potential use of enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. In: CE Pankhurst; BM Doube; VVSR Gupta & PR Grace (eds). *Soil Biota- Management in Sustainable Farming Systems*. CSIRO, East Melbourne Australia. p 238-244.
29. Oehl, F.; Sieverding, E.; Ineichen, K.; Mäder, P.; Boller, T.; Wiemken, A. 2003. Impact of Land Use Intensity on the Species Diversity of Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Agroecosystems of Central Europe. *Applied and Environmental Microbiology*. 69(5): 2816-2824.

30. Perrotti, E. B. R.; Chapo, G. F.; Pidello, A. 1995. Actividad nitrogenasa en relación con el carbono disponible y el nitrógeno inorgánico en un Argiudol. *Ciencia del Suelo*. 13: 11-15.
31. Perrotti, E. B. R.; Pidello, A. 1996. Actividad nitrogenasa y capacidad redox en un Argiudol. *Ciencia del Suelo*. 14: 83-85.
32. Pidello, A.; Perotti, E. B. R.; Chapo, G. F.; Menéndez, L. T. 1995. Materia orgánica, actividad microbiana y potencial redox en dos argiudoles típicos bajo labranza convencional y siembra directa. *Ciencia del Suelo*. 13: 6-10.
33. Ramos, E.; Zuñiga, D. 2008. Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Ecología Aplicada*. 7(1-2): 123-130.
34. Rascio, N.; La Rocca, N. 2008. Biological Nitrogen Fixation. Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences, from *Encyclopedia of Ecology*. Pags. 412-419.
35. Rotenberg, D.; Wells, A. J.; Chapman, E. J.; Whitfield, A. E.; Goodman, R. M.; Cooperby, L. R. 2007. Soil properties associated with organic matter-mediated suppression of bean root rot in field soil amended with fresh and composted paper mill residuals. *Soil Biology and Biochemistry*. 39(11): 2936-2948.
36. Sainz Rozas, H. R.; Echeverría, H. E.; Angelini, H. P. 2011. Niveles de carbono orgánico y pH en suelos agrícolas de las regiones pampeana y extrapampeana argentina. *Ciencia del Suelo*. 29(1): 29-37.
37. STATISTICA, StatSoft <http://www.statsoft.com>
38. Thrupp, L. A. 2000. Linking agricultural biodiversity and food security: the valuable role of agrobiodiversity for sustainable agriculture. *Int Aff*. 76: 283-297.
39. Vance, E. D.; Chapin, F. S. III. 2001. Substrate limitations to microbial activity in taiga forest floors. *Soil Biology and Biochemistry*. 33(2): 173-188.
40. Wua, N.; Zhanga, Y. M.; Downinge, A. 2009. Comparative study of nitrogenase activity in different types of biological soil crusts in the Gurbantunggut Desert, Northwestern China. *Journal of Arid Environments*. 73(9): 828-833.
41. Yan-gui, S., Zhao, X.; Hai-xia, L.; Xin-rong, L.; Gang, H. 2011. Nitrogen fixation in biological soil crusts from the Tengger desert, northern China. *European Journal of Soil Biology*. 47(3): 182-187.

Agradecimientos

A los Ing. Agr. Edgardo Ferrari, Pablo Peretto, y Romina de Luca por permitirnos utilizar sus campos para los muestreos de este trabajo.

Al Ing. Agr. Eduardo Penón en la interpretación de los datos.

Al Agr. Andrés Duhour con los análisis estadísticos, han sido de mucha utilidad.

A la Srta. Loreta Giménez por su trabajo en el laboratorio.

Este trabajo ha sido parcialmente financiado con fondos del FONCyT mediante el PICT-02293-2006 y por la Universidad Nacional de Luján.