



# CONGRESO **CONEBIOS V**

Ecología y Biología  
de Suelos

COMPILADORAS

Mónica Díaz Porres

Liliana Falco

Falco, Liliana

CONEBIOS V-Congreso Nacional de Ecología y Biología de Suelos / Liliana Falco ;  
Mónica Díaz Porres. - 1a ed. - Luján : EdUnLu, 2018.

Libro digital, PDF

Archivo Digital: descarga y online

ISBN 978-987-3941-39-9

1. Biología del Suelo. 2. Ecología del Suelo. I. Díaz Porres, Mónica II. Título

CDD 577.2



Libro  
Universitario  
Argentino

Queda hecho el depósito que establece la Ley 11.723

No se permite la reproducción total o parcial de este libro, ni su almacenamiento en un sistema informático, ni su transmisión en cualquier forma o por cualquier medio, electrónico, mecánico, fotocopias u otros medios sin el permiso del autor.

***CONEBIOS V***

*Congreso Nacional de Ecología y Biología de Suelos*

**COMPILADORAS**

Mónica Díaz Porres

Liliana Falco

Dpto. de Ciencias Básicas

Instituto de Ecología y Desarrollo Sustentable (INEDES-CONICET)

Universidad Nacional de Luján

## COMITÉ CIENTÍFICO

Dr. José Camilo Bedano (Universidad Nacional de Río Cuarto - CONICET)

Mg. Verónica Bernava

(Dirección Regional Noreste – Administración de Parques Nacionales)

Dra. Virginia Bonvecchi (Universidad Nacional de Luján)

Mg. Mariana Calvente (Universidad Nacional de Luján)

Ing. Agr. Cristina Costa (Universidad Nacional de Luján)

Dr. Carlos E. Coviella (Universidad Nacional de Luján – INEDES)

Dr. César Di Ciocco (Universidad Nacional de Luján – INEDES)

Dra. Mónica Díaz Porres (Universidad Nacional de Luján – INEDES)

Ing. Agr. Liliana B. Falco (Universidad Nacional de Luján - INEDES)

Dra. Beatriz Ángela González (Universidad Nacional de Luján)

Dr. Pablo Antonio Martínez (Universidad Nacional de Mar del Plata)

Dr. Fernando Momo (Universidad Nacional de General Sarmiento –  
Universidad Nacional de Luján – INEDES)

Dr. Eduardo Mondino

(Universidad Nacional de Mar del Plata - INTA Balcarce)

Dra. Giselle Querejeta

(Universidad Nacional de General Sarmiento - CONICET)

Lic. Macarena Rionda (Universidad Nacional de General Sarmiento)

Dra. María Begoña Riquelme (Universidad Nacional de Luján – UBA)

Mg. Susana Rizzuto (Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco)

Dra. Ana Ernestina Salazar (Universidad Nacional de La Plata)

Dr. Luis Gabriel Wall (Universidad Nacional de Quilmes – CONICET)

# **DIVERSIDAD, MONITOREO, INDICADORES Y CONSERVACIÓN**

---

## ENSAMBLE DE GRUPOS TRÓFICOS DE NEMATODOS DEL SUELO ASOCIADO A CULTIVOS DE COBERTURA DE AVENA Y CENTENO INOCULADOS CON RIZOBACTERIAS PROMOTORAS DEL CRECIMIENTO VEGETAL

*Claudia V. Azpilicueta (1); Pablo D. Reeb (2);*

*Jhovana S. Escobar Ortega (3); Inés E. García de Salamone (4);*

*1 Laboratorio de Servicios Agrarios y Forestales, Ministerio de Producción, Neuquén, Argentina. e-mail: lasaf\_suelos@neuquen.gov.ar*

*2 Universidad Nacional del Comahue, Facultad de Ciencias Agrarias, Río Negro, Argentina.*

*3 CONICET-Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, CABA, Argentina.*

*4 Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía, CABA, Argentina.*

### RESUMEN

La identidad de la especie vegetal utilizada como cobertura influye en la abundancia y composición de nematodos del suelo. Las variables ambientales y las prácticas de manejo del cultivo contribuyen también en la estructura de la comunidad de nematodos. En la Región Subhúmeda Pampeana, se estudió el ensamble de grupos tróficos de nematodos del suelo donde se cultivaban dos cultivos de cobertura, avena (*Avena sativa* L.) y centeno (*Secale cereale* L.) a partir de semillas inoculadas y no inoculadas con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal, con y sin fertilización nitrogenada (0 y 46 kg N ha<sup>-1</sup>) aplicado en el momento de la siembra (marzo) de los cultivos de cobertura. Se realizó el muestreo de suelo en primavera, ocho meses después de la siembra y fertilización, cuando las plantas estaban en llenado de grano. Los nematodos fueron extraídos del suelo por la técnica de flotación-centrifugación. Se describió el ensamble de nematodos a partir de la abundancia relativa y porcentaje de cada grupo trófico. Se estudió la red trófica del suelo a partir de los índices de enriquecimiento (EI) y de estructura (SI). Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) de las variables grupo trófico considerando cada combinación de tratamiento: cobertura x inoculación x fertilización. Las elipses de confianza en el ACP revelaron que algunos tratamientos presentaron similares patrones de ensamble de grupos tróficos de nematodos. Los nematodos bacteriófagos fueron los dominantes, seguido por los fitófagos obligados (FiO) en todos los tratamientos. La abundancia de omnívoros-predadores (OP) fue significativamente menor en avena sin inocular, comprendiendo un 12% de la abundancia total mientras que en avena inoculada y centeno el porcentaje fue de 22%. En el ACP, la dirección de los vectores OP y FiO fue opuesta, lo que es consistente con que el grupo OP puede regular poblaciones de nematodos patógenos. La abundancia de *Pratylenchus* fue cuatro veces mayor en el suelo bajo avena que centeno, posiblemente el potencial alelopático del cultivo de centeno

influya en la densidad del nematodo endoparásito. Los valores promedio de los índices EI y SI fueron 70,1% y 80,6%, respectivamente, y no difirieron entre tratamientos, lo que indicó una red trófica del suelo enriquecida y compleja por la presencia de nematodos de niveles tróficos altos en suelos enriquecidos. Los valores de EI y SI de los distintos tratamientos se ubicaron en el cuadrante B del perfil de la nematofauna, lo que indicaría uniformidad en las condiciones del medio.

**Palabras clave:** nematodos omnívoros-predadores, rizósfera, inoculación

## INTRODUCCIÓN

Los cultivos de cobertura (CC) proveen una alternativa para mejorar la fertilidad y estructura del suelo, la infiltración de agua y reducir la erosión del suelo. La inclusión en sucesión con soja de CC y su inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR) para incrementar su producción, son herramientas para mejorar la calidad del suelo y favorecer la sustentabilidad del sistema (Escobar Ortega et al., 2015). Las PGPR tienen especial importancia en la relación suelo-planta y son responsables del incremento en el suministro de nutrientes, como también en la producción de factores de crecimiento por lo cual su uso contribuye a recuperar o mantener la fertilidad del suelo conservando el ambiente (García de Salamone, 2012).

En la región pampeana argentina, las gramíneas más utilizadas son el centeno y la avena (Pérez & Scianca 2009). Ambos CC producen elevadas cantidades de biomasa que es aportada al suelo luego de la interrupción del crecimiento (Restovich et al., 2012). La descomposición y mineralización de la biomasa, son procesos esenciales para la producción agrícola, como así también la regulación biológica de plagas y fitopatógenos oportunistas que son llevados a cabo por una amplia variedad de organismos, de diferentes tamaños y funciones, tales como virus, bacterias, hongos, actinomicetes, ácaros, lombrices, nematodos y hormigas (Ferris et al., 2001; Paul, 2007).

Se ha demostrado que los diferentes manejos agrícolas modifican la biodiversidad y alteran la estructura de las comunidades microbianas (Govaerts et al., 2007). Los nematodos son importantes vectores en la colonización de bacterias en la rizósfera (Knox et al., 2004). La especie vegetal utilizada como CC puede afectar la abundancia y composición del ensamble de nematodos. Así, se ha reportado que las leguminosas pueden promover rápidamente el crecimiento de los nematodos bacteriófagos (Sohlenius et al., 2011).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el efecto de los CC con avena y centeno y de la aplicación de PGPR *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* como inoculantes sobre la abundancia de los grupos tróficos de nematodos, en la sucesión soja-CC.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### DESCRIPCIÓN DE ÁREA, DISEÑO EXPERIMENTAL Y TRATAMIENTOS

Se realizó un ensayo de campo en el Establecimiento “El Correntino”, ubicado a 36° 8´ 50.9” Latitud Sur y 62° 21´ 51.9” Longitud Oeste de la localidad de 30 de Agosto, provincia de Buenos Aires (Región Subhúmeda Pampeana). El suelo clasificado como Hapludol éntico. Las características edafo-climáticas fueron descritas por Escobar Ortega (2017). Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con arreglo factorial en parcelas divididas, con tres repeticiones. Los factores fueron: fertilización, tipo de CC, inoculación con las PGPR *A. brasilense* y *P. fluorescens*. En la parcela principal se establecieron dos niveles de fertilización: 0 y 46 kg N ha<sup>-1</sup> bajo la forma de urea, aplicado en el momento de la siembra de los CC. En las subparcelas (8 m x 30 m) se establecieron los tratamientos de cobertura centeno (*Secale cereale* var. Quehué) y avena (*Avena sativa* var. Aurora). El inoculante Rhizoflo Premiun® del Laboratorio CKC Argentina S.A, se aplicó con la dosis recomendada de 4 ml kg<sup>-1</sup> de semilla justo previo a la siembra de los CC en las sub-subparcelas. Todas las parcelas tuvieron soja como cultivo anterior y posterior. La siembra se realizó en marzo cuando la soja precedente estaba en madurez fisiológica. Las densidades de siembra de los CC fueron 50 y 55 kg ha<sup>-1</sup> para centeno y avena, respectivamente.

### MUESTREO, ANÁLISIS E IDENTIFICACIÓN DE NEMATODOS

El muestreo se realizó el 23/11/2012 y correspondió al estado fenológico llenado de grano de ambos CC, luego de cortarse las plantas a la altura del cuello. Se tomaron 6 submuestras de suelo al azar con un barreno de 5 cm de diámetro en cada sub-subparcela conformando una muestra compuesta, de 0-20 cm de profundidad. Para la extracción de los nematodos se separó una alícuota de 100 g de suelo húmedo de cada muestra compuesta homogeneizada y se la procesó mediante la técnica de flotación-centrifugación (Caveness & Jensen, 1955). La abundancia de los taxones de nematodos se expresó por 100 g de suelo seco, para ello se determinó la humedad del suelo gravimétricamente secando cada muestra a 105°C, hasta peso constante. Los taxones de nematodos fueron agrupados en grupos tróficos: bacteriófagos (Ba), fungívoros (Fu), omnívoros-predadores (OP), fitófagos obligados (FiO) y fitófagos facultativos (FF) de acuerdo a Yeates et al. (1993). A cada taxón se le asignó un valor de c-p (colonizador-



persistente) de 1 a 5, correspondiente a la posición a lo largo de un continuo colonizador-persistente respecto a su fecundidad y características del ciclo de vida (Bongers & Bongers, 1998). Esta clasificación permitió asignar los taxones en grupos funcionales:  $Ba_x$ ,  $Fu_x$ ,  $Om_x$ ,  $Ca_x$ ,  $H_x$  donde  $x=1-5$  para determinar los índices de enriquecimiento (EI) y de estructura (SI) (Ferris et al., 2001).

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El Análisis de Componentes Principales (ACP) se utilizó para establecer patrones de ensambles de grupos tróficos de nematodos en los tratamientos. La abundancia de cada grupo trófico fue transformada como  $\log(x+1)$ , para el análisis estadístico. El análisis de las variables se basó en la interpretación de las dos primeras dimensiones del plano principal (Dim1 y Dim2). En la configuración de individuos se presentan elipses de confianza del 95% para las medias de las ocho combinaciones de tratamientos (CC x fertilización x inoculación). Se utilizó el programa R versión 3.0.1, paquete FactoMineR 1.25. La abundancia de nematodos se analizó con un modelo lineal generalizado (MLG) (McCullagh & Nelder, 1989), según el trinomio: componente aleatorio Binomial Negativa, función de enlace canónico y componente sistemático constituido por las covariables: CC, inoculación y fertilizante (R versión 3.1.0).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el análisis ACP las variables  $Ba$  y  $Fu$  estuvieron correlacionadas con la Dim1 que explicó un 30,5 % mientras que la Dim2 aportó un 26,86% de la variabilidad total y estuvo principalmente correlacionada con las variables OP y FF (Fig. 1A). Las elipses de confianza (Fig. 1B) revelaron que algunos tratamientos comparten similares patrones de ensamble de grupos tróficos de nematodos.

La cobertura vegetal influye en la estructura de la comunidad de nematodos (Ito et al., 2015). En nuestro estudio el ensamble de nematodos del suelo, en todos los tratamientos, estuvo dominado por nematodos bacteriófagos y en segundo lugar por fitófagos obligados (Tabla 1). La identidad y grupo funcional de las plantas influye en la comunidad de nematodos, Viketoft et al. (2009) encontraron que la abundancia de  $Ba$  y  $FiO$  estuvo relacionada positivamente con gramíneas. Ferris et al. (2012) observaron que la abundancia de nematodos  $Ba$  y  $Fu$  se incrementó por el uso de un cultivo mixto de leguminosas y centeno en invierno. En nuestro estudio, los grupos funcionales de nematodos bacteriófagos encontrados fueron  $Ba_1$  (Rhabditidae, Panagrolaimidae y Diplogasteridae),  $Ba_2$  (Cephalobidae, Monhysteridae y Plectidae) y  $Ba_3$  (Prismatolaimidae). El número de  $Ba_1$  fue similar entre tratamientos, con una densidad media de  $33,2 \pm 4,2$  individuos en 100 g de suelo seco. La calidad del residuo de las plantas afecta el desarrollo y composición de las poblaciones microbianas y en consecuencia a la

fauna microbívora. En las etapas tempranas de la descomposición de los residuos de raíces de centeno, la familia Rhabditidae dominó entre los nematodos Ba (Georgieva et al., 2005). En nuestro estudio el número promedio de Ba<sub>2</sub> fue de  $40,1 \pm 3,1$  individuos en 100 g de suelo seco y no varió entre tratamientos. La familia Cephalobidae estuvo representada por los géneros *Acrobeles*, *Cephalobus*, *Cervidellus*, entre otros. Estos géneros presentan en el extremo anterior del cuerpo, labios con apéndices de distintas formas que determina un alto grado de especialización en la alimentación. La co-ocurrencia de especies en un mismo sitio probablemente altere la composición de la comunidad de bacterias como mecanismo pasivo (Trap et al., 2016) y aumente la colonización de bacterias en la rizósfera (Knox et al., 2004).

Los nematodos fitófagos obligados *Paratylenchus* y *Pratylenchus* fueron los géneros dominantes en nuestro estudio. La abundancia de *Pratylenchus* fue cuatro veces mayor en el suelo bajo avena que centeno ( $p < 0,0001$ ) (Fig. 2). *Pratylenchus* es un nematodo endoparásito y tiene la particularidad de vivir libremente en la rizósfera y puede moverse dentro y fuera de la raíz de la planta hospedera. El potencial alelopático del centeno suprime en parte a las malezas y fitonematodos (Zasada et al., 2007).

El porcentaje de nematodos omnívoros-predadores representó entre un 12 y 22% de la abundancia total de nematodos, el valor más bajo fue detectado en el suelo con avena no inoculada ( $p < 0,04$ ) (Fig. 3). En general, en los agrosistemas, este grupo de nematodos se encuentra en porcentajes más bajos (Dupont et al., 2009), que los encontrados en nuestro estudio, debido a que son sensibles al disturbio (Sánchez-Moreno & Ferris, 2007). En investigaciones de la región de Alto Valle, Argentina, se reportaron valores entre 2 a 14% de OP, correspondiendo el porcentaje más alto a suelos que no fueron fertilizados durante nueve años y con mínima labranza (Azpilicueta et al., 2014). En nuestro estudio, los representantes del grupo OP, en orden de abundancia, fueron *Aporcelaimellus*, *Eudorylaimus*, *Laimydorynae* y *Nygolaimidae*. Los OP son agentes eficaces de biocontrol debido a que presentan una eficiente capacidad de búsqueda de presas, con actividades de agregación en sitios alimenticios y un rango amplio de predación de nematodos fitófagos (Khan & Kim, 2007). McSorley (2012) señala que *Aporcelaimellus* y *Eudorylaimus* se encuentran en distintos tipos de hábitats, son sensibles a la contaminación con metales pesados y a la fertilización sintética. En el Fig. 1A se observa que la dirección de los vectores OP y FiO es opuesta, señalando que las unidades experimentales con mayor número de nematodos OP se corresponden con menor número de FiO. El grupo OP tiene un efecto regulatorio sobre los niveles tróficos más bajos y afectan la dinámica de nutrientes al modificar la abundancia de los consumidores intermediarios (Sánchez-Moreno & Ferris, 2007).

El análisis del perfil de la nematofauna es un indicador de las condiciones del suelo y de los atributos estructurales y funcionales de la red trófica del suelo. El índice de enriquecimiento (EI) de la red trófica está basado en la sensibilidad que tienen los nematodos oportunistas de enriquecimiento ( $Ba_1$  y  $Fu_2$ ) a la disponibilidad del recurso en el suelo. En este estudio no se observó diferencias entre los valores de EI en los tratamientos y la abundancia de  $Ba_1 + Fu_2$  fue similar entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). El valor promedio del índice EI fue de 70,1%, lo que sugiere una red trófica enriquecida con abundantes recursos para los nematodos oportunistas de enriquecimiento y una tasa de recambio de nutrientes alta, cualidad asociada generalmente con productividad alta (Dupont et al., 2009). El índice de estructura (SI), determinado por la población de nematodos omnívoros y predadores, informa sobre la complejidad que tiene la red trófica del suelo. En este estudio se obtuvo un valor promedio de SI de 80,6%, lo que sugiere una red trófica compleja, con un alto potencial de interacciones tróficas y redundancia funcional que permitiría tolerar los disturbios del suelo. La ubicación de la mayoría de los valores de los índices EI y SI en la representación gráfica del perfil de la nematofauna fue en el cuadrante B (Fig. 4), que es consistente con las observaciones realizadas por Ferris et al. (2001) para sistemas agrícolas. Este cuadrante representa un ambiente con un grado de disturbio bajo a moderado, con una red trófica madura y canales de descomposición de la materia orgánica bacteriana. La ubicación de las observaciones en el mismo cuadrante indicaría uniformidad en las condiciones del medio en los distintos tratamientos.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Azpilicueta, CV., Aruani, MC., Chaves, E., Reeb, PD. 2014. Soil nematode responses to fertilization with ammonium nitrate after six years of unfertilized apple orchard. *Spanish Journal of Agricultural Research*. 12: 353-363.
- Caveness, FE., Jensen, HJ. 1955. Modification of the centrifugal-flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington*. 22: 87-89.
- Dupont, ST., Ferris, H., Horn, M. Van. 2009. Effects of cover crop quality and quantity on nematode-based soil food webs and nutrient cycling. *Applied Soil Ecology*. 41: 157-167.
- Escobar Ortega, JS. 2017. Efecto de los cultivos de cobertura avena y centeno y de su inoculación con rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal

sobre las características microbiológicas del suelo. Tesis Doctoral, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

Escobar Ortega, JS., Marcos, MV., Guardia Claros, L., Acosta, C., García de Salamone, IE. 2015. Efecto de la inoculación combinada con *Azospirillum brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* de dos cultivos de cobertura secados con glifosato sobre dos grupos funcionales de microorganismos rizosféricos. II Congreso Argentino de Microbiología. Nov.

Ferris, H., Bongers, T., De Goede, RGM. 2001. A framework for soil food web diagnostics: Extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology*. 18: 13–29.

Ferris, H., Sánchez-Moreno, S., Brennan, EB. 2012. Structure, functions and interguild relationships of the soil nematode assemblage in organic vegetable production. *Applied Soil Ecology*. 61: 16–25.

García de Salamone, IE. 2012. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal. *Informaciones Agronómicas de Hispanoamerica*. 5: 12-16. Internacional Plant Nutrition Institute (IPNI). ISSN. 2222-016X.

Georgieva, S., Christensen, S., Petersen, H., Gjelstrup, P. 2005. Early decomposer assemblages of soil organisms in litterbags with vetch and rye roots. *Soil Biology & Biochemistry*. 37: 1145–1155.

Govaerts, B., Mezzalama, M., Unno, Y. Sayre, KD., Luna-Guido, M., Vanherck, K., Dendooven, L. Deckers, J. 2007. Influence of tillage, residue management, and crop rotation on soil microbial biomass and catabolic diversity. *Applied Soil Ecology*. 37:18-30.

Ito, T., Araki, M., Higashi, T., Komatsuzaki, M., Kaneko, N., Ohta, H. 2015. Responses of soil nematode community structure to soil carbon changes due to different tillage and cover crop management practices over a nine-year period in Kanto, Japan. *Applied Soil Ecology*. 89: 50–58.

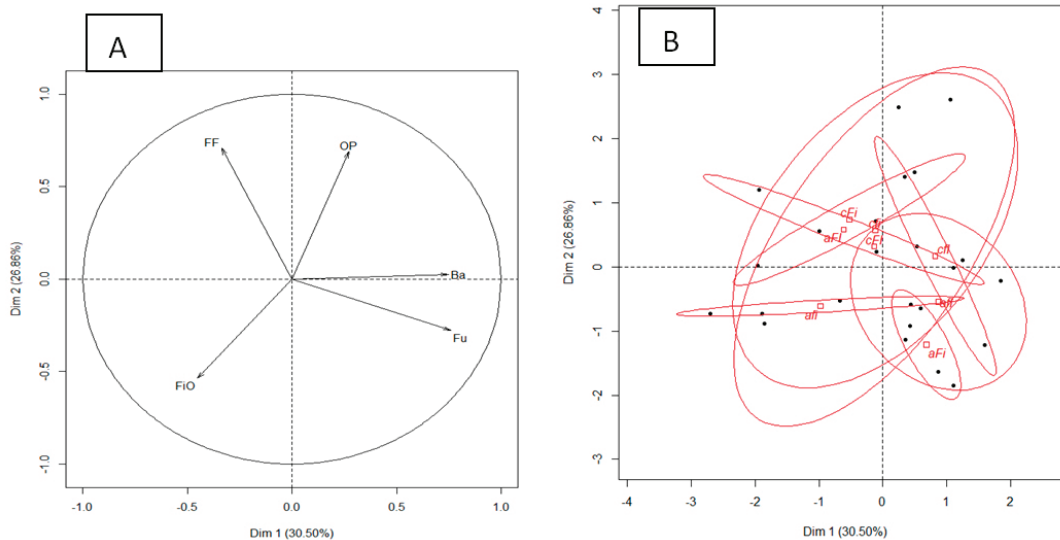
Khan, Z., Kim, Y.H. 2007. A review on the role of predatory soil nematodes in the biological control of plant parasitic parasitic nematodes. *Applied Soil Ecology*. 35: 370-379.

Knox, OG. G., Killham, K., Artz, RE., Mullins, C., Wilson, M. 2004. Effect of nematodes on rhizosphere colonization by seed-applied bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*. 70: 4666–4671.

McCullagh, P., Nelder, J. 1989. *Generalized linear models*, 2nd Ed. Chapman & Hall, London. 511 pp.

- McSorley, R. 2012. Ecology of the dorylaimid omnivore genera *Aporcelaimellus*, *Eudorylaimus* and *Mesodorylaimus*. *Nematology*. 14: 645–663.
- Paul, EA. 2007. *Soil Microbiology, Ecology and Biochemistry*. Tercera edition. Elsevier. 535.
- Pérez, M., Scianca, C. 2009. Efecto de los cultivos de cobertura sobre las poblaciones de malezas en un hapludol thapto árgico del N.O. Bonaerense. *Memoria Técnica 2008-2009*. p 22-24.
- R Development Core Team. 2014. "R: A Language and Environment for Statistical Computing." Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Restovich, S., Andriulo, A., Portela, S. 2012. Introduction of cover crops in a maize-soybean rotation of the Humid Pampas: Effect on nitrogen and water dynamics. *Field Crops Research*. 128: 62-70.
- Sohlenius, B., Boström S., Viketoft, M. 2011. Effects of plant species and plant diversity on soil -nematodes- a field experiment on grassland run for seven years. *Nematology*.13: 115-131.
- Sánchez-Moreno, S., Ferris, H. 2007. Suppressive service of the soil food web: Effects of environmental management. *Agriculture, Ecosystems and Environment*. 119:75-87.
- Trap, J., Bonkowski, M., Plassard, C., Villenave, C., Blanchart, E. 2016. Ecological importance of soil bacterivores for ecosystem functions. *Plant & Soil*. 398:1-24.
- Viketoft, M., Bengtsson, J., Sohlenius, B., Berg, M. P., Petchey, O., Palmborg, C., Huss-Danell, K. 2009. Long-term effects of plant diversity and composition on soil nematode communities in model grasslands. *Ecology*. 90: 90–99.
- Yeates, GW., Bongers, T., De Goede, RG., Freckman, DW., Georgieva, SS. 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera-an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*. 25: 315–331.
- Zasada, IA., Rice, CP., Meyer, SLF. 2007. Improving the use of rye (*Secale cereale*) for nematode management: potential to select cultivars based on *Meloidogyne incognita* host status and benzoxazinoid content. *Nematology*. 9: 53-60.

**Fig. 1A.** Representación de las variables: Ba (bacteriófagos), Fu (fungívoros), FiO (fitófagos obligados), FF (fitófagos facultativos), OP (omnívoros-predadores) en el Análisis de Componentes Principales. **B.** Representación de observaciones (puntos) y las medias (cuadrado) con sus respectivas elipses de confianza para las combinaciones de tratamientos. a (avena), c (centeno), F: fertilizado, f: sin fertilizar, l: inoculado, i: no inoculado.

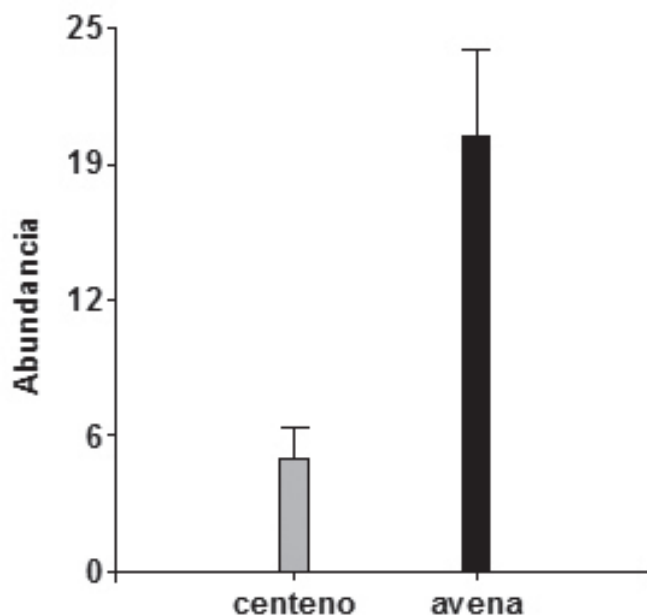


**Tabla 1.** Abundancia (n° de individuos en 100 g suelo seco  $\pm$  error estándar) de los grupos tróficos de nematodos para los diferentes CC, inoculación y niveles de fertilización.

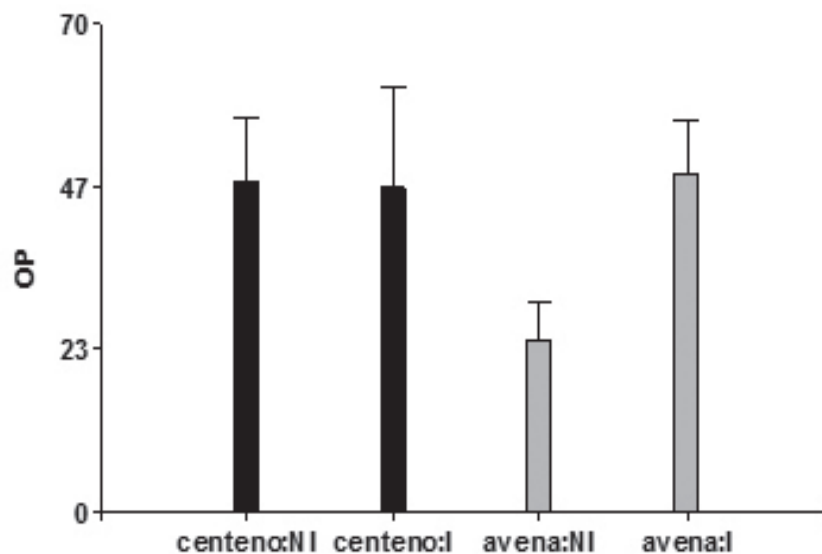
	Grupos tróficos				
	Ba	Fu	OP	FF	FiO
<b>Cobertura</b>					
Avena (n=12)	80,5 $\pm$ 10,3	22,5 $\pm$ 3,3	36,7 $\pm$ 5,6	7,0 $\pm$ 3,1	63,5 $\pm$ 14,2
Centeno (n=12)	86,6 $\pm$ 12,0	23,2 $\pm$ 3,6	46,9 $\pm$ 8,2	17,3 $\pm$ 4,7	59,8 $\pm$ 4,7
<b>Inoculación</b>					
Inoculado (n=12)	84,1 $\pm$ 12,3	25,5 $\pm$ 3,3	47,5 $\pm$ 7,8	9,5 $\pm$ 2,9	58,2 $\pm$ 17,7
No inoculado (n=12)	83,0 $\pm$ 10,0	20,3 $\pm$ 3,5	36,1 $\pm$ 6,1	14,8 $\pm$ 5,2	65,2 $\pm$ 15,4
<b>Fertilizante</b>					
0 (n=12)	94,3 $\pm$ 11,5	23,0 $\pm$ 4,1	42,3 $\pm$ 8,7	9,7 $\pm$ 4,3	59,1 $\pm$ 14,3
7-40-5 (n=12)	72,8 $\pm$ 9,9	22,8 $\pm$ 2,7	38,3 $\pm$ 5,2	14,6 $\pm$ 4,1	64,3 $\pm$ 18,6
<b>MLG</b>					
Cobertura (C)	ns	ns	ns	**	ns
Inoculación (I)	ns	ns	ns	ns	ns
C x I	ns	ns	*	**	ns
Fertilizante (F)	ns	ns	ns	ns	ns
F x C	ns	ns	ns	ns	ns
F x I	ns	ns	ns	**	ns
C x I x F	ns	ns	ns	**	ns

Referencias grupos tróficos Fig. 1. MLG: Modelo lineal generalizado. \* y \*\* significa diferencias significativas con un valor de  $p < 0,05$  y  $0,01$ , respectivamente y ns= no significativo.

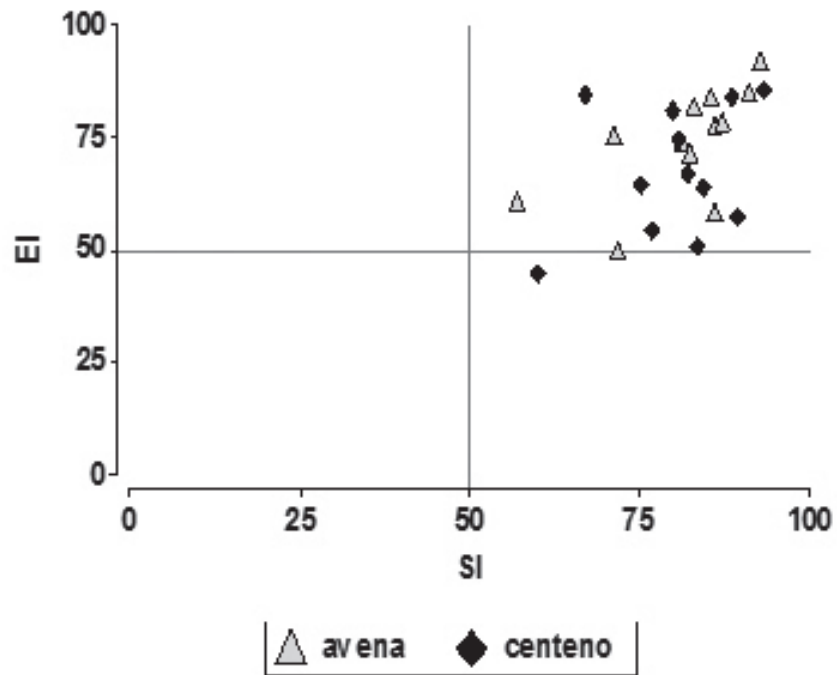
**Fig. 2.** Abundancia de *Pratylenchus* en 100 g de peso seco según el cultivo de cobertura. Cada media fue obtenida de 12 observaciones. El error estándar de la media indicado por barras. Letras diferentes indican diferencias significativas en la abundancia de *Pratylenchus* entre CC (P<0,05).



**Fig. 3.** Abundancia de nematodos omnívoros-predadores (OP) en 100 g suelo seco según CC e inoculación (NI: no inoculado, I: inoculado). Cada media fue obtenida de seis observaciones. El error estándar de la media indicado por barras. Letras diferentes indican diferencias significativas en la abundancia de OP entre CC e inoculación (P<0,05).



**Fig. 4.** Perfil de la nematofauna en los cultivos de cobertura. El: índice de enriquecimiento, SI: índice de estructura. Cada observación proviene de una unidad experimental.





## VARIACIONES DE LA COMUNIDAD EDÁFICA DENTRO DE SUELOS CULTIVADOS Y DE ESTEPA EN LA PATAGONIA NORTE

*Bazzani, Julia Lucia (1); Solimano, Patricio José (1);  
Salazar Martínez, Ana Ernestina (2); Martínez, Roberto Simón (1,3).  
1 CIT Río Negro, CONICET-UNRN. 2 División Entomología, FCNyM, UNLP.  
3 Estación Experimental Agropecuaria del Valle Inferior. jbazzani@unrn.edu.ar*

### RESUMEN

Los microartrópodos de la mesofauna edáfica (MME), integran procesos ecosistémicos que determinan propiedades y funcionamiento del suelo. El valle inferior del río Negro, Argentina, comprende una estepa arbustivo-graminosa, con 24.000ha irrigadas. Como práctica de conservación se realiza una rotación de cultivos de cebolla 6 meses y alfalfa 5 años.

Los objetivos del trabajo fueron: evaluar variaciones en la abundancia de los MME bajo un ciclo de rotación y las variaciones de las propiedades físicas y químicas (FQ) del suelo. Se planteó como hipótesis que los cultivos afectan negativamente la abundancia de microartrópodos y el ciclo de rotación disminuye estos efectos.

Los tratamientos evaluados fueron: T1: cebolla; T2 alfalfa con 5 meses de implantada; T3 alfalfa con 5 años de implantada y T4 estepa. Se trabajó sobre 9 muestras (3 por réplica), para análisis biológicos, físicos y químicos, por tratamiento. Las variables FQ medidas fueron: densidad aparente (DA), porcentaje de humedad (%H), conductividad eléctrica (CE), pH en pasta de suelo (pH) y porcentaje de materia orgánica total (MO). Los MME extraídos con embudos de Berlese, fueron contados y separados en categorías taxonómicas superiores. Se ordenaron las réplicas con un análisis de componentes principales (PCA) y las diferencias entre tratamientos se analizaron con Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM).

El PCA agrupó las réplicas de T4 por mayores valores de CE y menores de %H, DA y pH. El resto de los tratamientos mostró tendencias opuestas. El MLGM de las variables FQ, generó agrupamientos similares al PCA, respecto a CE y %H. El MLGM de abundancia de individuos (m<sup>2</sup> a 0,07 m de profundidad), mostró diferencias significativas para Astigmata y Colémbolos.

El ciclo de rotación permitiría el establecimiento de una comunidad edáfica con mayores abundancias que la estepa, los tratamientos se diferenciaron significativamente por los taxa de Colémbolos y Astigmata.

**Palabras clave:** norpatagonia, mesofauna, cebolla, alfalfa.

## INTRODUCCIÓN

La fauna edáfica desarrolla funciones ecológicas como el mejoramiento de la estructura del suelo por la producción de pellets fecales, ayuda a la formación de agregados estables, movilización de nutrientes y contribuye a la regulación de las poblaciones microbianas (Hendrix *et al.* 1990). Dentro de esta, la mesofauna cumple un rol clave en el funcionamiento del ecosistema edáfico por ocupar todos los niveles tróficos de la cadena alimentaria del suelo y afecta a la producción primaria de manera directa e indirecta (Neher & Barbercheck, 1999), por lo que es vital para la sustentabilidad de los agroecosistemas.

El crecimiento hortícola en la norpatagonia, se ha desarrollado con manejos intensivos bajo riego, suplementos sintéticos, altas frecuencias de laboreo y cultivos. Esto ha generado problemas fitosanitarios, en las propiedades físicas y químicas (FQ) de los suelos y enmalezamiento de lotes (Martínez *et al.* 1994; Martínez *et al.* 1999; Martínez *et al.* 2012).

El valle inferior del río Negro abarca más de 80.000ha desde la localidad de Guardia Mitre, hasta su desembocadura en el Océano Atlántico (Berasategui, 2002). Comprende una estepa arbustivo-graminosa, con 24.000ha niveladas y bajo riego para actividades agrícolas (Papadakis, 1960; Masota, 1975). Entre los cultivos de mayor importancia se encuentran: alfalfa (*Medicago sativa*) y cebolla (*Allium cepa* var. Val-14), que habitualmente integran un ciclo de rotación con un periodo productivo de cebolla (6 meses), seguido por 5 años de alfalfa. Esta rotación permitiría contrarrestar el efecto de extracción de nutrientes asociado a producciones cebolleras a gran escala (Galmarini, 1997), mediante la recuperación de aptitudes y fertilidad del suelo que promueve la alfalfa. Las relaciones entre las mejoras del ciclo de rotación y su impacto en las comunidades biológicas asociadas, particularmente en los microartrópodos de la mesofauna edáfica (MME), son desconocidas para la zona.

## HIPOTESIS

Las comunidades edáficas ven afectada su abundancia negativamente por las prácticas agronómicas de cada cultivo, el ciclo de rotación permite disminuir estos efectos.

## OBJETIVOS DEL TRABAJO

1. Evaluar las variaciones en la abundancia de los microartrópodos de la mesofauna edáfica en suelos bajo un ciclo de rotación de cultivos típico (cebolla-alfalfa) y estepa.
2. Analizar las propiedades físicas y químicas en suelos bajo un ciclo de rotación de cultivos típico (cebolla-alfalfa) y estepa.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el establecimiento “El Monte”, departamento Adolfo Alsina, Provincia de Río Negro, Argentina (40 40' 59.82" S; 63 33' 57.76" O), en la zona productiva del Valle Inferior del río Negro. Los análisis se realizaron en suelos clasificados como Aridisoles, subórdenes Argids y Ortids (Guerra, 1966; Masota, 1970).

Para cada tratamiento se seleccionaron parcelas con cultivos antecesores conocidos, en las que se delimitaron tres sectores (réplicas) de 15 x 60m, en cada replica se definieron tres puntos para la extracción de muestras. Los tratamientos fueron: T1: cebolla con un antecesor de alfalfa durante 5 años; T2: alfalfa con 5 meses de implantada, cebolla como antecesor; T3: alfalfa con 5 años de implantada, antecesor de alfalfa; y T4: una zona de estepa aledaña sin historia de riego, ni explotación productiva durante los últimos 20 años.

Entre agosto 2014 y abril 2015 se realizaron tres muestreos, el primero (agosto) para contar con información de la preparación del suelo para la implantación del cultivo de cebolla; el segundo (diciembre) momento intermedio del cultivo y el tercero (abril) post-cosecha. En el resto de los tratamientos se replicó este esquema.

Se tomaron por tratamiento en cada fecha, 9 muestras (3 por replica) de suelo de 380cm<sup>2</sup> (8x7cm diámetro x profundidad) para la extracción de MME y muestras adicionales para el análisis de variables FQ: densidad aparente [gr/cm<sup>3</sup>] (DA), porcentaje de humedad [%] (%H), conductividad eléctrica [dSm-1] (CE), pH en pasta de suelo [%] (pH) y % de materia orgánica total [%] (MO); según Santos et al. (2012). Se ordenaron las réplicas con PCA y se evaluaron diferencias entre tratamientos con Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM). Se definieron como criterios de clasificación: fecha de muestreo, tratamientos, réplicas y punto de extracción. Como factor fijo se estableció: tratamiento, y como factores aleatorios: fecha de muestreo, replica y punto de extracción. Se comparó el ajuste de las variables FQ con una distribución Normal y función enlace “identity”. Las comparaciones a posteriori se realizaron mediante la prueba DGC ( $p > 0,05$ ) (Di Rienzo et al. 2017).

La extracción de microartrópodos se realizó durante 15 días con embudos de Berlese (Dindal, 1990). La fauna fue separada en categorías taxonómicas superiores, tomando como valor de importancia el número de individuos por m<sup>2</sup> a 0,07m de profundidad. Utilizando la misma estructura de MLGM, se compararon las abundancias con una distribución Binomial Negativa y función enlace “log” (Di Rienzo et al. 2017).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El PCA de las variables FQ (Figura 1), agrupó las réplicas separando la estepa por mayores valores de CE y menores de %H, DA y pH. Los suelos de tratamientos con cultivos, presentaron tendencias opuestas y menor dispersión, indicando un ambiente edáfico más homogéneo, coherente con el proceso de irrigación y consecuente lavado de sales. El análisis de MLGM permitió encontrar diferencias significativas entre tratamientos (Tabla 1). Los agrupamientos generados para las variables CE y pH coinciden, separando a T4, el uso de agua para riego con bajo contenido salino y alto pH (río Negro) lo que explica la disminución de CE y aumento de pH en los suelos de tratamientos cultivados (dpa, 2016). Los mayores valores de DA en T2, pueden estar asociados a su textura franco arenosa. La MO tiene mayores valores en T1, intermedios en T2 y T4, y los menores para T3. Finalmente las diferencias significativas en %H no generan agrupamientos y tienen mayores valores en los tratamientos bajo riego.

En la Tabla 2 se presentan los resultados de la prueba DGC para las abundancias por taxa. No se pudo estimar el modelo de Mesostigmata ni realizar las pruebas a posteriori, debido a su escasa abundancia. Situación consistente con su sensibilidad a la humedad del suelo y la aridez propia de la zona (Hagvar, 1984, citado en Socarrás et al., 2003).

Los Prostigmata no presentaron diferencias significativas entre tratamientos. Esto puede asociarse a que es un grupo propio de suelos con bajas: humedades, cantidad de nutrientes y MO; condiciones presentes en todos los suelos analizados (Wallwork et al., 1985). De igual manera no se registraron diferencias en Oribátidos, lo que indicaría que todos los tratamientos poseen algún grado de degradación (Socarrás et al., 2003).

Los Astigmata muestran diferencias significativas que genera tres agrupamientos:  $T4 < T1 + T2 < T3$ , en consonancia con Socarras et al. (2003) los valores mínimos se encuentran en los ambientes menos intervenidos. Por último los Colémbolos muestran diferencias significativas entre T4 y los demás tratamientos. Como lo observado en pH, CE y %H; podría relacionarse a su sensibilidad a las variaciones de %H (Chaudhuri & Roy, 1966; Mitra et al., 1983, citados en Socarrás et al., 2003).

## CONCLUSIONES

Las modificaciones del ambiente edáfico producto de los manejos y labores culturales habituales en la zona, generan disturbios en la comunidad de la mesofauna que se reflejan en su abundancia. Estas variaciones afectan al ecosistema en su conjunto y consecuentemente los procesos ecosistémicos de

los que participan los microartrópodos de la edafofauna (Seastedt y Crossley, 1980).

Las mayores variaciones en las propiedades físicas y químicas de los suelos analizados, son explicadas principalmente por el porcentaje de humedad, la conductividad eléctrica y el pH. Evidenciando un fuerte impacto del sistema de riego utilizado.

La estepa tiene una comunidad caracterizada por bajas abundancias en todos los taxa analizados, consistente con lo esperado para ambientes áridos. De manera contrapuesta los tratamientos con cultivos presentan mayores abundancias, situación que se explicaría por la presencia de riego.

Los cultivos que componen el ciclo de rotación (cebolla-alfalfa) presentan una comunidad edáfica de microartrópodos con mayores abundancias que la estepa, diferenciándose significativamente en los taxa de Colémbolos y Astigmata.

**Instituciones financiadoras:** Universidad Nacional de Río Negro (PI 40-C-354), Universidad Nacional de La Plata (PI N-786) e Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (PATNOR-1281308; PNAGUA-1133043).

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Berasategui, L. 2002. Estadísticas climáticas del Valle de Viedma 30 años. Serie Técnica n° 20. Año 1 -n° 2- ISSN 1666-6054. EEA Valle Inferior del Río Negro (convenio provincia de Río Negro-INTA), Viedma.
- Cabrera, A.L. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. Bol. Soc. Argent. Bot., 16:1-42.
- Dindal, D.L (Ed.).1990. Soil Biology Guide. Ed. Wiley. New York: John Wiley & Sons. pp: 1376.
- Di Rienzo J.A.; R.E. Macchiavelli & F. Casanoves. 2017. Modelos lineales generalizados mixtos: aplicaciones en InfoStat. Córdoba. ISBN 978-987-42-4985-2.
- dpa. 2016. Calidad del Agua del río Negro 2011 – 2016. Informe técnico Departamento Provincial de Aguas, Intendencia General de Recursos Hídricos, Río Negro. Recuperado de: <http://dpa.gov.ar/wp-content/uploads/2017/06/Informe-Calidad-río-Negro-2011-2016.pdf>
- Galmarini, C.R. (Ed). 1997. Manual del cultivo de la cebolla. INTA C.R. Cuyo. Agro de Cuyo Manuales – 16. ISSN: 0327-3377.

- Guerra, P.; H.T. Masotta & J.J. Olivieri. 1966. Estudios de suelos con fines de riego. Proyecto FAO/Viedma.
- Hendrix, P.F.; D.A.Jr. Crossley; J.M. Blair & D.C. Colemann. 1990. Soil biota as components of sustainable agroecosystems. In: Edwards C.A.; Lal, Rattan, Madden, Patrick, Miller, Robert H., House, Gar (Eds.), Sustainable Agricultural Systems. Soil and Water Conservation Society, 1A, pp. 637-654.
- Iglesias, N.; A. Van Konijnenburg & C. Ruiz. 2015. Situación actual de la horticultura en la Norpatagonia. Recuperado de: [www.biblioteca.org.ar/libros/210447.pdf](http://www.biblioteca.org.ar/libros/210447.pdf)
- Martínez, R.M.; F. Margiotta; L. Tamburo & L. Casamiquela. 1994. Evaluación de tres sistemas productivos en tomate. Resumen en Actas XVII Congreso Argentino de Horticultura, XV Congreso Latinoamericano 158.
- Martínez, R.M.; H.C. Chaves; F.A. Margiotta & R.S. Martínez. 1999. Propiedades edáficas en tres sistemas de manejo hortícola bajo riego en la Norpatagonia Argentina. Revista: Investigación Agraria IA. ESPAÑA, Vol. 14:73-81.
- Martínez, R.S; F. Margiotta, L. Reinoso & R.M. Martínez. 2012. Buscando alcanzar altos rendimientos del cultivo de maíz: experiencias en los valles norpatagónicos. 3° Reunión Internacional de Riego. INTA Manfredi (30 y 31 de octubre).
- Masota, H. 1970. Reconocimiento detallado de suelos con fines de riego en el área de influencia del canal secundario VII- Valle Inferior del Río Negro – Argentina – Serie Técnica n° 5 – 98pp.
- Masota, H. 1975. Reconocimiento detallado de suelos con fines de riego. Subzonas F y G II Etapa – Valle Inferior del Río Negro – Argentina. IDEVI – Estación Experimental de Riego y Cultivos – Informe mecanografiado. 131 pp.
- Neher, D.A. & M.E. Barbercheck. 1999. Diversity and function of soil mesofauna. In: Biodiversity in Agroecosystems. Collins W.W. & C.O. Qualset. CRC Press. USA. 27-47 p.
- Papadakis, J. 1960. Climatología y Ecología. Anexo 1 del Plan de Desarrollo Agrícola del Valle de Viedma. República Argentina- ITALCONSUL- Roma.
- Proyecto FAO UTF ARG 017. Desarrollo Institucional para la Inversión - Informe de Diagnóstico de los Principales Valles y Áreas con Potencial Agrícola de la Provincia de Río Negro - DT N°2 Disponibilidad de Recursos y Condiciones Agroclimáticas.
- Santos, D.J.; M.G. Wilson y M. Ostinelli (Eds.). 2012. Metodología de muestreo de suelo y ensayos a campo. Protocolos básicos comunes. – INTA- Paraná. ISBN 987-987-679-160-1.

Seastedt, T.R. & D.A. Crossley. 1980. Effects of microarthropods on the seasonal dynamics of nutrients in forest litter. *Soil Biol. J. Biochem.*, 12:377-342.

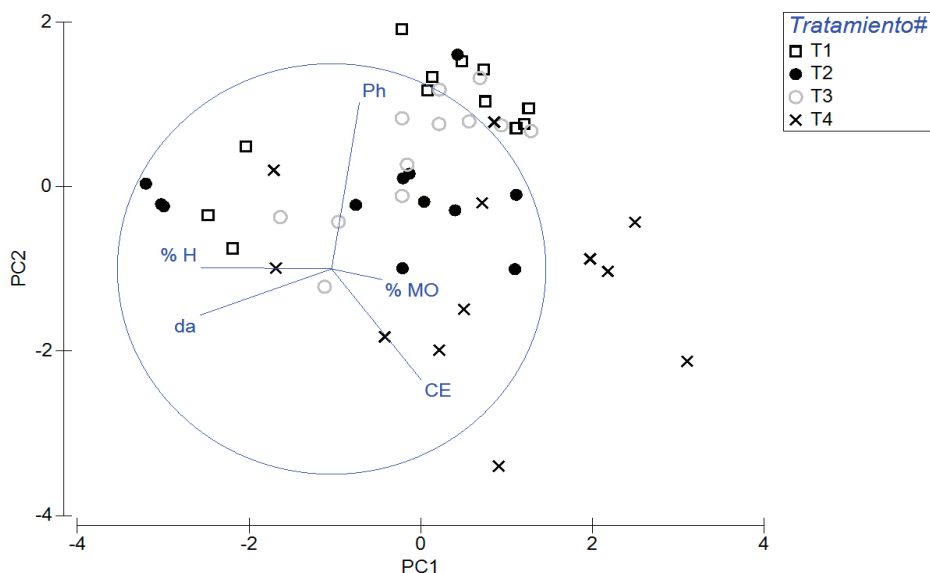
Socarras, A.A.; M.E. Rodríguez; A.F. Avila & I. Izquierdo. 2003. Utilización de la mesofauna edáfica como indicador biológico del estado de los suelos. I. Suelos afectados por la minería en Moa, Cuba. *Cocuyo*, 13:11-13.

Wallwork, J.A.; B.W. Kmnil & W.G. Whitford. 1985. Distribution and diversity patterns of soil mites and other microarthropods in a Chihuahuan desert site. *J.M. d Environ.*, 9:215-231.

Tagliani, P.R.; D.J. Miñon; Y. di Nardo; F.A. La Rosa; O.J. Lascano; A.C. Tellería M.; H.M. Villegas Nigra. 2011. Valor agregado de la producción Sector primario. Valle Inferior de Río Negro. IDEVI. CREA. CURZA – Universidad Nacional del Comahue. EEA Valle Inferior (INTA – Prov. de Río Negro). Ministerio de Producción (Prov. de Río Negro).

Zaffanella, M.; M.G. Zaffanella & M.A.L. Reichard. 1960. Geología y Pedología. Anexo 2 del Plan de Desarrollo Agrícola del Valle de Viedma. República Argentina-ITALCONSUL- Roma.

**Figura 1.** Análisis de PCA de las variables físicas y químicas que caracterizan los suelos analizados en la región del valle inferior de Río Negro.



\*Variables: pH, conductividad eléctrica (CE), porcentaje de materia orgánica total (%MO), porcentaje de humedad del suelo (H), densidad aparente (DA).

\*Tratamientos: T1- cultivo de cebolla. T2- cultivo de alfalfa con 5 meses de implantado. T3- cultivo de alfalfa con 5 años de implantado. T4- estepa.

**Tabla 1.** Caracterización de los suelos analizados en la región del valle inferior de Río Negro, mediante sus variables físicas y químicas.

		Media	E.E.	
Da	T1	1.29	0.03	B
	T2	1.43	0.03	A
	T3	1.31	0.03	B
	T4	1.33	0.03	B
% H	T1	15.15	0.99	A
	T2	13.10	1.01	B
	T3	11.58	1.02	C
	T4	9.01	1.01	D
CE	T1	2.16	3.45	B
	T2	5.33	3.51	B
	T3	1.61	3.65	B
	T4	23.41	3.54	A
pH	T1	7.53	0.09	A
	T2	7.35	0.09	A
	T3	7.31	0.09	A
	T4	6.86	0.09	B
MO	T1	2.13	0.17	A
	T2	1.79	0.17	B
	T3	1.55	0.17	C
	T4	1.91	0.17	B

\*Tratamientos: T1- cultivo de cebolla. T2- cultivo de alfalfa con 5 meses de implantado. T3- cultivo de alfalfa con 5 años de implantado. T4- estepa. Variables físicas y químicas: densidad aparente [grs/cm<sup>3</sup>] (DA), porcentaje de humedad [%] (%H), conductividad eléctrica [dSm<sup>-1</sup>] (CE), pH, porcentaje de materia orgánica total [%] (%MO).

\*E.E.: error estándar.

\*Letras diferentes indican diferencias significativas DGC ( $p > 0,05$ ), entre tratamientos dentro de cada taxa.



Tabla 2: Caracterización de los suelos analizados en la región del valle inferior de Río Negro, mediante sus abundancias de mesofauna.

		Media	E.E.	
Prostigmata	T1	59.60	71.02	A
	T2	190.99	200.33	A
	T3	87.95	91.96	A
	T4	136.95	142.90	A
Oribatida	T1	128.19	122.14	A
	T2	171.29	168.86	A
	T3	103.03	105.29	A
	T4	106.45	106.84	A
Astigmata	T1	522.31	429.26	B
	T2	950.65	837.69	B
	T3	12804.85	12831.55	A
	T4	17.48	16.42	C
Colémbolos	T1	1561.32	2045.29	A
	T2	987.54	1325.72	A
	T3	4884.13	6595.85	A
	T4	69.45	95.86	B

\*Tratamientos: T1- cultivo de cebolla. T2- cultivo de alfalfa con 5 meses de implantado. T3- cultivo de alfalfa con 5 años de implantado. T4- estepa.

\*E.E.: error estándar.

\*Letras diferentes indican diferencias significativas DGC ( $p > 0,05$ ), entre tratamientos dentro de cada taxa.

## **CRIOPRESERVACIÓN *EX SITU* DE CEPAS MONOCARIONTES Y DICARIONTES DEL HONGO ECTOMICORRÍCIO *LACCARIA BICOLOR***

*María Josefina Bompadre, Betina Inés Stephan,  
Laura Fernández Bidondo, Alejandro Guillermo Pardo  
Laboratorio de Micología Molecular. Departamento de Ciencia y Tecnología.  
Universidad Nacional de Quilmes, CONICET. Roque Sáenz Peña 352. B1876BXD.  
Bernal. Buenos Aires. Argentina.*

### **RESUMEN**

Muchas investigaciones microbiológicas se basan en cultivos axénicos como material de partida. Los cuales se preservan con distintos fines: tipificación y sistemática, estudios sobre biodiversidad y conservación, aplicaciones industriales, etc. Muchas cepas deben mantenerse en cultivo continuo conservando los aislamientos en activo crecimiento para evitar pérdidas. Por lo que se hace necesaria la conservación a muy bajas temperaturas durante largos períodos de tiempo, optimizando el espacio de almacenamiento y previniendo cambios genéticos y fenotípicos.

El objetivo de este trabajo fue estudiar el uso de diferentes criopreservantes para conservación a bajas temperaturas, aplicado a cepas monocariontes y dicariontes del hongo ectomicorrízico *Laccaria bicolor*. Se plantea que el uso de disacáridos ayudará a la preservación de la viabilidad del micelio a muy bajas temperaturas de forma exitosa.

Se prepararon picos de flauta en tubos Eppendorf con medio sintético P5 y se colocó en cada tubo un taco de 2 mm<sup>2</sup> de agar con micelio de *L. bicolor* (dicarión S238N y monocarión S238N-H82 con sus respectivos transformantes mediados por *Agrobacterium*: S1, S2; H1, H2 que poseen un plásmido pHg-pSILBA con resistencia a Higromicina). Se los dejó crecer hasta obtener una colonia de 5 mm de diámetro, y se añadieron 400µl de cada criopreservante (sacarosa 1M, glicerol 10% y manitol 1M). Se incubaron a 22°C y oscuridad por 2h y luego se colocaron en un recipiente (MrFrost-NALGENE) a -86°C durante 24 hs (tasa de enfriamiento lento, -1°C/minuto) para luego colocarlos en caja para freezer a -86°C durante 12 meses. Al cabo de ese tiempo se descongeló en baño térmico 15 minutos a 30°C y se creció en placa de Petri con medio sintético P5 durante 30 días. Las cepas transformadas fueron crecidas con suplemento de higromicina (100 µg/ml). Se evaluó supervivencia y toxicidad de los preservantes utilizados.

El uso de glicerol como criopreservante resultó tóxico para todas las cepas estudiadas. En el caso del manitol no resultó eficiente para la supervivencia de las cepas transformadas. Sin embargo, el uso de sacarosa como criopreservante resultó favorable para la supervivencia y el recrecimiento de todas las cepas

estudiadas. Si bien el uso del glicerol se encuentra ampliamente distribuído en la conservación de numerosos microorganismos, no fue favorable con las cepas ensayadas. Para el caso de las cepas transformadas, el manitol que por ser un azúcar alcohol preserva de manera externa los tejidos, el crecimiento bajo presión de selección (higromicina) genera un micelio poco denso, por lo que es probable que no haya funcionado como buen criopreservante. Por último, la sacarosa, junto con numerosos disacáridos, ingresa a las células libremente y actúan de manera interna, por lo que resulta la mejor opción a la hora de preservar.

**Palabras clave:** *Laccaria bicolor*, Ectomicorrizas, Criopreservación.

## INTRODUCCIÓN

Los cultivos axénicos de microorganismos son el material de partida de muchas investigaciones. Los mismos buscan preservarse con distintos fines como la tipificación y sistemática, estudios sobre biodiversidad y conservación, aplicaciones industriales, etc. Un gran número de microorganismos deben mantenerse en cultivo continuo, conservando los aislamientos en activo crecimiento para evitar pérdidas, especialmente en el caso de hongos micorrícicos (Smith 1998). Es por esto que se hace necesaria la conservación a muy bajas temperaturas, lo que permite idealmente aumentar el período de tiempo entre repiques, optimizar el espacio de almacenamiento y prevenir cambios genéticos y fenotípicos (Karaduman et al. 2012).

Son numerosos los criopreservantes que se usan para congelar hongos (glicerol, sacarosa, manitol, trehalosa, entre otros), los cuales actúan de diferentes formas. Un ejemplo de ellos es el glicerol cuyo modo de acción es a través de sus propiedades coligativas (Hubálek 2003). Existen evidencias de que los disacáridos actúan estabilizando la membrana plasmática durante el estrés por deshidratación (Crowe et al. 1986). El manitol es un azúcar alcohol que disminuye el estrés por frío en varios microorganismos (Chattopadhyay 2002), y corresponde a un grupo de polisacáridos que no penetran en las células, por ende, actúan en forma externa (Hubálek 2003).

El objetivo de este trabajo fue estudiar el éxito en la preservación de la viabilidad del micelio de cepas monocariontes y dicariontes del hongo ectomicorrícico *Laccaria bicolor*, de diferentes criopreservantes a muy bajas temperaturas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se prepararon en esterilidad tubos Eppendorf con medio sintético P5 en forma de “picos de flauta” (Foto 1) y se colocó en cada tubo una porción de 2 mm<sup>3</sup> de agar nutritivo con micelio en activo crecimiento de *L. bicolor* cepa

S238N (dicarión), cepa S238N-H82 (monocarión) y 2 cepas transgénicas de cada una de estas cepas: S1, S2; H1, H2 respectivamente. Estas últimas fueron transformadas con *Agrobacterium tumefaciens* (Kempainen et al 2008) y poseen un plásmido (pHg-pSILBA) el cual les confiere resistencia al antibiótico higromicina.

Se dejaron crecer las cepas hasta obtener una colonia de 5 mm de diámetro, y se añadieron 400µl de cada criopreservante estéril (sacarosa 1M, glicerol 10% y manitol 1M). Se realizaron 3 réplicas por tratamiento y el experimento fue realizado por duplicado. Se incubaron a 22°C en oscuridad por 2h y luego se colocaron en un recipiente (MrFrost-NALGENE) para ser congelados (Foto 2) a -86°C durante 24 hs con una tasa de enfriamiento lento, (-1°C/minuto). Luego se colocaron en cajas para freezer a -86°C durante 12 meses. Al cabo de ese tiempo se descongelaron los tubos en baño térmico, 15 minutos a 30°C, y se repicaron a placas de Petri con medio sintético P5 y se incubaron durante 30 días. Las cepas transformadas fueron crecidas con suplemento de higromicina (100 µg/ml) como presión de selección. Se evaluó supervivencia como porcentaje de cepas que crecieron mas de 2 cm de diámetro de colonia en 25 días de cultivo a 22°C y oscuridad. También se evaluó la toxicidad de los criopreservantes utilizándose un criopreservante como no tóxico si la cepa fue capaz de crecer en placa de Petri luego de haber sido expuesto a 2 h en el mismo.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

El uso de glicerol como criopreservante resultó tóxico para todas las cepas estudiadas. Si bien el uso del glicerol se encuentra ampliamente distribuido en la crioconservación de numerosos microorganismos (Hubálek, 2003; Savini et al. 2010) llamativamente no fue favorable con la especie de hongo ensayada. El manitol tampoco resultó eficiente para la supervivencia en el caso de las cepas transformadas, en las cuales se observa que el crecimiento bajo presión de selección (higromicina) genera un micelio menos denso que el que muestran las cepas salvajes. El manitol preserva de manera externa los tejidos (Savini et al. 2010), pudiendo ser esta la razón por la cual no funcionó como buen criopreservante para las cepas transformantes. Sin embargo, el uso de sacarosa como criopreservante resultó favorable para la supervivencia y el recrecimiento de todas las cepas estudiadas. Tanto la sacarosa, junto con numerosos disacáridos, ingresan a las células libremente y actúan de manera interna (Mantovani et al. 2012), por lo que resultaría la mejor opción a la hora de criopreservar micelio fúngico.

## CONCLUSIONES

La aplicación de disacáridos como criopreservantes del micelio del hongo ectomicorrícico *L. bicolor* funcionaría exitosamente para su preservación a largo plazo. El crecimiento directo en tubos Eppendorf con medio distribuido en “picos de flauta” previo al congelamiento permitiría reducir el estrés sufrido por el micelio, así como también la optimización del espacio y los materiales empleados.

## BIBLIOGRAFÍA

Chattopadhyay MK (2002) Bacterial cryoprotectants, *Resonance*. 7:59–63.

Crowe LM, Womersley C, Crowe JH, Reid D, Appel L, Rudolph A (1986) Prevention of fusion and leakage in freeze-dried liposomes by carbohydrates, *BBA - Biomembr.* 131–140.

Hubálek Z (2003) Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology* 46:205–229.

Karaduman AB, Atli B, Yamaç M (2012) An example for comparison of storage methods of macrofungus cultures: *Schizophyllum commune*. *Turk J Bot* 36:205-212.

Kemppainen M, Duplessis S, Martin F, Pardo AG (2008) T-DNA insertion, plasmid rescue and integration analysis in the model mycorrhizal fungus *Laccaria bicolor*. *Microbial biotechnology* 1: 258-269.

Mantovani TR, Tanaka HS, Umeo SH, Zaghi Junior LL, do Valle JS, Paccola-Meirelles LD, Linde GA, Colauto NB (2012) Cryopreservation at -20 and -70°C of *Pleurotus ostreatus* on Grains. *Indian J. Microbiol.* 52:484–488.

Savini M, Cecchini C, Verdenelli MC, Silvi S, Orpianesi C, Cresci A (2010) Pilot-scale production and viability analysis of freeze-dried probiotic bacteria using different protective agents, *Nutrients* 2:330-339.

Smith D (1998) The use of cryopreservation in the *ex situ* conservation of fungi. *Cryoletters* 19:79-90.

**Foto 1.** Picos de flauta con medio sintético P5 en tubos Eppendorf.



**Foto 2.** Tubos Eppendorf dentro de MrFrost-NALGENE® dentro de la cámara fría a  $-86^{\circ}\text{C}$ .



## **PRIMERA DESCRIPCIÓN FÍSICA, QUÍMICA, BIOLÓGICA Y DE CONTAMINACIÓN DE TRES PERFILES DE SUELOS DE LA SELVA MARGINAL COSTERA DE AVELLANEDA**

*Colombo R.P. (1), Fernandez Bidondo L. (2), Patitucci M. (3), Stephan B.I. (2), Dias J. (3), Bompadre M.J. (2), Benavidez M.E. (1), Pereyra F. (3)*

*1 Lab. de Microbiología del Suelo. DBBE. FCEyN. Universidad de Buenos Aires.*

*2 Lab. Universidad Nacional de Quilmes.*

*3 Dto. De Ciencias Ambientales. Universidad Nacional de Avellaneda*

### **RESUMEN**

En el partido de Avellaneda, entre los tramos inferiores de los arroyos Sarandí y Santo Domingo, se enmarca un territorio perteneciente al bioma de la Selva Marginal Costera. Se desarrollan en esta zona cultivos irrigados por las crecientes del Río de La Plata y de los arroyos mencionados. A tres kilómetros al norte se encuentra también la desembocadura del Riachuelo. Los suelos de ambas zonas, consideradas de interés ambiental y cultural, y la costa del Río de La Plata se encuentran muy degradados por contaminación, por lo cual es de suma importancia su restauración y conservación ambiental. En este trabajo nos proponemos realizar la primera caracterización física y química de estos suelos describiendo también, los perfiles edáficos y sus contenidos de metales pesados (MP). También son descriptos la flora y el estatus micorrízico de las plantas de cada zona, ya que se ha reportado que las plantas colonizadas por hongos micorrízicos arbusculares (HMA) son capaces de acumular mayor cantidad de MP. Siendo estos contaminantes almacenados en las esporas de los HMA.

Todos los perfiles de suelo analizados presentaron material de origen antrópico en sus horizontes: materiales de la construcción (ladrillos, hormigón, cemento), asfalto, y residuos inorgánicos (vidrios, latas, plásticos, etc.). Los suelos correspondientes a la zona de quintas fueron los que registraron mayores concentraciones de MP, mientras que los del Riachuelo repostaron los valores más bajos. Solamente en los suelos de las quintas, los niveles de Cd y Ni superaron los valores permitidos. En este trabajo, un total de 15 especies de HMA fueron descriptas para los suelos del Riachuelo, siendo estos los de mayor riqueza específica, seguido por los suelos de la zona del arroyo Sarandí y por último los de la zona de quintas, con 4 y 2 especies de MA respectivamente.

Este trabajo representa el primer estudio físico, químico y microbiológico de los suelos de la de la Selva Marginal Costera de Avellaneda.

**Palabras claves:** Selva marginal costera – suelo – micorrizas arbusculares

## INTRODUCCIÓN

Entre los tramos inferiores de los arroyos Sarandí y Santo Domingo (Sarandí, Avellaneda), pertenecientes a la Cuenca del Plata, se desarrolla desde principio de siglo XX (de la mano de inmigrantes italianos) una zona de cultivos irrigados por las crecientes de río y arroyos. Sin embargo, los suelos de esta zona hoy están ambientalmente degradados producto de la constante contaminación del sistema hídrico, en el cual se vierten, sin ningún control residuos de origen industrial y doméstico, originados en el polo petroquímico lindante de Dock Sud y los asentamientos humanos. Sin embargo en esta zona persisten manchones del ecosistema natural correspondiente a la Selva Marginal Costera (Rabey 2005, 2007).

A unos tres kilómetros al norte de la desembocadura del arroyo Sarandí en el Rio de La Plata se encuentra la del Rio Riachuelo. La Cuenca Matanza-Riachuelo es considerada una de los diez ambientes más contaminados en el mundo (Mendoza et al., 2014). La parte inferior de la cuenca (Avellaneda) presenta una gran densidad poblacional e industrial, lo que repercute en sus aguas y suelo ya que desechos domiciliarios e industriales han sido vertidos allí por más de 200 años, resultando en su intensa degradación y contaminación ambiental (Brailovsky y Foguelman, 1991, ACUMAR, 2008). En este ambiente intensamente degradado también persisten plantas nativas que se desarrollan de manera espontánea y corresponden al bioma mencionado.

Uno de los problemas más importantes a nivel mundial es la progresiva degradación de los suelos debido a procesos naturales y actividades humanas. Gran parte del territorio argentino está afectado por la degradación física ó química del suelo. Entre las herramientas existentes para la restauración de dichos ambientes y la remediación de suelos contaminados se encuentra la descontaminación mediante el uso de plantas (fitorremediación). Por su parte, la simbiosis con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) está involucrada en la supervivencia y tolerancia de estas plantas en ambientes altamente contaminados. Se ha reportado que las plantas colonizadas por HMA son capaces de acumular mayor cantidad de metales pesados y que los contaminantes también son almacenados en sus esporas y en las estructuras que estos hongos forman intra-radicalmente (Carreón Abud et al., 2008). Las plantas que crecen en los márgenes de la Cuenca Matanza-Riachuelo muestran colonización por HMA en sus raíces (Mendoza et al., 2014). Sin embargo aún no se han descripto las especies de HMA presentes en esta zona o en la zona de quintas de Sarandí-Domínico.

En este trabajo nos proponemos realizar la primera caracterización física y química de estos suelos, catalogados como humedales, que revisten una gran importancia ecosistémica y cultural en la Provincia de Buenos Aires, describiendo



también los perfiles edáficos, los contenidos de metales pesados (MP), la flora y el estatus micorrícico de las plantas de cada zona.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Todos los suelos analizados corresponden al partido de Avellaneda, Pcia. de Buenos Aires y se encuentran bajo la influencia de aguas con altos grados de contaminación de origen industrial y doméstico. Los muestreos se realizaron en los márgenes del Riachuelo (34°39'27.36"S, 58°22'34.37"O) en la zona denominada Islita (I), en los márgenes del Arroyo Sarandí (S), donde comienza la vegetación nativa y termina el material de relleno (34° 39,75´ S 58° 19,196´ O) y en suelos dedicados al cultivo de frutales, desde hace más de 50 años, establecidos en la zona de quintas (Q), influenciada por el Arroyo Santo Domingo (34°39,983S, 58°18,44O).

En cada sitio se realizó un estudio de los perfiles de suelo y la descripción de los diferentes horizontes. Se tomaron muestras edáficas de cada uno de los horizontes y de la flora característica de cada sitio. Las partes aéreas de las plantas fueron colocadas en herbarios para su identificación taxonómica. Las muestras de raíz fueron clarificadas en KOH (10%) por 24hs a temperatura ambiente, lavadas con HCl (0.1N) y teñidas con Trypan Blue en ácido láctico por 24hs a temperatura ambiente, para la evaluación del estatus micorrícico de las plantas (modificado de Phillips y Hayman 1970). La frecuencia de micorrización (%F) se evaluó como el porcentaje de segmentos de raíz (1 cm de largo) conteniendo estructuras típicas de HMA (micelio, arbuscúlos, enrollamientos, vesículas o esporas) (Declerck et al., 1996).

Parte de las muestras de suelo fueron destinadas al aislamiento de propágulos HMA mediante la técnica de tamizado húmedo y decantado. Bajo lupa, se aislaron las esporas y se separaron en distintos grupos morfológicos para la confección de preparados permanentes con PVLG y PVLG mas Melzer. Los preparados se examinaron mediante microscopio para la identificación de especies, cuando fuera posible. La designación taxonómica de las mismas se realiza según el Index Fungorum (<http://www.indexfungorum.org/names/names.asp>).

Las muestras de suelo fueron analizadas física y químicamente (Tablas 1 y 2) y se evaluó el contenido de ciertos MP (Ni, Zn, Pb, Cr, Cd, Cu) (Tabla 3). Estos análisis fueron realizados en la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires.

## RESULTADOS

El sitio correspondiente a la zona de quintas es una planicie litoral (estuarica-marina), formada a partir de depósitos limosos fluvio-litorales. La vegetación de la zona son vides. El suelo se clasifica como un Endoacuol típico y el perfil de suelo se describe de la siguiente manera:

**A1 0-13cm.** 10YR3/2 en húmedo, franco arenoso, granular a migajosa moderada, plástico y adhesivo, raíces abundantes y materia orgánica muy fibrosa. Artefactos antrópicos frecuentes. Límite claro y suave.

**A2 13-30cm.** Franco. Bloques angulares medios, débiles, con microestructura de bloques finos. Plástico y adhesivo, raíces abundantes. Materiales antrópicos frecuentes. Moteados frecuentes. Límite claro y suave.

**Cg 30-+cm.** 5GY5/1 en húmedo. Franco arcilloso. Bloques angulares medios, débiles. Plástico y adhesivo, raíces comunes. Materiales antrópicos escasos. Moteados frecuentes.

Este sitio fue el que registró las mayores concentraciones de elementos tóxicos así como de materia orgánica (Tabla 1 y 2).

El sitio de muestreo correspondiente al Arroyo Sarandí es una planicie estuárica del Río de la Plata, formada a partir de material aluvial, limoso. La vegetación del sitio es de tipo hidrófitas (pajonal) y selva marginal o ribereña. Zona inundable por el río. El suelo se clasifica como un Endoaquert típico y el perfil de suelo se describe de la siguiente manera:

**A 0-14cm.** 10YR3/2 en húmedo; Textura franca limoso, bloques subangulares finos débiles a granular, plástico, ligeramente adhesivo, escasos moteados, raíces horizontales. Algunos materiales úrbicos (baja proporción). Límite claro y suave.

**Btss1 14-34cm.** 10YR3/3, franco arcilloso, bloques medios débiles a prismática (micro), adhesivo y plástico, cutanes abundantes, moteados abundantes, raíces abundantes, abundantes cutanes de deslizamiento (ss), límite claro y ondulado. Algunos materiales úrbicos (baja proporción).

**Btss2 34-70+cm.** 7.5YR3/1, franco arcillosos, bloques medios débiles a prismática (micro), adhesivo y plástico, cutanes escasos, moteados abundantes, raíces abundantes, abundantes cutanes de deslizamiento (ss), tendencia a colores gley. Algunos materiales úrbicos (baja proporción).

Este sitio presentó valores medios para las concentraciones de elementos tóxicos, pero los menores valores de materia orgánica (Tabla 1 y 2).

El tercer sitio de muestreo, correspondiente a la Islita (Riachuelo) es una planicie aluvial del río Matanza-Riachuelo con vegetación de tipo hidrófita y sauces, es una zona inundable. El material parental son limos fluviales. El

suelo se clasifica como un Fluvaquent típico y el perfil de suelo se describe de la siguiente manera:

**A1 0-15cm.** 10YR3/2 en húmedo. Franco areno-arcilloso. Bloques angulares medios, débiles. Humedad frecuente, raíces abundantes. Materiales antrópicos frecuentes. Rastros de Hidrocarburos. Límite claro y suave.

**A2 15-40cm.** 10YR3/1 en húmedo. Franco. Bloques angulares medios, débiles a granular. Humedad frecuente, raíces abundantes. Materiales antrópicos frecuentes. Moteados escasos. Rastros de Hidrocarburos. Límite claro y suave.

**C 40-70cm.** 10YR3/3 en húmedo. Franco limoso. Masivo. Humedad frecuente, raíces escasas. Materiales antrópicos escasos. Moteados abundantes, rojizos y grises. Rastros de Hidrocarburos.

Este sitio presentó las menores concentraciones de elementos tóxicos, pero valores intermedios de materia orgánica (Tabla 1 y 2).

**Tabla 1.** Descripción de las propiedades físico-químicas de los suelos muestreados.

Sitio (horizonte)	MO%	%Cox	pH	C.E. (dS/m)	Nutrientes (meq/100g)				CIC	Arena (%)	Arcilla (%)	Limo (%)
					Ca	Mg	Na	K				
<b>S (A)</b>	0.8	0.4	6.6	0.53	11	1.52	0.63	1.11	17.5	40	25	35
<b>S (Bt1)</b>	0.9	0.45	6.9	0.48	12.8	1.62	0.46	0.73	18.1	38	32	30
<b>S (Bt2)</b>	0.95	0.47	7.5	0.23	14.61	1.7	0.37	0.52	19.77	35	35	30
<b>S (BC)</b>	1.2	0.6	7.15	0.11	13.26	1.61	0.34	0.78	18	32.5	37.5	30
<b>Q (A1)</b>	1.6	0.8	6.93	0.4	14.23	2.02	0.79	2.33	25	62.5	22.5	15
<b>Q (A2)</b>	1.75	0.875	6.8	0.29	15.03	1.75	0.56	1.96	22	52.5	25	22.5
<b>Q (Cg)</b>	1.85	0.925	6.37	0.2	14.12	1.61	0.45	1.5	19.5	32.5	35	32.5
<b>I (0-15 cm)</b>	0.03	0.02	7.12	0.85	6.9	1.35	0.49	0.8	11.31	30	10	60
<b>I (15-40 cm)</b>	0.76	0.38	7.99	0.25	10	1.5	0.35	1.01	13.02	40	7.5	52.5
<b>I (+40 cm)</b>	1.76	0.88	4.35	1.66	5.5	1.33	0.9	0.5	10	47.5	7.5	45

**Tabla 2.** Contenido de metales pesados en los suelos muestreados.

Sitio (horizonte)	Ni (ug/g)	Zn (ug/g)	Pb (ug/g)	Cu (ug/g)	Cr (ug/g)	Cd (ug/g)
<b>S (A)</b>	19.7	270.05	53.7	52.6	96.67	ND
<b>S (Bt1)</b>	16.75	111.4	106.7	66.35	95.25	4.5
<b>S (Bt2)</b>	18,75	55.65	17.5	21	32.45	1.15
<b>Q (A1)</b>	23.75	201.9	58.65	62.8	156.3	2.75
<b>Q (A2)</b>	18.8	149.25	36.35	144.2	147.92	19.55
<b>Q (Cg)</b>	11.95	60.45	8.45	32.65	137.16	ND
<b>I (0-15 cm)</b>	19.7	227.4	59.7	61.3	84.27	ND

ND: Niveles no detectables por la técnica utilizada.

En cuanto a las especies de plantas, se lograron identificar 20 especies para el caso de los suelos asociados al arroyo Sarandí, 17 especies para el caso del Riachuelo y 9 para la zona muestreada lindante al Santo Domingo.

Propágulos de 15 especies diferentes de HMA fueron aisladas de las muestras de suelo del Riachuelo. Los mismos se clasificaron como: *Acaulospora* sp., *Dominikia iranica*, *Entrophospora infrequens*, *Funneliformis constrictum*, *F. mosseae*, *Gigaspora* sp., *Glomus microaggregatum*, *Rhizophagus* sp., *R. clarus*, *R. diaphanus*, *R. intraradices*, *R. irregularis*, *Sclerocystis sinuosa*, *Scutellospora pellucida* y *Septoglomus viscosum*. En los suelos lindantes al arroyo Sarandí, se lograron aislar propágulos de HMA correspondientes a 4 especies diferentes: *R. aggregatus*, *S. sinuosa*, *Funneliformis* sp. Y *Glomeraceae* (no pudiendo llegar a género). Por último, en las muestras correspondientes a la zona del arroyo Santo Domingo se identificaron solo 2 especies de HMA: *Acaulospora* sp. Y *Glomeraceae* (no pudiendo llegar a género).

Al estudiar la colonización micorrízica en las raíces de las plantas muestreadas, se observó que las raíces más frecuentemente colonizadas eran las de las plantas muestreadas en el Riachuelo (72,2%, DE: 31,7%), seguidas de las recolectadas en los suelos del Santo Domingo (43,75%, DE: 7,5%) y por último las del Arroyo Sarandí (11%, DE: 6,52%). En las raíces del Riachuelo se observó colonización tipo Arum y Paris, detectándose también la presencia de vesículas intraradicales.

## DISCUSIÓN

Los suelos urbanos son funcionalmente importantes para el medio ambiente ya que pueden secuestrar contaminantes evitando que se encuentren biodisponibles y sean perjudiciales para la salud humana y de otros seres vivos. Por esta razón se señala la necesidad de estudiar los suelos urbanos (Lopez et al, 2006). Este trabajo representa el primer estudio físico, químico y microbiológico de los suelos de la de la Selva Marginal Costera de Avellaneda. En todos los perfiles de suelo analizados se observó material antrópico en los diferentes horizontes, pero en los suelos lindantes al arroyo Sarandí fue menos frecuente.

Se pudo observar una correlación negativa entre la concentración de MP y la riqueza de HMA. Previamente se ha sugerido que es posible una adaptación de los HMA a condición de estrés ambiental, tales como la contaminación de suelo con MP, ya que se ha observado que las esporas de HMA halladas en sitios con historia de contaminación con MP son capaces de bioacumular el contaminante y germinar mejor en suelos contaminados que otras especies aisladas de suelos no contaminados (del Val et al. 1999). Por lo cual, las especies de HMA aisladas durante este estudio podrían presentar adaptaciones genéticas producto de la toxicidad de suelos donde se encontraron.

Los valores máximos de concentración de MP regulados por la ley 24.051 de Residuos Peligrosos en Argentina (decreto 831/93, Anexo II, Tabla 9), admiten hasta (en mg/g) Cd: 5, Cu y Ni: 100, Pb: 500 y Cr: 250 para uso residencial. Solamente en los suelos correspondientes a la zona de quintas, estos niveles permitidos fueron superados para el caso del Cd y el Ni. Los demás MP analizados se encuentran fuera del rango considerado tóxico en los tres sitios de muestreo.

## BIBLIOGRAFÍA

- Brailovsky AE, Foguelman D. 1991. Memoria Verde: Historia Ecológica de la Argentina. Buenos Aires. Ed. Sudamericana.
- Carreón Abud, GomezDorante N, Martinez Trujillo M. 2008. Las micorrizas arbusculares en la protección vegetal. *Biológicas* 10 (1): 60-70.
- Declerck S, Strullu DG, Planchette C. 1996. In vitro mass-production of the arbuscular mycorrhizal fungus, *Glomus versiforme*, associated with Ri T-DNA transformed carrot roots. *Mycol Res* 100 (10):1237-1242.
- delVal C, BareaJM, Azcon-Aguilar C. 1999. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungus population in heavy-metal-contaminated soils. *Applied and environmental Microbiology*. 65(2):718-723.

Lopez SC, Pelerman PE, Rivara M, Castro MA, Faggi A. 2006. Características del suelo y concentración de metales a lo largo de un gradiente de urbanización en Buenos Aires, Argentina.

Mendoza RE, García IV, de Cabo L, Weigandt CF, Fabrizio de Lorio A. 2014. The interaction of heavy metals and nutrients present in soil and native plants with arbuscular mycorrhizae on the riverside in the Matanza-Riachelo River Basin (Argentina). *J. Sci Tot Env* 505:555-564.

Phillips JM, Hayman DS. 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans Br MycolSoc* 55(1):158-160.

Rabey M. 2005. Paisajes culturales y desarrollos locales en la ribera sur del Buenos Aires Metropolitano.

Rabey M. 2007. Proyecto Las Quintas de Sarandí.

## **EVALUACIÓN DE LAS EMISIONES DE ÓXIDO NITROSO EN EL CULTIVO SOJA (*GLYCINE MAX*) CON LA INCORPORACIÓN DE TRIGO (*TRITICUM AESTIVUM*) COMO CULTIVO DE COBERTURA**

*de Telleria, José (2); Piccinetti, Carlos (3) y Di Ciocco, Cesar (1).*

*1 Dpto. de Ciencias Básicas e INEDES, UNLU, 2 Ing. Agrónomo y 3 INTA Instituto de Microbiología y Zoología Agrícola e INEDES. 1 docenteecologia@yahoo.com.ar*

### **RESUMEN**

Dentro de los principales gases con efecto invernadero se encuentra el óxido nitroso ( $N_2O$ ), que es producido por el uso de combustibles fósiles y en los suelos por procesos biogeoquímicos como la nitrificación y la denitrificación. Según trabajos previos los principales factores que controlan la emisión son la disponibilidad de nitrógeno (N) inorgánico, la temperatura y el contenido hídrico. Desde el punto del manejo de cultivos la inclusión de cultivos de cobertura (CC) aparece como una alternativa para disminuir las emisiones, ya que afecta a los factores mencionados. En el presente trabajo se evaluó el efecto de la inclusión de trigo como CC en el monocultivo de soja sobre las emisiones de  $N_2O$ . Además, se estudió la asociación entre la tasa de emisión con la concentración de  $NO_3^-$ , contenido hídrico y temperatura del suelo. El diseño del ensayo fue en bloques completos al azar con tres repeticiones. El método de muestreo fue cámara cerrada no-estática. Las emisiones más elevadas se observaron en el tratamiento S-CC-S con un promedio  $22,30 \mu g N-N_2O m^2 h^{-1}$  mientras que S-S fue de  $7,02 \mu g N-N_2O m^2 h^{-1}$ . Los picos máximos de emisión se observaron para la secuencia S-CC-S con  $410 \mu g N-N_2O m^2 h^{-1}$  y para S-S de  $80 \mu g N-N_2O m^2 h^{-1}$  encontrándose diferencias significativas ( $P < 0,001$ ). Las emisiones de la soja del S-CC-S fueron mayores (216%) respecto de S-S. Prácticas sobre el CC como la fertilización con urea (+75%) y el secado químico (+230%) estimularon las emisiones de  $N_2O$ . El porcentaje de poros llenos de agua (%PLLA) fue el parámetro del suelo que mejor se asoció con las emisiones de  $N_2O$ , seguido por la temperatura y por último los nitratos ( $NO_3^-$ ).

**Palabras clave:** Cultivo de cobertura, monocultivo de soja y óxido nitroso.

## INTRODUCCIÓN

El  $N_2O$  tiene un efecto 310 veces superior al  $CO_2$  (gas referencia) y un tiempo de vida en la atmósfera ~114 años, con una concentración atmosférica alrededor de 310 ppb (IPCC, 2006), aumentando a un ritmo de 0,6-0,9 ppb (0,25%) por año (Kaiser et al., 1998). Además, el  $N_2O$  destruye la capa de ozono ( $O_3$ ) al ser oxidado en la ionosfera a óxido nítrico. El sector agropecuario generó el 95,2% de las emisiones totales del  $N_2O$  donde las emisiones provenientes del uso del suelo por la agricultura (58,7%) mantienen un predominio sobre las ganaderas (41,2%) (CMNUCC, 2015).

El óxido nitroso se genera principalmente a partir de procesos biológicos en el suelo a través de dos vías, la denitrificación y la nitrificación. Estos procesos son influenciados por las características del suelo, tales como la aireación, la compactación, la temperatura, la humedad, el pH, la materia orgánica, el N disponible, la relación C/N, textura y también por la gestión del suelo, las fertilizaciones nitrogenadas y la rotación de cultivos (Bremner 1997, Brentrup et al., 2000 y Snyder et al. 2009).

Los cultivos de cobertura podrían ser una alternativa para disminuir las emisiones de  $N_2O$  ya que retienen N en la biomasa, inciden sobre la temperatura del suelo por el rastrojo y contenido hídrico mejorando las propiedades del suelo (Sainju et al., 1998). Dentro de los cultivos de invierno el trigo por su disponibilidad de semillas en el mercado es una de las mejores opciones reduciendo significativamente los costos de implantación (Scianca, 2010).

## MATERIALES Y MÉTODOS

La experiencia se realizó en la EEA INTA-Oliveros (32° 32' S; 60° 51' O) provincia de Santa Fe, Argentina. Las evaluaciones se realizaron en un ensayo de rotación de cultivos de larga duración iniciado en el año 2006 con el manejo de cultivos bajo el sistema de siembra directa. El suelo es un Argiudol típico, serie Maciel (Soil Survey Staff, 2006), de textura franco limosa y con capacidad de uso agrícola. El muestreo se realizó cada 15 días, se tomaron muestras de suelo a dos profundidades (0-5 cm y 0-20 cm) para realizar las determinaciones de  $NO_3$  (Bremner, JM. 1965), densidad aparente, contenido gravimétrico de agua (Gardner, W.H. 1986), y se calculó el % PLLA. Además se registró la temperatura del suelo (0-10 cm).

El diseño del ensayo fue en bloques completos al azar con tres repeticiones. Los tratamientos fueron: Soja-Soja (S-S) y Soja – cultivo de cobertura (CC, trigo) – Soja (S-CC-S).

Los cultivares utilizados fueron los recomendados para las características agroecológicas y del suelo de la localidad. En ambos tratamientos la soja se



sembraron el 14/11/2012 y se cosecharon el 26/03/13, y el CC el 13/03/13, fertilizado con 50 kg de urea el 05/08/17 y se lo secó químicamente el 10/10/13 en estado de floración.

El período de monitoreo de las emisiones fue desde nov-2012 a nov-2013 con un total de 25 mediciones. Para los muestreos del gas se utilizó el método de “cámara cerrada no-estática” (Parkin y Venterea, 2010). El período de acumulación del gas fue 45 minutos, realizando cuatro muestreos a intervalos regulares de 15 minutos (0, 15, 30 y 45 minutos) de acuerdo a la sugerencia de Rochette y Eriksen-Hamel (2008). La concentración de N<sub>2</sub>O se determinó por cromatografía gaseosa con un equipo Agilent GC 6890N, utilizando un detector  $\mu$ ECD y columna HP-Plot Molesieve 30 m x 530  $\mu$ m x 25  $\mu$ m. La tasa de emisión de N<sub>2</sub>O se determinó con el modelo de LR (Venterea, 2010).

Se realizó un ANOVA de medidas repetidas para parcelas divididas donde la parcela principal fue el efecto producido por la fecha de medición y la sub-parcela el efecto producido por la secuencia (con CC y sin CC) y su interacción (fecha\*secuencia). Se utilizó el Test de Tukey para la comparación de medias de las tasas de emisión. También se realizó el análisis de correlación entre la tasa de emisión respecto de los factores ambientales del suelo (INFOSTAT, ve. 2015).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tasa media del ensayo fue 14,68  $\mu$ g N-N<sub>2</sub>O m<sup>2</sup> h<sup>-1</sup>, para S-S fue 7,05  $\mu$ g N-N<sub>2</sub>O m<sup>2</sup> h<sup>-1</sup>, mientras que para el tratamiento S-CC-S fue 22,30  $\mu$ g N-N<sub>2</sub>O m<sup>2</sup> h<sup>-1</sup>, no detectándose interacción entre los factores de medición por tratamiento. Las diferencias observadas (216%) entre los tratamientos a favor de S-CC-S resultaron ser significativas ( $p \leq 0,03$ ).

La tendencia de las respuestas en la dinámica fueron mayores tasas promedio de emisión en S-CC-S (Figura 1), sin embargo, solamente en cinco fechas de medición las diferencias fueron significativas: 7/11/12, 27/11/12, 06/12/12 15/08/13 y 14/11/13 (Tabla 1); tres durante el cultivo de soja y dos con el CC (S-CC-S) y barbecho (S-S), registrándose que en todos los casos las tasas fueron superiores en S-CC-S. En la medición realizada el 6/12/12 se registró la tasa máxima de todo el ciclo de evaluaciones cuyo promedio fue 410  $\mu$ g N-N<sub>2</sub>O m<sup>2</sup> h<sup>-1</sup> para S-CC-S y de 80  $\mu$ g N-N<sub>2</sub>O m<sup>2</sup> h<sup>-1</sup> para S-S ( $p \leq 0,001$ ) (Tabla 1).

En las primeras tres mediciones donde se detectaron diferencias estadísticas en favor de S-CC-S coincidentes con las mayores tasas del ensayo se asociaron con elevados niveles de PLLA% (35,5 - 61,33%) y con temperaturas propias de primavera-verano. Se observó que la secuencia S-CC-S presentó un mayor %PLLA para las fechas 07/11/12 y 27/11/12 con valores de 46,7 % y 48,7% mientras que en la secuencia con S-S se cuantificaron valores de 33,7% y 35,5% siendo ampliamente superior la fecha del 06/12/12 con los valores máximos

detectados de %PLLA (60,3% para S-S y 61,33% para S-CC-S) (Figura 2). Similares condiciones fueron descritas por Davidson et al (2000) que determinó que dichas características se correspondieron con situaciones que activaron los mecanismos de denitrificación, las cuales se producen en de saturación de los poros del suelo.

En la primera medición realizada luego de la fertilización nitrogenada del CC (10 días posteriores) se observó que las tasas de la secuencia S-CC-S fueron mayores (75%) y significativas respecto del barbecho de S-S ( $p \leq 0,025$ ) y pudo deberse a la aplicación de urea, aunque no modificó el contenido de  $\text{NO}_3^-$ -0-20 cm del suelo (Figura 3). Según estudios previos los mayores flujos de  $\text{N}_2\text{O}$  se producen durante las dos primeras semanas después de la aplicación de fertilizantes (Bergstrom et al. 2001, Liu et al. 2005, Liu et al. 2006, Schils et al. 2008).

Las temperaturas de las primeras tres fechas pudieron ejercer un efecto sinérgico sobre las emisiones en las primeras mediciones ya que los niveles de humedad del suelo (%PLLA) fueron los más elevados del ciclo analizado (Figura 4). Rudaz (1999) observó que la temperatura produce un efecto aditivo cuando el suelo posee altos %PLLA aumentando las tasas de emisión, también observó que este factor no se correlacionó directamente.

Se observó que luego del secado químico del CC hubo un incremento en las tasas de emisión de  $\text{N}_2\text{O}$  obteniéndose valores para el tratamiento S-CC-S de  $20,62 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{h}^{-1}$  y para S-S de  $6,24 \mu\text{g N-N}_2\text{O m}^2 \text{h}^{-1}$  con diferencias (230%) estadísticas ( $p < 0,01$ ) sin detectarse algún factor directo del suelo que justifique tales diferencias, ya que las temperaturas fueron similares y los contenidos de  $\text{NO}_3^-$  y contrario a los esperado los niveles de PLLA fueron más altos en S-S (45,71%) que para S-CC-S (36,65%). En coincidencia con Flessa et al (2002) que concluyó que el aumento de las emisiones de  $\text{N}_2\text{O}$  luego del secado químico de un cultivo papa, se lo atribuyó a la actividad microbiana sobre los tubérculos de la papa, sin tener otro factor medido que lo haya justificado.

A partir del análisis de correlación se determinó que el %PLLA 0-5 cm tuvo una mayor relación con las emisiones con un  $R^2$  de 0,41. Le sigue la temperatura del suelo con una  $R^2$  de 0,30 y por último el contenido de  $\text{NO}_3^-$ -0-20 cm con un  $R^2$  de 0,13.

## CONCLUSIONES

Las emisiones de  $N_2O$  fueron mayores en la secuencia S-CC-S respecto de S-S, contrariamente a lo esperado.

Las tasas durante el cultivo de soja de S-CC-S fueron superiores al de S-S.

Las prácticas de manejo del CC como la fertilización nitrogenada o el secado químico influyeron en incrementos puntuales sobre las emisiones de  $N_2O$ .

La variable del suelo con mayor correlación con las tasas de  $N_2O$  fue el %PLLA 0-5 cm, se asoció con la dinámica de las emisiones y que estuvo muy influenciado por las precipitaciones.

La temperatura se asoció con la magnitud de las tasas debido a que fueron mayores en primavera-verano (mayor temperatura) que en otoño-invierno (menor temperatura).

El contenido de  $NO_3^-$  fue una variable poco influyente sobre las tasas de  $N_2O$ , aunque asociado con elevados %PLLA y T se manifiesta sinergizando los efectos sobre las tasas.

## BIBLIOGRAFÍA

Bergstrom, D. W., Tenuta, M., and Beauchamp, E. G. (2001). Nitrous oxide production and flux from soil under sod following application of different nitrogen fertilizers. *Communications in soil science and plant analysis*, 32(3-4), 553-570.

Bremner J. M. (1960). Determination of nitrogen in soil by the Kjeldahl method *J. Agr. Sci.* 55:1-23.

Bremner, JM. (1965). Inorganic forms of nitrogen. En CA Black (Ed.) *Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and Microbiological properties*. Pp 1179-1232. ASA. Madison - Wisconsin - USA.

Bremner, J. M. (1997). Sources of nitrous oxide in soils. *Nutrient cycling in Agroecosystems*, 49(1-3), 7-16.

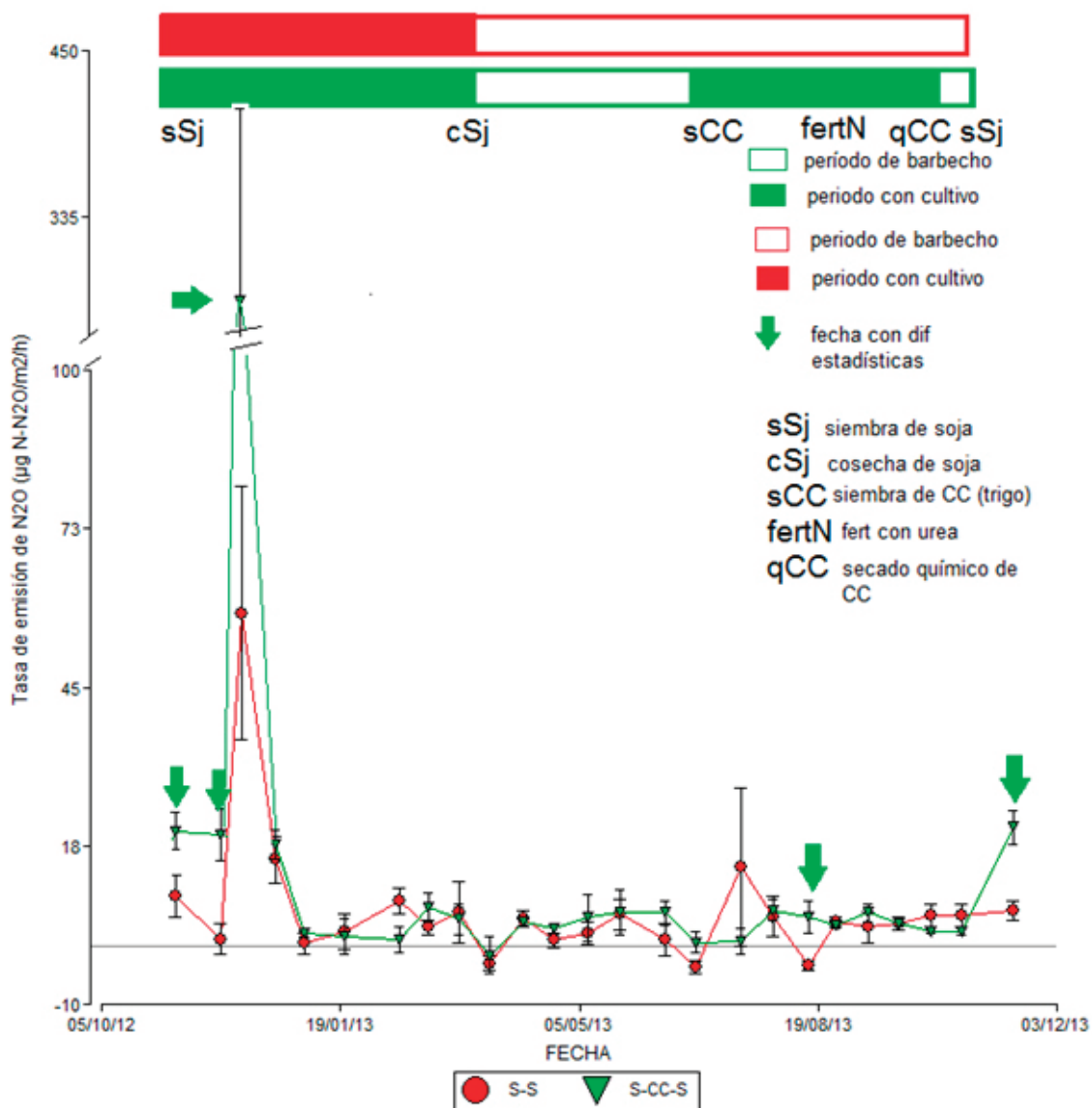
Brentrup, F., Küsters, J., Lammel, J., and Kuhlmann, H. (2000). Methods to estimate on-field nitrogen emissions from crop production as an input to LCA studies in the agricultural sector. *The international journal of life cycle assessment*, 5(6), 349-357.

- Davidson, E. A., Keller, M., Erickson, H. E., Verchot, L. V., and Veldkamp, E. (2000). Testing a Conceptual Model of Soil Emissions of Nitrous and Nitric Oxides Using two functions based on soil nitrogen availability and soil water content, the hole-in-the-pipe model characterizes a large fraction of the observed variation of nitric oxide and nitrous oxide emissions from soils. *Bioscience*, 50(8), 667-680.
- Flessa, H., Ruser, R., Schilling, R., Loftfield, N., Munch, J. C., Kaiser, E. A., and Beese, F. (2002). N<sub>2</sub>O and CH<sub>4</sub> fluxes in potato fields: automated measurement, management effects and temporal variation. *Geoderma*, 105(3), 307-325.
- Kaiser, EA; K Kohrs; M Kucke; E Schnug; O Heinemeyer and JC .Munch. (1998). Nitrous oxide release from arable soil: importance of N-fertilization, crops and temporal variation. *Soil Biology and Biochemistry* 30 (12): 1553-1563.
- Liu, X. J., Mosier, A. R., Halvorson, A. D., and Zhang, F. S. (2005). Tillage and nitrogen application effects on nitrous and nitric oxide emissions from irrigated corn fields. *Plant and Soil*, 276(1-2), 235-249.
- Liu, X. J., Mosier, A. R., Halvorson, A. D., and Zhang, F. S. (2006). The impact of nitrogen placement and tillage on NO, N<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub> and CO<sub>2</sub> fluxes from a clay loam soil. *Plant and soil*, 280(1-2), 177-188.
- Parkin, T. and Venterea, R. (2010). Chapter 3. Chamber-Based Trace Gas Flux Measurements. November 2010 (replaces original version of April 2003). USDA-ARS GRACEnet Project Protocols.
- Rudaz, A. O., Wälti, E., Kyburz, G., Lehmann, P., and Fuhrer, J. (1999). Temporal variation in N<sub>2</sub>O and N<sub>2</sub> fluxes from a permanent pasture in Switzerland in relation to management, soil water content and soil temperature. *Agriculture, ecosystems & environment*, 73(1), 83-91.
- Rochette, P. (2008). No-till only increases N<sub>2</sub>O emissions in poorly-aerated soils. *Soil and Tillage Research* 101: 97-100.
- Sainju, U. M., Singh, B. P., and Whitehead, W. F. (1998). Cover crop root distribution and its effects on soil nitrogen cycling. *Agronomy Journal*, 90(4), 511-518.

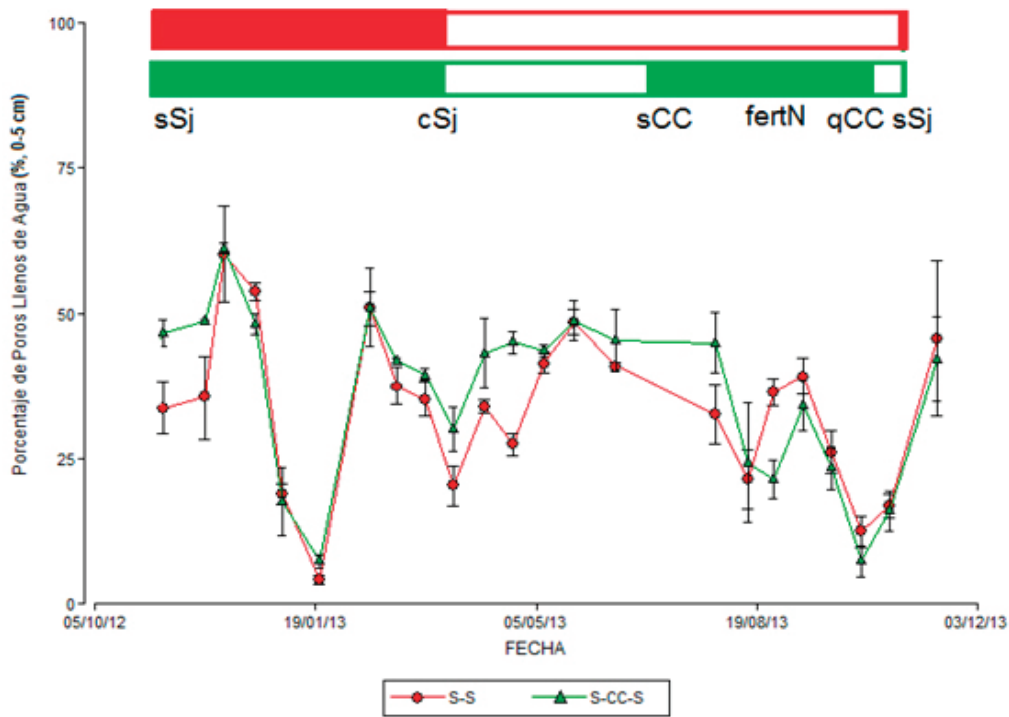
- SAyDS (2015). "Tercera Comunicación Nacional de la República Argentina a la Convención Marco de las Naciones Unidas" p. 86. Disponible en: [unfccc.int/resource/docs/natc/argnc3s.pdf](http://unfccc.int/resource/docs/natc/argnc3s.pdf)
- Schils, R. L. M., Van Groenigen, J. W., Velthof, G. L., and Kuikman, P. J. (2008). Nitrous oxide emissions from multiple combined applications of fertiliser and cattle slurry to grassland. *Plant and soil*, 310(1-2), 89-101.
- Soil Survey Staff. (2006). Claves para la taxonomía de suelos. Departamento de Agricultura de los Estados Unidos. Servicio de Conservación de los Recursos Naturales.
- Snyder, C. S., Bruulsema, T. W., Jensen, T. L., and Fixen, P. E. (2009). Review of greenhouse gas emissions from crop production systems and fertilizer management effects. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 133(3), 247-266.
- United Nations (2009). Intergovernmental Panel on Climate Change guidelines for national greenhouse gas inventories. Orientación del IPCC sobre las buenas prácticas y la gestión de la incertidumbre en los inventarios nacionales de gases de efecto invernadero. Capítulo 11 Agricultura. <http://www.ipcc-nggip.iges.or.jp/public/2006gl/index.htm> Climate in Peril.
- United Nations Environment Programme. Nairobi, Kenya. 2009. A popular guide to the latest IPCC reports. ISBN: 978-82-7701-053-3. [www.unep.org](http://www.unep.org).
- Gardner, W.H. (1986). Water content. Pp 493-571. AS-SSSA. Madison-Wisconsin-US
- Mandrini, E., Barraco, M., Scianca, C., y Costa, C. (2012). Trigo como cultivo de cobertura: efecto de la fecha de siembra. In *Actas XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo* (Mar del Plata, 2012, 16 al 20 de Abril).

## ANEXO

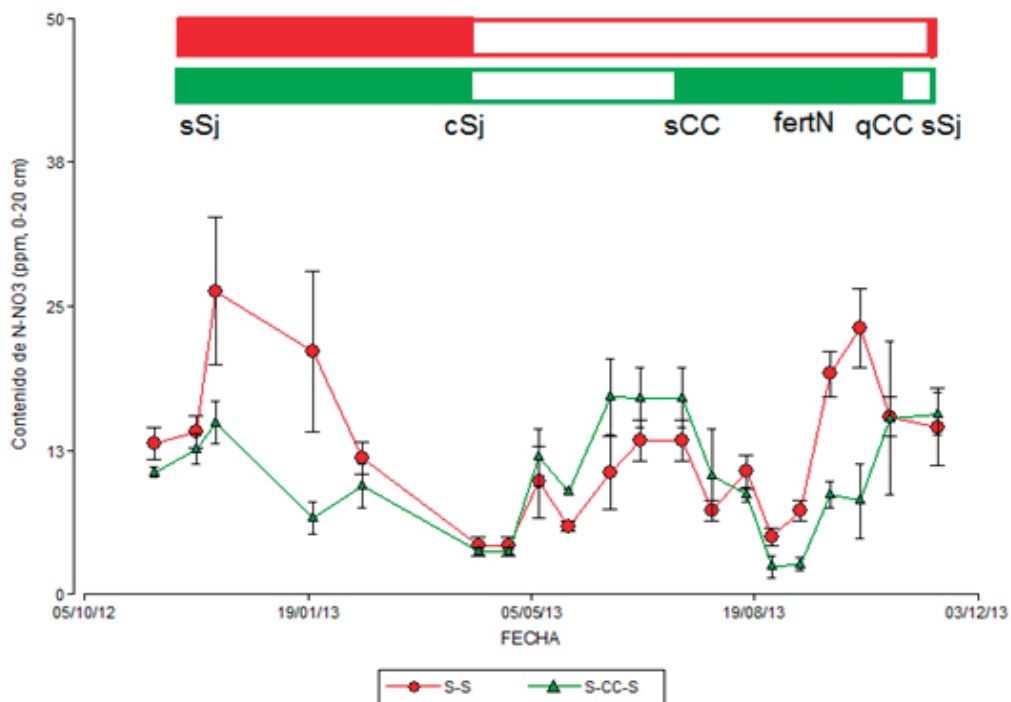
**Figura 1.** Dinámica de las emisiones  $N_2O$  ( $\mu g N-N_2O m^{-2} h^{-1}$ ) para cada fecha de muestreo y tratamiento (S-S y S-CC-S).



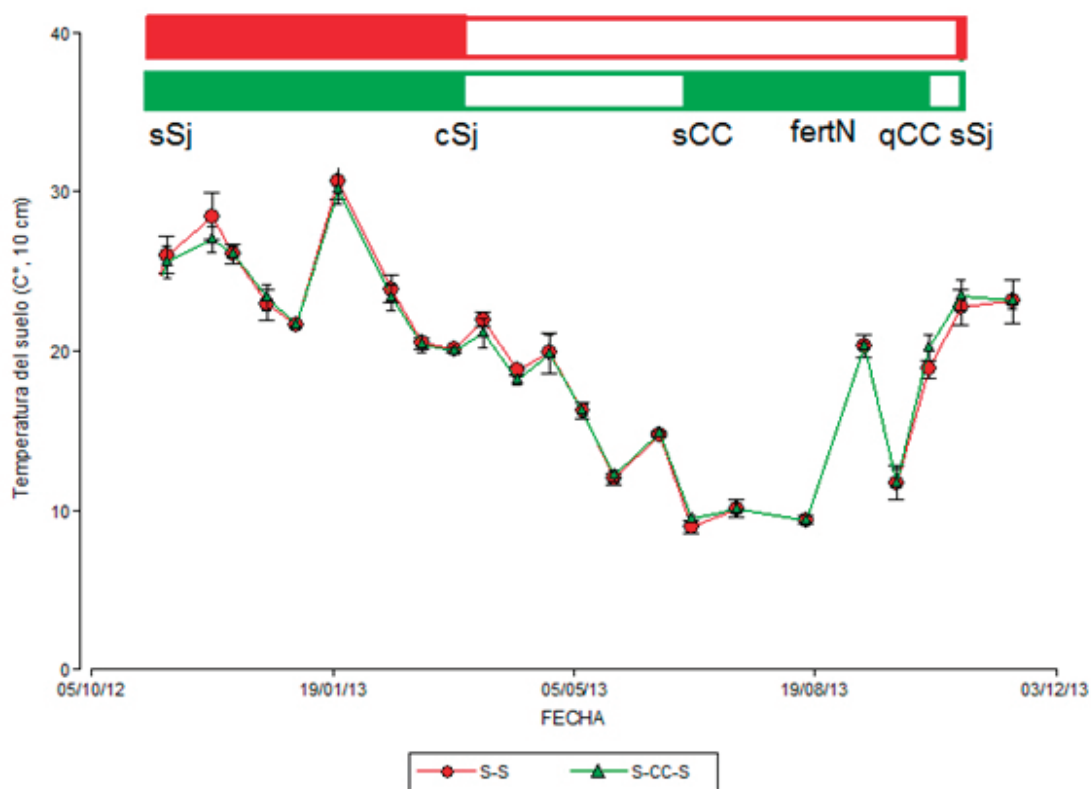
**Figura 2.** Dinámica de los poros llenos de agua (% , 0-5 cm) durante el monitoreo del N<sub>2</sub>O para las secuencias S-S y S-CC-S.



**Figura 3.** Dinámica del contenido de nitratos (ppm, 0-20 cm) durante el monitoreo del N<sub>2</sub>O para las secuencias S-S y S-CC-S.



**Figura 4.** Dinámica de la temperatura del suelo (°C, 10 cm) durante el monitoreo del N<sub>2</sub>O para las secuencias S-S y S-CC-S



**Tabla 1.** Tasas promedio de emisión de N<sub>2</sub>O ( $\mu\text{g N m}^{-2} \text{h}^{-1}$ ) en cada fecha de medición y para cada tratamiento (S-CC-S y SS).

Fechas de muestreo	S-CC-S	S-S	<i>p</i> -valor(*)
07/11/2012	19,94	8,77	0,0818
27/11/2012	19,28	1,29	0,0406
06/12/2012	409,79	79,65	0,0004
15/08/2013	5,04	-3,35	0,0254
14/11/2013	20,62	6,24	0,0091

\*La comparación de medias se realizó con el test de Tukey.



## EFFECTOS DE UN GRADIENTE DE RALEO FORESTAL SOBRE LA MESOFAUNA EN MATORRALES MIXTOS DEL NO DE LA PATAGONIA: RESULTADOS PRELIMINARES

*Fernández Margarita M. (1); Casas Cecilia (2); Garibaldi Lucas A. (3)*  
1 Sede Andina-UNRN. 2 Cátedra de Edafología-FAUBA.  
3 Sede Andina-UNRN y CONICET. mmfernandez@unrn.edu.ar

### RESUMEN

El suelo es el centro regulador crítico y dinámico de los ecosistemas forestales bajo manejo y comprende el sustrato físico para la mayoría de las actividades humanas. La remoción de biomasa vegetal a raíz del raleo provoca cambios en el subsistema aéreo que inducen cambios en el subsistema subterráneo, y viceversa. El objetivo de este trabajo fue presentar resultados preliminares de la abundancia de los taxones de alto rango de la mesofauna en hojarasca y suelo, y de los efectos de un gradiente de raleo en ambas comunidades de mesofauna en matorrales mixtos de norpatagonia. Se discutió la hipótesis de que las comunidades de mesofauna de hojarasca y suelo son modificadas cuando la cobertura decrece y que esos efectos aunque indirectos dependen de la estructura de la comunidad vegetal original. El estudio se llevó a cabo en 3 sitios de ñirantal con diferentes grados de sucesión vegetal post-incendio y diferente composición estructural: matorral alto, matorral bajo y ñirantal puro. El experimento de raleo consistió en 4 intensidades diferentes de raleo sistemático (0, 30, 50 y 70 % del área basal (AB) removida, aproximadamente) en parcelas rectangulares de 1432 m<sup>2</sup>. Se tomaron muestras de hojarasca y suelo superficial (0-5 cm, área: 9,106 cm<sup>2</sup>) en 5 puntos aleatorios por parcela. La extracción de la mesofauna se realizó con un aparato de Berlese-Tullgren durante 8-10 días. Se evaluó al sitio y al raleo como modeladores de la abundancia de ácaros total y de los grupos Mesostigmata, Prostigmata y Oribatida para cada comunidad. El ajuste del modelo lineal indicó que para la comunidad de hojarasca el raleo posee diferentes efectos en la abundancia de acuerdo al sitio, mientras que para la comunidad de suelo sugiere que la misma no depende ni del sitio ni del raleo. En cuanto a la abundancia de los taxones de alto orden los modelos ajustados indicaron que la abundancia no fue dependiente ni de la intensidad de raleo ni del sitio considerado, excepto para los ácaros Prostigmata cuya abundancia resultó dependiente del sitio. Para la comunidad de suelo la abundancia de estos grupos no depende ni del sitio ni del tratamiento de raleo aplicado. A priori, los resultados podrían indicar que los sitios de menor riqueza vegetal no serían los que presenten las menores abundancias de taxones estudiados en suelo, mientras que sitios de mayor riqueza determinan las mayores abundancias de mesofauna en hojarasca.

**Palabras clave:** mesofauna, silvicultura sustentable, conservación

## INTRODUCCIÓN

Las plantas constituyen el nexo funcional entre los subsistemas aéreo y subterráneo y la interacción entre ambos es un importante regulador en la ecología de los ecosistemas (Wardle 2002). El suelo es el centro regulador crítico y dinámico de los ecosistemas bajo manejo, éste no sólo almacena el veintitrés por ciento de la biodiversidad del planeta, sino que comprende el sustrato físico para la mayoría de las actividades humanas (Decaëns *et al.* 2006, Barrios 2007). Los invertebrados del suelo y de la hojarasca, en particular la mesofauna (tamaño entre 0.2-2 mm) son agente clave en los servicios ambientales de soporte, regulación y suministro (ciclo de nutrientes, regulación climática) (MEA 2005, Lavelle *et al.* 2006, Momo y Falco 2009). Dentro de la mesofauna, los ácaros y colémbolos comprenden el 90% de los invertebrados encontrados en hojarasca y suelo (Momo y Falco 2009) y ambos grupos son considerados bioindicadores para la determinación del estado de conservación edáfico ya que son altamente sensibles a los cambios ambientales mediados por el manejo (Socarrás 2013). En el caso de los bosques, este manejo se da a través de intervenciones silvícolas como el raleo sistemático, la corta selectiva, la fertilización, etc. En particular, después de un raleo la estructura de la canopia se modifica y en consecuencia el crecimiento individual de árboles, arbustos y de la regeneración se ve estimulada. Además reduce el riesgo de incendios, incrementa la resistencia a las plagas, conduce a la restauración de la estructura del bosque maduro y de forma secundaria provee de combustibles a las poblaciones aledañas (Cozzo 1995, Campbell *et al.* 2008).

La remoción de biomasa vegetal a raíz del raleo provoca cambios en el subsistema aéreo que resultan en cambios en el subsistema subterráneo, y viceversa. Para el subsistema aéreo son diversos los estudios que analizan los efectos en la estructura, la composición y la productividad de la comunidad vegetal. Con respecto al subsistema subterráneo los estudios han demostrado que esta remoción provoca cambios en el microclima, la estructura y variables físico-químicas del suelo, además de afectar el ciclaje y la exportación de nutrientes (Johnson *et al.* 2001, Jandl *et al.* 2007, Verschuyt *et al.* 2011). Esto implica cambios importantes en el desarrollo y las funciones de organismos como la mesofauna, la cual es altamente dependiente de la humedad, la temperatura y estructura del suelo, como así también del aporte de detritos. La apertura y mayor heterogeneidad de la canopia generaría condiciones de micrositio diferenciales y el desarrollo biológico de la mesofauna estaría condicionado. A su vez, nuevos nichos ecológicos generados por la heterogeneidad de la canopia alterarían la proporción de grupos taxonómicos y funcionales según la intensidad de los

tratamientos y al mismo tiempo sus funciones ecosistémicas. Por ejemplo, se ha demostrado que luego de un raleo la descomposición se estimula temporalmente debido a la reducción en la evapotranspiración (Aussenac y Grannier 1988) pero este cambio también puede atribuirse a la mayor o menor abundancia de grupos detritívoros y las condiciones microclimáticas que los condicionan.

Las comunidades vegetales evolucionan de acuerdo a los sitios en los cuales crecen y por ende poseen características intrínsecas que las vuelven más o menos resilientes a los posibles disturbios. Si los efectos del disturbio son positivos o negativos podría estar relacionado a la estructura de la comunidad vegetal y esto a su vez condicionar la estructura de las comunidades de mesofauna. En general, la posición topográfica condiciona las condiciones ambientales (umbría o solano) y por ende a la vegetación nativa. Es así que, considerando un escenario de manejo, en sitios de mayor exposición (solano) una abertura intensa de la canopia podría ser negativa para la mesofauna ya que aumentaría la exposición del suelo a la radiación y al viento, generando mayor amplitud térmica y mayor escorrentía. En cambio, en sitios de menor exposición (umbría) la remoción de dosel puede estimular procesos como la descomposición, el reclutamiento de herbáceas y arbóreas, el aumento de la temperatura del suelo y la disponibilidad de agua, siendo en este caso la mayor amplitud térmica más favorable para la mesofauna y sus funciones biológicas. En combinación con lo anteriormente mencionado para parámetros edafológicos y micro climáticos, se esperaría que en sitios de mayor riqueza vegetal y de mayor cobertura, el raleo incremente la abundancia de la mesofauna, en cambio en sitios menos ricos y de menor cobertura que las abundancias disminuyan a medida que la remoción de biomasa vegetal aumente.

Cabe agregar que las comunidades de hojarasca y suelo pertenecen a nichos ecológicos distintos. Aquellas intensidades de raleo que estimulen la productividad foliar y la descomposición de los materiales depositados sobre el suelo pueden favorecer a las comunidades de mesofauna en hojarasca. Por su parte, aunque no estén directamente expuestos al viento y la radiación como lo están los individuos de hojarasca, la mesofauna de suelo también depende del alimento y la protección que la broza le ofrece. En un gradiente de remoción de área basal (AB) la comunidad de hojarasca sería más vulnerable que la comunidad de suelo y esta vulnerabilidad estaría intensificada por la estructura vegetal nativa y la posición topográfica del sitio.

Los ñirantales de norpatagonia norte comprenden 80.000 a 100.000 hectáreas de montes diversos y de gran variabilidad estructural, resultado de su uso histórico en ganadería y extracción de leña (Reque *et al.* 2007). Ensayos para evaluar la funcionalidad de los diferentes tipos de ñirantal frente a tratamientos silvícolas son clave para describir los impactos sobre las comunidades y los procesos naturales que dependen de ellas (ej. mesofauna y su rol en el ciclaje de

nutrientes). Al mismo tiempo, estudios ecológicos sobre la respuesta conjunta entre el cambio de cobertura mediado por el manejo y el comportamiento de las comunidades de suelo son escasos, especialmente en gradientes de remoción de área basal a nivel experimental. Poder reconocer qué componentes bióticos y abióticos al ser modificados por el manejo comprometen la productividad y el aporte de servicios ambientales asociados constituye un desafío ecológico hacia el manejo sustentable de los bosques.

El objetivo de este trabajo fue presentar resultados preliminares de la abundancia de los taxones de alto rango de la mesofauna en hojarasca y suelo, y los efectos de un gradiente de raleo sobre las mismas en matorrales mixtos de norpatagonia.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### SITIO DE ESTUDIO

El estudio se llevó a cabo en 3 sitios de ñirantal con diferentes grados de sucesión vegetal post-incendio y por lo tanto diferente composición estructural (Fig. 1 y 2). El experimento manipulativo de raleo se encuentra en un matorral alto y matorral bajo (laderas Sur y Norte sobre una morena post-glaciaria) (El Foyel, 41°39'11"S 71°27'32"O) y en un ñirantal puro sobre una meseta entre sierras cordilleranas (Los Repollos, 41°51'0" S 71°25'0" O). Los sitios están dominados por matorrales de *Nothofagus antarctica* puros o en combinación con otras especies (*Lomatia hirsuta*, *Embothrium coccineum*, *Diostea juncea*, *Schinus patagonicus*, *Discarya chacaye*). La altitud de las parcelas se encuentra entre 790 msnm y 880 msnm. El clima en el área es templado-frío, las mayores precipitaciones se producen durante el otoño e invierno y van desde los 920mm a 1.300mm anuales (Reque *et al.* 2007). Las temperaturas medias en los sitios van desde los 8°C a los 9°C, con temperatura máxima promedio anual de 15°C y mínima de 1,5°C. Las heladas están presentes unos 120 días al año, con 0,5 días con granizo, humedad relativa anual del 65%, y temperatura anual de rocío de 2°C (Reque *et al.* 2007, Gyenge *et al.* 2009).

### DISEÑO EXPERIMENTAL

El experimento de raleo fue organizado en un diseño en bloques con parcelas divididas. A nivel de bloque, existen 4 prácticas de manejo, las cuales resultan de 4 intensidades diferentes de raleo sistemático (0, 30, 50 y 70 % del AB removida, aproximadamente). Cada parcela experimental posee una superficie de 1417,5 m<sup>2</sup> (31,5 m x 45 m) y existen 2 repeticiones de cada tratamiento por sitio (24 en total, 8 parcelas por sitio). La ejecución del raleo se realizó durante el verano

2014-2015 en todos los sitios. Luego de un año en cada parcela-tratamiento se localizaron 5 puntos aleatorios donde se tomaron muestras de hojarasca y suelo (0-5 cm) además de una muestra paralela destinada a determinación de variables químicas del suelo (pH, conductividad eléctrica, humedad gravimétrica). La superficie individual de muestreo fue de 9,106 cm<sup>2</sup>. Una vez en el laboratorio las muestras de hojarasca y suelo fresco permanecieron en embudos de Berlese-Tullgren (8-10 días) y la mesofauna extraída se conservó en frascos de 50 ml con etanol en solución al 70 % para su posterior clasificación taxonómica.

#### ANÁLISIS DE LABORATORIO

Se cuantificó y clasificó a los morfotipos de ácaros y colémbolos con observación bajo lupa estereoscópica y microscopio, mediante la utilización de claves taxonómicas de Martínez (2009). La resolución taxonómica fue hasta Suborden de Acari: tales (Krantz y Walter 2009; Momo y Falco 2009) y hasta familias de Collembola: tales. Por la escasa abundancia de éstos últimos los análisis se realizaron a nivel de familia y no fueron incluidos en la elaboración de modelos.

Se determinó la humedad gravimétrica (%), el pH y la conductividad eléctrica (c.e. dSm<sup>-1</sup>) de cada submuestra de suelo, ambos en una relación 1:2,5 en agua destilada (Fig. 2). Los resultados de los análisis físico-químicos se encuentran resumidos en la Fig.2.

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

De manera preliminar se evaluó al sitio y al raleo como modeladores de la abundancia de ácaros total y de los grupos Mesostigmata, Prostigmata y Oribatida para cada comunidad. El modelo lineal general fue ajustado por gls e incluyó al sitio como variable categórica y a la intensidad de raleo como variable cuantitativa. Cuando fue necesario, los modelos incluyeron funciones de las varianzas del tipo varident y varcomb (varident y varExp) para lograr homocedasticidad. Se utilizó la inferencia multimodelo como marco de estadística inferencial y la selección del modelo fue a través de una forma corregida del AIC, el modelo con el menor valor de AICc (AICc, min) fue el seleccionado como el mejor (Barton 2016). Todos los análisis se llevaron a cabo con el software R (R Core Team 2015).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En cuanto a la mesofauna, se colectaron 1987 individuos, de los cuales 1285 eran ácaros y 109 colémbolos. El total de ácaros se distribuyó en tres taxa: Orden Sarcoptiformes, Suborden Oribátida, 52,92%, Orden Trombidiformes, Suborden Prostigmata, 29,34% y Orden Mesostigmata, Suborden Monogynaspida Cohortes Gamasina y Uropodina, 17,74%. Para el grupo de colémbolos se registraron solamente morfotipos del Orden Arthropleona dentro del cual el

79,82% pertenecían a la familia Entomobryidae, mientras que el restante 20,18% correspondió a las familias Isopodidae y Poduridae (Fig. 3 y 4).

#### MESOFAUNA DE LA HOJARASCA

La comunidad de hojarasca presentó mayores abundancias de los distintos grupos tanto de ácaros como de colémbolos en el ñirantal puro, seguido por el matorral alto y el matorral bajo (Fig. 5).

La abundancia total de ácaros resultó ser dependiente de la interacción entre sitio y raleo ( $p < 0,01$ ; Tabla 1). El ajuste del modelo lineal indica que el raleo posee diferentes efectos en la abundancia de acuerdo con el sitio: mientras en el matorral bajo ante un aumento en la intensidad de raleo la abundancia se ve levemente favorecida, en el matorral alto y el ñirantal las tendencias son opuestas. Preliminarmente, esto podría indicar que en estos dos últimos sitios la ejecución de intensidades crecientes de raleo provoca un efecto negativo notorio en la abundancia de ácaros total (Fig.7).

La abundancia de cada grupo de ácaros por separado no resultó dependiente ni de la intensidad de raleo ni del sitio considerado, excepto para el caso de los ácaros Prostigmata cuya abundancia resultó dependiente del sitio ( $p = 0,037$ ; Tabla 1) y no de la intensidad del raleo ejecutado. Este grupo fue más abundante en el ñirantal y en el matorral bajo con respecto al matorral alto. Estudios en otros agroecosistemas indican que los individuos Prostigmata suelen ser más abundantes en sitios de menor fertilidad y más disturbados con valores de humedad de suelo menores y de mayor variabilidad (Socarrás 2013), lo cual se corresponde con los valores repostados para el gradiente de sitios indicado (Fig.2).

#### MESOFAUNA DE SUELO

En líneas generales, la comunidad de suelo presentó mayores abundancias de ácaros y colémbolos en el matorral bajo; en cambio los diferentes grupos de ácaros mostraron tendencias diferentes: los oribátidos fueron más abundantes en el matorral bajo, seguido del matorral alto y el ñirantal puro, mientras que los Mesostigmata y Prostigmata fueron más abundantes en el ñirantal seguido por el matorral bajo y el matorral alto (Fig. 6).

El ajuste de modelos lineales para la abundancia promedio de ácaros total de esta comunidad sugiere que la misma no depende ni del sitio ni del raleo. A través del análisis de la abundancia de los Mesostigmata, Prostigmata y Oribatida por separado se observó que la abundancia de estos grupos no depende ni del sitio ni del tratamiento de raleo aplicado.

A priori, los resultados podrían indicar que los sitios de menor riqueza vegetal no serían los que presenten las menores abundancias de taxones estudiados

en suelo, mientras que sitios de mayor riqueza determinan las mayores abundancias de mesofauna en hojarasca.

## CONCLUSIONES

En el presente trabajo se presentaron resultados preliminares de abundancia de mesofauna en un experimento de raleo en ñirantales de norpatagonia. Estos antecedentes son importantes para sentar recomendaciones de manejo en base a efectos ecológicos de la silvicultura sobre la fertilidad biológica del suelo.

Se discutió la hipótesis de que las comunidades de mesofauna de hojarasca y suelo son modificadas cuando la cobertura decrece y que esos efectos aunque indirectos dependen de la estructura de la comunidad vegetal original. Es decir, a mayor riqueza de especies vegetales y mayor densidad, la remoción de individuos produce efectos negativos en la abundancia de menor magnitud en comparación a lo que sucede en comunidades vegetales menos diversas y con menor densidad. Esto fue confirmado para la comunidad de hojarasca, la cual se esperaba sea más sensible a intensidades crecientes de raleo según el tipo de ñirantal. Además, es necesario llevar el presente análisis a nivel de riqueza funcional y específica para lograr conclusiones ecológicas concretas con respecto a los tratamientos. La inclusión de covariables relacionadas a los sitios y los diferentes gradientes de raleo con el uso de modelos mixtos permitirá asociar el comportamiento de los grupos de mesofauna de ambas comunidades con mecanismos biológicos que son afectados por el manejo silvícola.

## BIBLIOGRAFÍA

- Barrios, E. (2007). Soil biota, ecosystem services and land productivity. *Ecological economics*, 64(2), 269-285.
- Cole, L., Staddon, P. L., Sleep, D., & Bardgett, R. D. (2004). Soil animals influence microbial abundance, but not plant-microbial competition for soil organic nitrogen. *Functional Ecology*, 18(5), 631-640.
- Cozzo, D. (1995). Silvicultura de bosques implantados. Tomo II. Orientación Gráfica Ed. Pág. 89.
- De Deyn, G. B., & Van der Putten, W. H. (2005). Linking aboveground and belowground diversity. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(11), 625-633.
- Decaëns, T., Jiménez, J. J., Gioia, C., Measey, G. J., & Lavelle, P. (2006). The values of soil animals for conservation biology. *European Journal of Soil Biology*, 42, S23-S38.

- Gyenge, J., Fernández, M. E., Sarasola, M., de Urquiza, M., & Schlichter, T. (2009). Ecuaciones para la estimación de biomasa aérea y volumen de fuste de algunas especies leñosas nativas en el valle del río Foyel, NO de la Patagonia argentina. *Bosque* (Valdivia), 30(2), 95-101.
- Ilieva-Makulec, K., Olejniczak, I., & Szanser, M. (2006). Response of soil micro- and mesofauna to diversity and quality of plant litter. *European Journal of Soil Biology*, 42, S244-S249.
- ISO 690
- Jandl, R., Lindner, M., Vesterdal, L., Bauwens, B., Baritz, R., Hagedorn, F., & Byrne, K. A. (2007). How strongly can forest management influence soil carbon sequestration. *Geoderma*, 137(3), 253-268.
- Johnson, D. W., & Curtis, P. S. (2001). Effects of forest management on soil C and N storage: meta-analysis. *Forest Ecology and Management*, 140(2), 227-238.
- Kamil Bartoń (2016). MuMIn: Multi-Model Inference. R package version 1.15.6. <https://CRAN.R-project.org/package=MuMIn>
- Krantz GW, Walter DE (2009) A manual of Acarology, 3° edn. Págs.806.
- Lavelle, P., Decaëns, T., Aubert, M., Barot, S., Blouin, M., Bureau, F., ... & Rossi, J. P. (2006). Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology*, 42, S3-S15.
- Martínez Pastur G, Cellini JM, Peri PL, et al (2000) Timber production of *Nothofagus pumilio* forests by a shelterwood system in Tierra del Fuego (Argentina). *Forest Ecology and Management*, 134:153-162.
- Momo, F. R., & Falco, L. B. (2009). Biología y ecología de la fauna del suelo. Ed. Imago. Págs. 9-18.
- R Core Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Reque, J. A., Sarasola, M., Gyenge, J., & Fernández, M. E. (2007). Caracterización silvícola de ñirantales del norte de la Patagonia para la gestión forestal sostenible. *Bosque* (Valdivia), 28(1), 33-45.
- Socarrás, A. (2013). Mesofauna edáfica: indicador biológico de la calidad del suelo. *Pastos y Forrajes*, 36(1), 5-13.

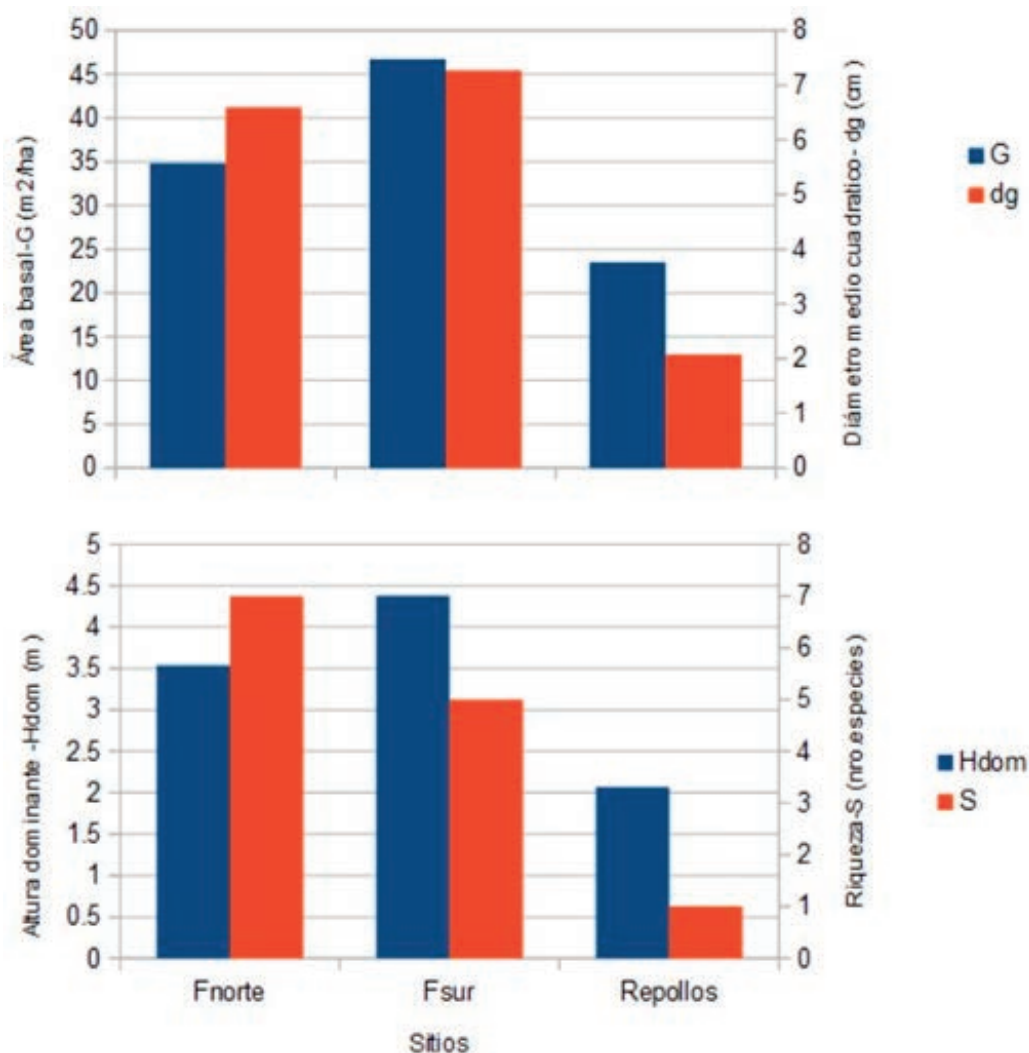


Veblen TT., Armesto JJ., Burns BR., et al. (2005) The coniferous forests of south america. En: Elsevier (ed) Ecosyst. World; Conifer. For. Amsterdam, pp 701-725.

Verschuyl, J., Riffell, S., Miller, D., & Wigley, T. B. (2011). Biodiversity response to intensive biomass production from forest thinning in North American forests—a meta-analysis. *Forest Ecology and Management*, 261(2), 221-232.

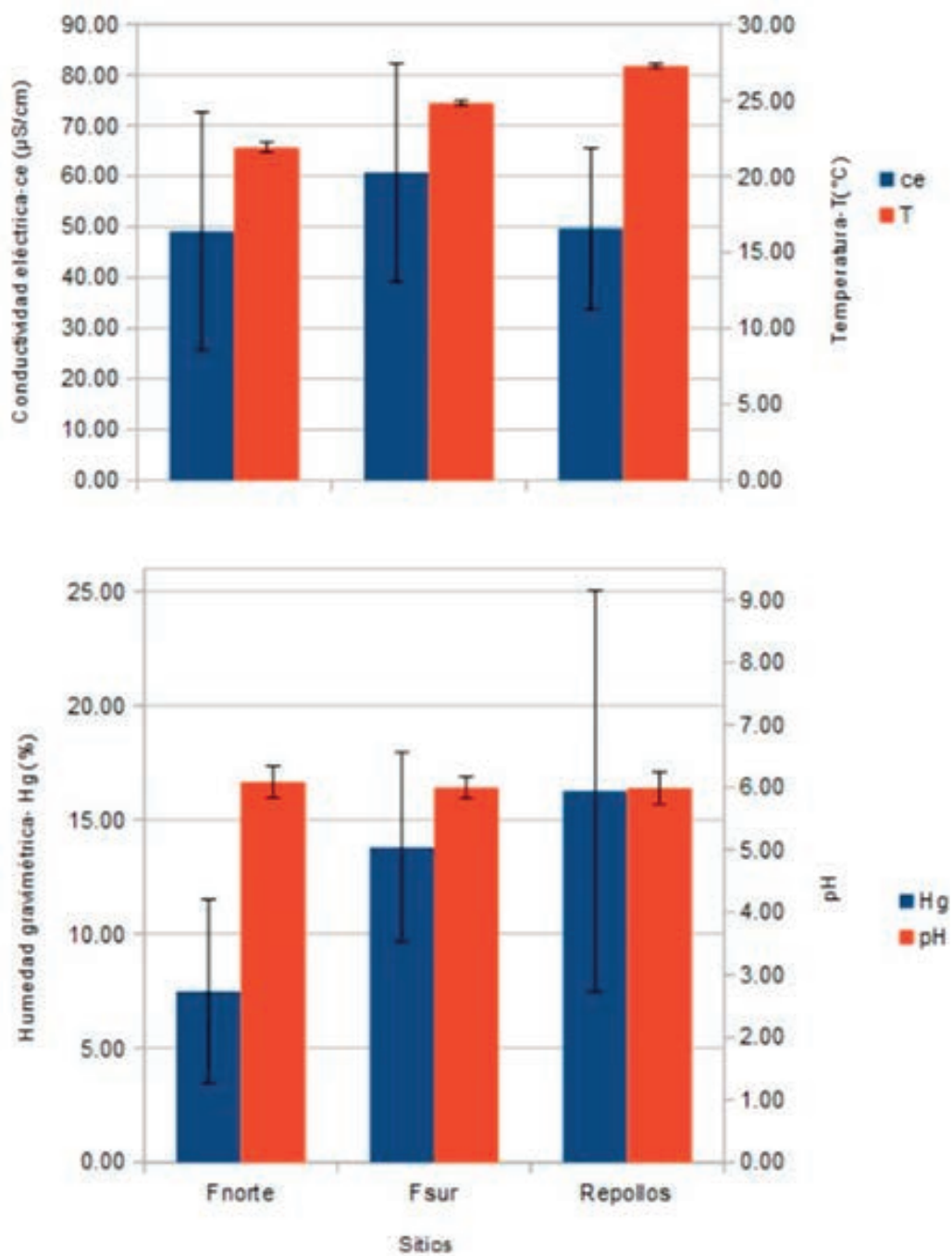
Wardle, D. A. (2002) Communities and ecosystems: linking the aboveground and belowground components (Vol. 34). Princeton University Press.

Fig.1. Variables silvícolas y dasométricas de los sitios de estudio.



\*Sitios: F Norte: Mbajo, F Sur: Matorral alto, R: Ñirantal puro

Fig.2. Variables físico-químicas de suelo asociadas a los sitios de estudio.



\*Sitios: Fnorte: Matorral bajo, Fsur: Matorral alto, R: Ñirantal puro

Fig. 3. Proporción de familias de Collembola encontradas en el total de muestras.

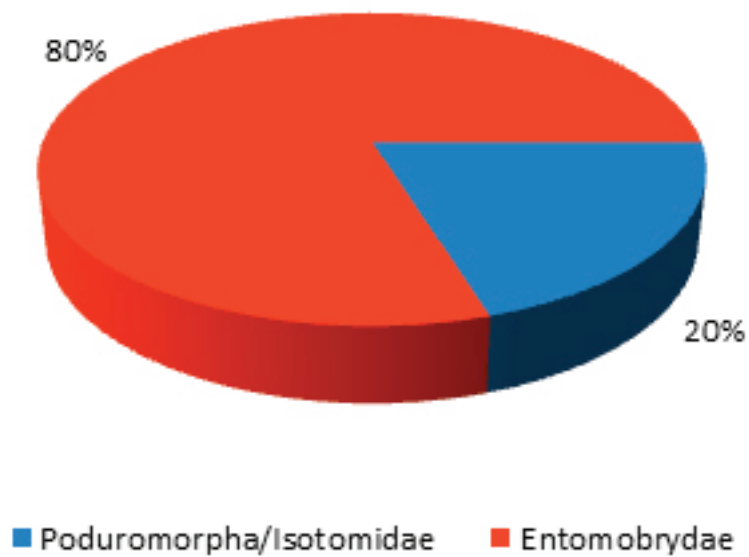
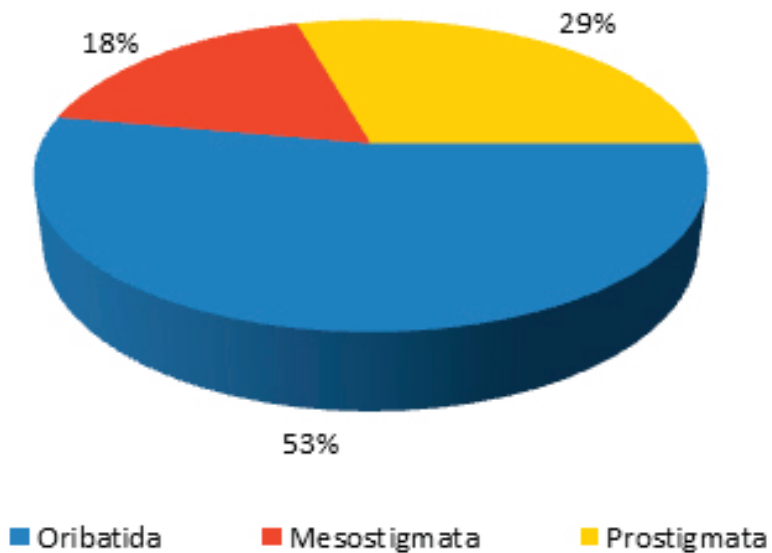


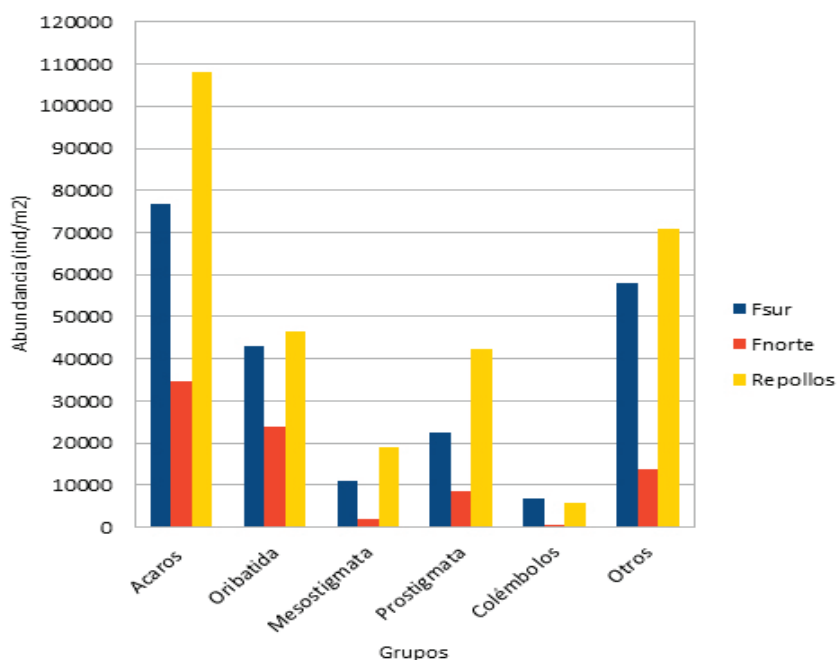
Fig. 4. Proporción de taxones de alto rango de Acari encontradas en el total de muestras.



**Fig. 5.** Abundancia de la mesofauna de la hojarasca a nivel de grupos taxonómicos de alto rango.

\*Sitios: Fnorte: Matorral bajo, Fsur: Matorral alto, R: Ñirantal puro.

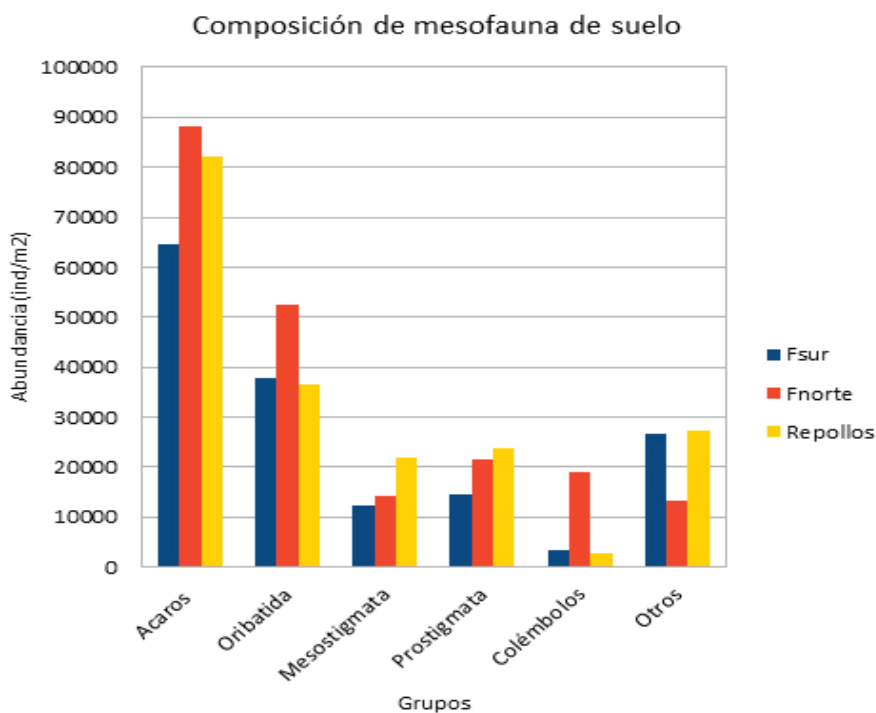
\*\*Acaros es la abundancia total de todos los grupos de Acari.



**Fig. 6.** Abundancia de la mesofauna de suelo a nivel de grupos taxonómicos de alto rango.

\*Sitios: Fnorte: Matorral bajo, Fsur: Matorral alto, R: Ñirantal puro.

\*\*Acaros es la abundancia total de todos los grupos de Acari.



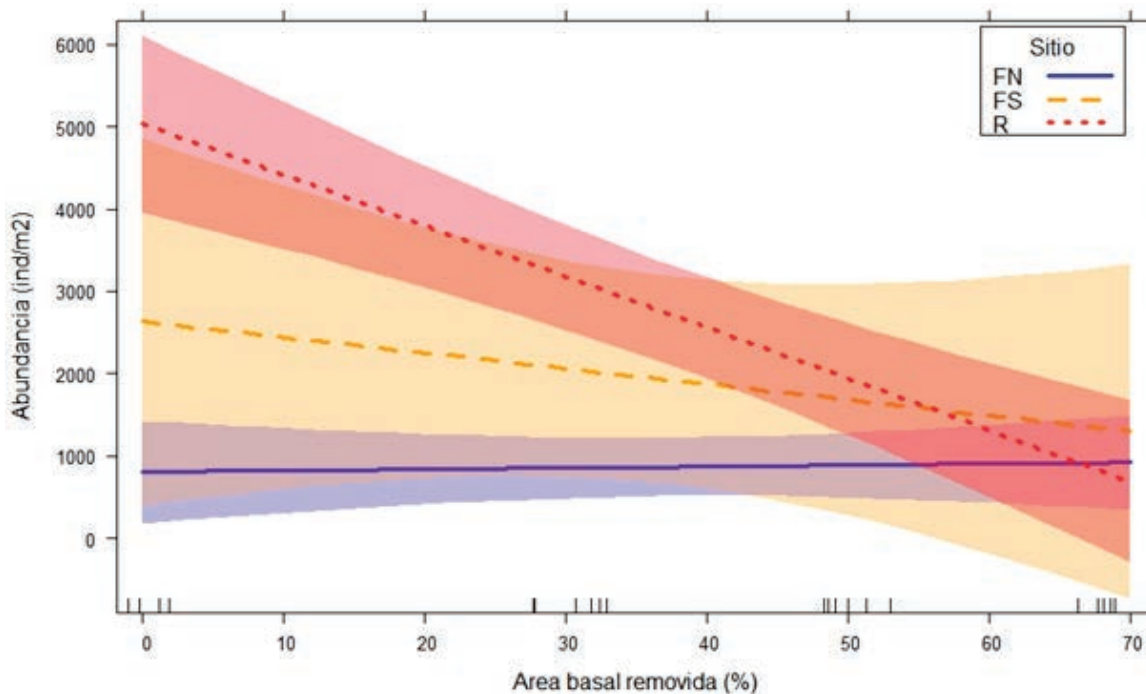
**Tabla 1.** Modelos y coeficientes ajustados para la abundancia total de ácaros de hojarasca y Prostigmatas de hojarasca.

\*Sitios: Fnorte: Matorral bajo, Fsur: Matorral alto, R: Ñirantal puro.

Variable predictora	Modelo final	
	Acaros total Hojarasca	Prostigam ata Hojarasca
	<i>Acaro~Sitio+Raleo+Sitio*Raleo</i>	<i>Pros~Sitio</i>
	Coeficiente	Coeficiente
FN	804.3	159.7
FS	1827.3	288.5
R	4227.4	389.5
Raleo	1.6	-
FS:Raleo	-20.6	-
R:Raleo	-63.6	-

**Fig. 7.** Interacción del sitio y el raleo y su efecto en la abundancia de ácaros de hojarasca.

\*Sitios: Fnorte: Matorral bajo, Fsur: Matorral alto, R: Ñirantal puro



## HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES EN ASOCIACIÓN CON *LOTUS TENUIS* EN AMBIENTES HALOMÓRFICOS DE LA CUENCA DEL RÍO SALADO

García Ileana (1)\*, Cabello Marta (2), Fernández-López Carolina (3),  
Chippano Tomás (1), Mendoza Rodolfo(1)

1 Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" (MACN-CONICET).

2 Instituto de Botánica Carlos Spegazzini (CICPBA). 3 Inta.

\* [igarcia@macn.gov.ar](mailto:igarcia@macn.gov.ar); Av. Ángel Gallardo 470 (C1405DJR),  
Ciudad de Buenos Aires, Argentina, 54-11- 49829410.

**Palabras clave:** hongos micorrícicos arbusculares, *Lotus tenuis*, ambientes halomórficos

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue caracterizar la comunidad nativa de hongos MA en la rizósfera de *L. tenuis* en suelos halomórficos de la Cuenca del río Salado ante distintas condiciones de manejo. Los ambientes seleccionados se diferencian en pastizales naturales y con promoción de *L. tenuis* por aplicación de herbicida. Como hipótesis se plantea que la composición de la comunidad MA está influenciada por las propiedades edáficas y el manejo que presente cada ambiente.

Se seleccionaron 8 sitios con suelos halomórficos y distinto manejo en Chascomús (Buenos Aires): tres pastizales naturales donde crece habitualmente *L. tenuis* y cinco sitios con promoción de *L. tenuis* por aplicación de 3,5 L/ha/año de glifosato. En cada sitio, se recolectaron al azar cinco plantas de *L. tenuis* con suelo rizosférico. Se caracterizó la colonización MA en las raíces. En suelo se midieron: pH, CE, PSI, Ca, Mg, Na, K; y densidad de esporas MA. Las esporas MA fueron identificadas a nivel de especie.

La colonización MA y pH y PSI mostraron una relación positiva en los pastizales naturales, y una relación negativa en los sitios con promoción de *L. tenuis*. Estos resultados indicarían que la colonización MA aumenta en los pastizales naturales ante un incremento de la salinidad y sodicidad, pero en los sitios con promoción la colonización MA disminuye ante el incremento de la severidad en las condiciones edáficas.

Glomeraceae, Claroideoglomeraceae, Acaulosporaceae y Diversisporaceae son las familias con mayor densidad de esporas. Glomeraceae es la única familia presente en todos los sitios, y particularmente, *Funneliformis mosseae*, es la única especie descrita en todos los ambientes estudiados, independientemente de las propiedades edáficas y del manejo. Las familias de hongos MA constituyen un buen indicador a fin de diferenciar los sitios estudiados por sus características edáficas y/o manejo en la Cuenca del río Salado.

## INTRODUCCIÓN

La Cuenca del río Salado congrega diferentes condiciones de estrés: salinidad, sodicidad, estrés hídrico y deficiencia de P. Es una zona de cría bovina sostenida principalmente por pastizales naturales, dominados por gramíneas, con una significativa merma de cantidad y calidad forrajera principalmente en inviernos y veranos secos. La falta de leguminosas perennes, y un pastoreo poco controlado, profundizan el problema.

*Lotus tenuis*, leguminosa naturalizada, de excelente valor forrajero y gran plasticidad, ha generado una alternativa para mejorar la productividad de la zona (Cahuépe, 2004). Además, *L. tenuis* establece relación simbiótica con hongos micorrícicos arbusculares (MA) y bacterias fijadoras de  $N_2$  (Mendoza y Pagani, 1997; García y Mendoza, 2008). Estas características la han convertido en una especie de interés para el estudio de su interacción con hongos MA, especialmente ante condiciones de estrés, las cuales constituyen un factor regulador del crecimiento vegetal en cada ecosistema de la Cuenca.

La promoción es una práctica agronómica que consiste en eliminar la competencia de especies no deseadas. La promoción de *L. tenuis* constituye una alternativa para superar la deficiencia de forraje en verano. *L. tenuis* no es competitiva durante la implantación, por lo tanto, la aplicación de glifosato (herbicida de post-emergencia) en invierno elimina las malezas de hoja ancha, mejora su implantación, y por lo tanto, aumenta su dominancia.

El objetivo de este trabajo fue caracterizar la comunidad nativa de hongos MA en la rizósfera de *L. tenuis* en suelos halomórficos de la Cuenca del río Salado ante distintas condiciones de manejo. Los ambientes seleccionados para este estudio se diferencian en pastizales naturales y pastizales con promoción de *L. tenuis* por aplicación de herbicida.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En diciembre de 2014, se seleccionaron 8 sitios con suelos halomórficos y distinto manejo en Chascomús (Buenos Aires), pudiendo diferenciar: tres sitios con pastizales naturales donde crece habitualmente *L. tenuis* y cinco sitios con promoción de *L. tenuis* por aplicación de herbicida (Tabla 1). La promoción de *L. tenuis* está basada en la aplicación de 3,5 L/ha/año de glifosato (en invierno), con cinco años de tratamiento al momento del muestreo. Todos los sitios presentan una carga similar de ganado vacuno por año. En cada sitio, se recolectaron al azar cinco plantas semejantes de *L. tenuis* con suelo rizosférico y se relevó la composición florística a través del método de *Daget y Poissonet* (1971). En las raíces de *L. tenuis* se caracterizó la colonización MA (Mc Gonigle y col. 1990). En suelo, se midieron: pH, CE, PSI, Ca, Mg, Na y K (Jackson, 1964). Las esporas de

hongos MA se aislaron de 100 g de suelo rizosférico (*Walker y col., 1982*), y fueron identificadas a nivel de especie (*Colección INVAM <http://invam.caf.wvu.edu>*).

El tratamiento estadístico incluyó análisis de varianza (ANOVA) y test de Tukey. Las comunidades de hongos MA fueron analizadas por ACC. Las variables fueron: densidad de esporas de MA clasificadas por familias (matriz principal), y pH, PSI y Frecuencia relativa (Fr) *L. tenuis* (matriz secundaria).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los sitios seleccionados en la Cuenca del río Salado presentaron diferentes niveles de salinidad y sodicidad, y un incremento en la Fr de *L. tenuis* en los sitios con promoción (sitios 4 al 8) (Tabla 1).

La colonización MA (índice MC) en las raíces de *L. tenuis* alcanza valores desde 0,82 (sitio 5) hasta 0,97 (sitio 3) (Fig. 1a). En promedio, el índice MA alcanzó un valor mayor en los sitios con pastizales naturales en comparación con el valor medio de los sitios con promoción de *L. tenuis*. El índice de colonización por arbusculos es elevado en cada sitio estudiado, lo cual indica que la simbiosis estaría activa al momento del muestreo independientemente de las condiciones edáficas y manejo en cada ambiente (Fig. 1b). El índice MC se correlaciona positivamente con las variables de suelo: pH y PSI en los pastizales naturales (Fig. 1c), y en forma negativa en los sitios con promoción de *L. tenuis* (Fig. 1d).

Estos resultados indican que la colonización MA aumenta ante un incremento de la salinidad y sodicidad en los pastizales naturales, pero en las promociones la colonización MA disminuye ante el incremento de la severidad en las variables edáficas. A partir de éstos resultados se postula que la comunidad de hongos MA en los sitios con promoción de *L. tenuis* podría ser menos efectiva en el establecimiento y posterior mantenimiento de la colonización radical debido a que la viabilidad de las esporas en suelo es afectada por la aplicación de herbicida según reportó *Druille y col. (2015)*. Es necesario tener en cuenta que la concomitante pérdida de diversidad vegetal producida por la aplicación de herbicida también puede afectar a la comunidad de hongos MA. Si bien cada comunidad fúngica está adaptada a las condiciones del suelo de cada sitio de la Cuenca, las diferentes propiedades edáficas no necesariamente modificarían la dinámica de la colonización por arbusculos en las raíces de *L. tenuis*, estos resultados concuerdan con observaciones previas de la dinámica de la colonización MA en *L. tenuis* en un trabajo espacio-temporal a lo largo de un gradiente de humedad, salinidad y sodicidad en la Cuenca del Salado (*García y Mendoza, 2008*).

En el presente estudio se registraron un total de veintidós especies de hongos MA en la rizósfera de *L. tenuis* en suelos halomórficos de la Cuenca del Salado (Tabla 2). Las especies descritas se agrupan en siete familias, cuatro de ellas



presentan mayor densidad de esporas: Glomeraceae, Claroideoglomeraceae, Acaulosporaceae y Diversisporaceae (Fig. 2). Glomeraceae es la única familia presente en todos los sitios, y particularmente, *Funneliformis mosseae*, es la única especie descrita en todos los ambientes estudiados, independientemente de las propiedades edáficas y del manejo que presente cada ambiente. *Claroideoglo mus etunicatum* y *Septoglo mus constrictum* fueron descritas en todos los sitios excepto el sitio 8. *Acaulospora mellea*, *Claroideoglo mus claroideum* y *Diversispora spurca* se encuentran presentes en la mayoría de los sitios, excepto los sitios 6 y 8. Las especies restantes mencionadas en la Tabla 2 se encuentran presentes en tres o menos sitios y con Fr bajas.

La figura 3 muestra un ACC de los datos de densidad de esporas de hongos MA agrupados a nivel de familia en función de las propiedades edáficas y Fr *L. tenuis*. Los ejes 1 y 2 del gráfico explican 26,2% de la varianza total, formada por 23,5% del eje 1 y 2,7% del eje 2. El test de Monte Carlo indicó que el eje 1 es significativo ( $P=0,001$ ). La familia Claroideoglomeraceae se encuentra asociada con el incremento del pH y PSI, y baja Fr *L. tenuis* (sitio 3, pastizal natural). Acaulosporaceae y Glomeraceae están asociadas a Fr *L. tenuis* altas y una disminución del pH y PSI (sitios 7 y 8, sitios con promoción de *L. tenuis*). La familia Diversisporaceae está asociada a los sitios 2 y 4.

## CONCLUSIONES

La colonización MA es mayor en los pastizales naturales en comparación con los sitios con promoción de *L. tenuis* por la aplicación anual de herbicida. En los pastizales naturales, la colonización MA aumentó ante un incremento de la salinidad y sodicidad, y podría indicar una mayor dependencia por la asociación con hongos MA en estos ambientes. En la promoción, la colonización MA disminuye ante el incremento de la severidad en las variables edáficas, estos resultados podrían asociarse al efecto perjudicial del herbicida sobre la comunidad fúngica.

Glomeraceae, Claroideoglomeraceae, Acaulosporaceae y Diversisporaceae son las familias con mayor densidad de esporas. Glomeraceae es la única familia presente en todos los sitios, y particularmente, *Funneliformis mosseae*, es la única especie descrita en todos los ambientes estudiados, independientemente de las propiedades edáficas y del manejo que presente cada ambiente. Las familias de hongos MA constituyen un buen indicador a fin de diferenciar los sitios estudiados por sus características edáficas y/o manejo en la Cuenca del río Salado.

Los resultados presentados en este trabajo son los primeros en su tipo, y constituyen el primer paso hacia un estudio espacio-temporal de la simbiosis hongos MA- *L. tenuis*., el cual incluirá también herramientas moleculares para

la descripción taxonómica de hongos MA en las raíces de *L. tenuis* en la Cuenca del río Salado.

**Institución financiadora:** Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet), Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) Y CICPBA.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Cahuépe, M. 2004. Does *Lotus glaber* improve beef production at the Flooding Pampas?. *Lotus Newsletter*. 34: 38.43

Colección INVAM <http://invam.caf.wvu.edu>

Daget, P.; Poissonet, J. 1971. Uné méthode d'analyse phytologique des prairies. Critères d'application. *Annales agronomiques*. 22: 5-41.

Druille, M.; Cabello, M. N.; Parisi, P. G.; Golluscio, R. A.; Omacini, M. 2015. Glyphosate vulnerability explains changes in root-symbionts propagules viability in pampean grasslands. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 202: 48-55.

García, I; Mendoza, R. 2008. Relationships among soil properties, plant nutrition and arbuscular mycorrhizal fungi-plant symbioses in a temperate grassland along hydrologic, saline and sodic gradients. *FEMS Microbiology Ecology*. 63: 359-371.

Jackson, M. L. 1964. *Soil Chemical Analysis*. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall.

Mc Gonigle, T.; Millar, M.; Evans, D.; Fairchild, G.; Swan, J. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytologist*. 115: 495-501.

Mendoza, R.; Pagani, E. 1997. Influence of phosphorus nutrition on mycorrhizal growth response and morphology of mycorrhizae in *Lotus tenuis*. *Journal of Plant Nutrition*. 20: 625-639.

Walker, C.; Mize, C. W.; McNabb Jr, H. S. 1982. Populations of endogonaceous fungi at two locations in central Iowa. *Canadian Journal of Botany*. 60: 2518-2529.

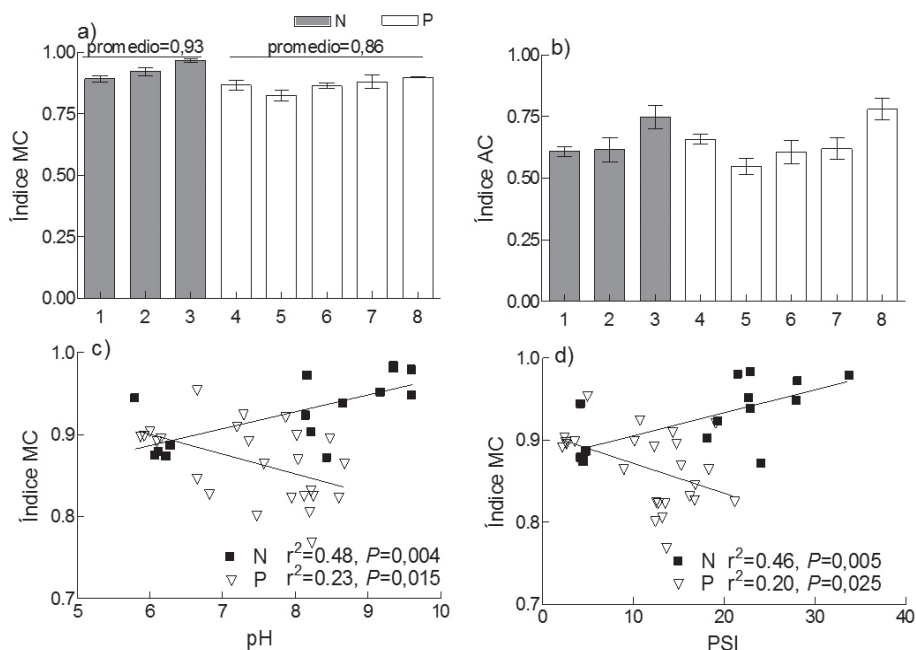
**Tabla 1.** Características generales y propiedades edáficas de los sitios seleccionados.

Sitio	Tipo de pastizal	Suelo	pH	PSI (%)	Na <sup>+</sup> (meq/100g)	K <sup>+</sup> (meq/100g)	Ca <sup>2+</sup> (meq/100 g)	Mg <sup>2+</sup> (meq/100g)	Fr <i>L. tenuis</i>
1	natural	Natraquoll	6,11	4,51	0,51	1,26	7,21	2,19	16,75
2	natural	Natraqualf	8,33	22,56	4,35	2,54	7,39	4,81	21,43
3	natural	Natraqualf	9,42	25,83	4,02	1,77	5,93	3,788	15,71
4	promoción	Albacualf	7,36	17,64	2,45	1,046	7,08	3,258	14,61
5	promoción	Natraqualf	8,29	13,59	2,882	1,432	13,48	3,43	38,35
6	promoción	Natraqualf	8,09	13,04	3,054	1,546	14,35	4,624	30,79
7	promoción	Natraquoll	7,40	12,94	1,818	0,996	9,912	3,05	33,98
8	promoción	Natraquoll	6,01	2,68	0,324	1,56	8,312	2,006	48,45

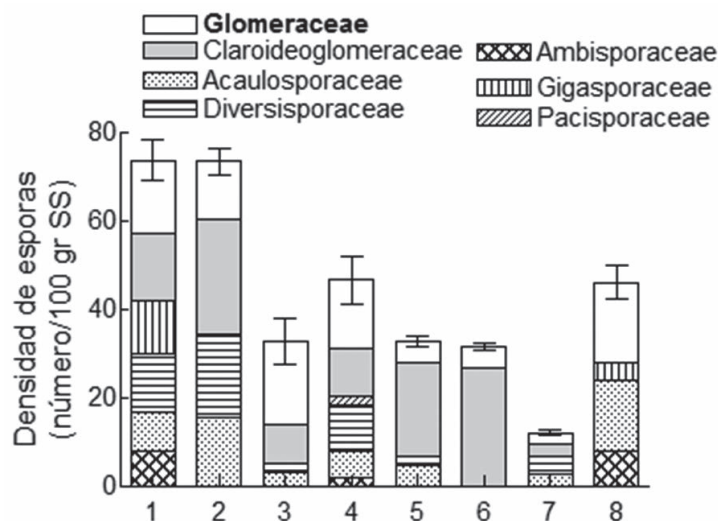
**Tabla 2.** Clasificación taxonómica de hongos MA en suelo rizosférico de *L. tenuis* en ambientes halomórficos de la Cuenca del río Salado.

Familia	Especie
Glomeraceae	<i>Funnelformis mosseae</i> (T.H. Nicolson & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler <i>Glomus lamellosum</i> Dalpé, Koske & Tews <i>Rhizophagus clarum</i> (T.H. Nicolson & N.C. Schenck) C. Walker & A. Schüßler <i>Rhizophagus intraradices</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler <i>Septoglomus constrictum</i> (Trappe) Sieverd., G.A. Silva & Oehl
Claroideoglomeraceae	<i>Claroideoglomus claroideum</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker & A. Schüßler <i>Claroideoglomus etunicatum</i> (W.N. Becker & Gerd.) C. Walker & A. Schüßler
Acaulosporaceae	<i>Acaulospora brasiliensis</i> (B.T. Goto, L.C. Maia & Oehl) C. Walker, Krueger & Schuessler <i>Acaulospora delicata</i> C. Walker, C.M. Pfeiff. & Bloss <i>Acaulospora mellea</i> Spain & N.C. Schenck <i>Acaulospora scrobiculata</i> Trappe <i>Acaulospora spinosa</i> C. Walker & Trappe <i>Acaulospora tuberculata</i> Janos & Trappe <i>Entrophospora infrequens</i> (I.R. Hall) R.N. Ames & R.W. Schneid <i>Entrophospora nevadensis</i> Palenzuela, Ferrol, Azcón-Aguilar & Oehl
Diversisporaceae	<i>Diversispora spurca</i> (C.M. Pfeiff., C. Walker & Bloss) C. Walker & A. Schüßler
Ambisporaceae	<i>Ambispora fecundispora</i> (N.C. Schenck & G.S. Sm.) C. Walker <i>Ambispora gerdemannii</i> (S.L. Rose, B.A. Daniels & Trappe) C. Walker, Vestberg & A. Schüssler,
Gigasporaceae	<i>Scutellospora biornata</i> Spain, Sieverd. & S. Toro <i>Scutellospora fulgida</i> Koske & C. Walker <i>Scutellospora pellucida</i> (Nicol. & N.C. Schenck) C. Walker & F.E. Sanders
Pacisporaceae	<i>Pacispora robiginia</i> Oehl & Sieverding

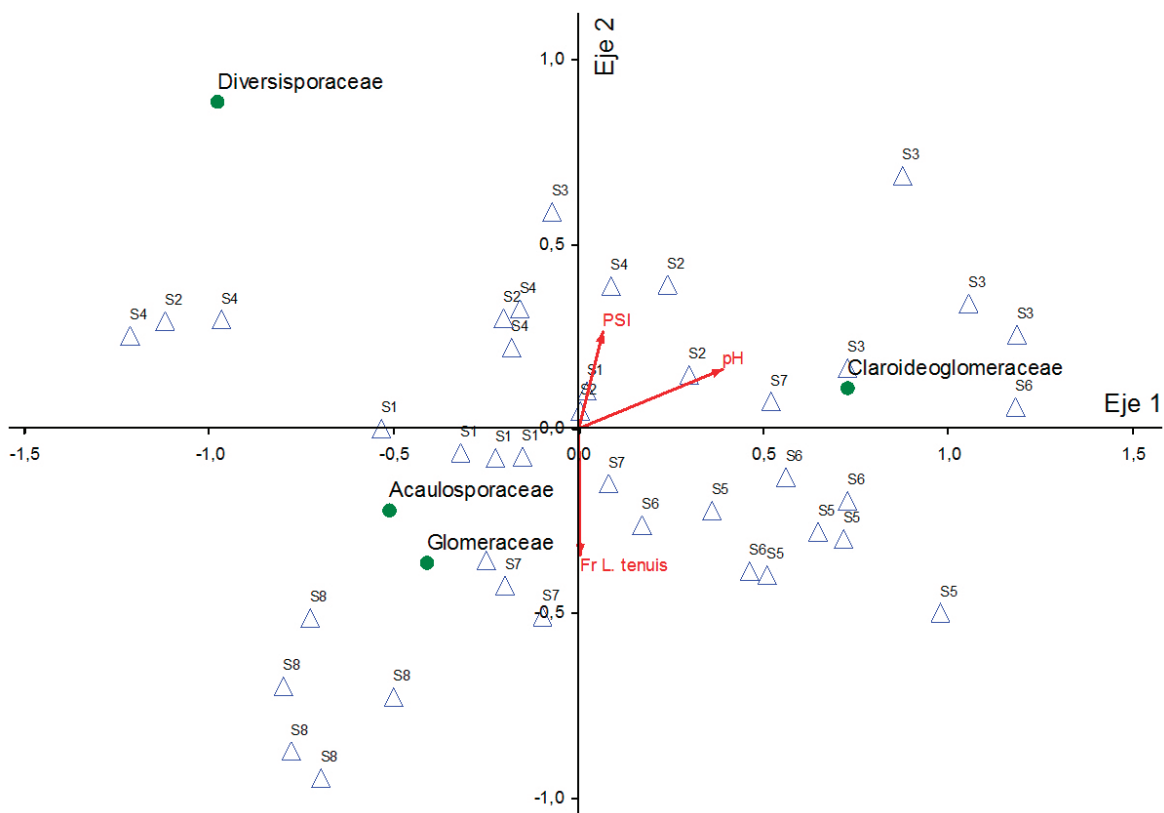
**Figura 1.** Colonización micorrícica arbuscular (Índice MC) (a) y colonización por arbusculos (índice AC) (b) en las raíces de *Lotus tenuis* en ambientes halomórficos con distinto manejo de la Cuenca del río Salado. Relación entre la colonización de hongos MA (índice MC) y las propiedades edáficas (pH (c), y PSI (d)) en ambientes que se caracterizan por la presencia de pastizales naturales donde crece habitualmente *L. tenuis* (N), y sitios con promoción de *L. tenuis* por aplicación de herbicida (P). Sitios 1 al 3, pastizal natural; Sitios 4 al 8, promoción de *L. tenuis*.



**Figura 2.** Densidad de esporas de hongos MA informada a nivel de familia en la rizósfera de *Lotus tenuis* en ambientes halomórficos con diferente manejo de la Cuenca del río Salado. Sitios 1 al 3, pastizal natural; Sitios 4 al 8, promoción de *L. tenuis*.



**Figura 3.** Diagrama correspondiente al Análisis de Correspondencia Canónica (ACC) el cual incluye la densidad de esporas de hongos MA a nivel de familia (matriz principal) junto con las variables edáficas (pH y PSI) y Fr *Lotus tenuis* (matriz secundaria) en los ocho sitios estudiados en la Cuenca del río Salado.



## **MATERIA ORGÁNICA FRACCIONADA Y RESPIRACIÓN EDÁFICA. COMPORTAMIENTO EN SUELOS CON DIFERENTES INTENSIDADES DE USO**

*Pablo Hergenrether (1), Romina Iodice (1), Emilia Martinez (2),  
Elba Wasinger (1), Rafael Introcaso (1)*

*1 Docente de Conservación del sistema. Departamento de Tecnología.  
Universidad Nacional de Luján.*

*2 Estudiante becaria CIN. Carrera Ingeniería Agronómica.  
Universidad Nacional de Luján.*

*Correo electrónico: pablohergenrether@yahoo.com.ar*

*Dirección postal: Av Constitución y Ruta 5 Luján,  
CP 6700 Provincia de Buenos Aires.*

### **RESUMEN**

Los bioindicadores son una interesante herramienta de análisis del impacto de las diferentes prácticas agropecuarias sobre el suelo. El objetivo de este trabajo es evaluar como impactan diferentes intensidades de uso sobre el suelo representadas por agricultura Convencional, Agroecológica y una situación Natural. Se utilizaron los siguientes bioindicadores: la Materia Orgánica Total (MOT) y su fracción asociada (MOA) y particulada (MOP); y la Respiración edáfica estimada en laboratorio. Se realizó un muestreo en los 3 tratamientos para cada bioindicador. La MO se evaluó en forma estratificada de 0-5 y 5-10 cm de profundidad realizando una dispersión química y la posterior determinación del carbono orgánico mediante el método de Walkey-Black. La respiración se realizó mediante la incubación del suelo utilizando una cámara de vidrio y recolectando del CO<sub>2</sub> liberado con NaOH. La MOT y MOP registraron los mayores valores en la situación Natural con 24 y 15 tn/ha de MO, no encontrando diferencias entre Agroecológico y Convencional. No se encontraron diferencias entre los distintos tipos de MO en forma subsuperficial. Evaluar la proporción de la MOP sobre MOT permitió diferenciar los tratamientos natural vs convencional. La respiración edáfica registro la misma tendencia que la MO superficial, dando el mayor valor en la situación Natural con 38 mg CO<sub>2</sub>, sin diferenciar los tratamientos convencional y agroecológico. Ambos indicadores permitieron registrar diferencias entre distintos tratamientos, en particular la evaluación del índice MOP/MOT. Los valores encontrados de MOP evidenciarían signos de recuperación del suelo en transición agroecológica.

**Palabras clave:** Materia orgánica fraccionada, respiración edáfica, intensidades de uso.

## INTRODUCCIÓN

El estudio de la dimensión biológica del suelo brinda herramientas para comprender su funcionamiento y analizar el impacto de las diferentes prácticas agropecuarias. En esta búsqueda, los indicadores biológicos tienen una sensibilidad tal que permiten detectar esos cambios en forma temprana (Galantini, 2007).

En este sentido, la materia orgánica es considerada como un importante indicador de la sustentabilidad agronómica del suelo debido al impacto que generan sobre otros indicadores químicos, físicos y biológicos (Reeves, 1997) y su análisis fraccionado en materia orgánica total, asociada y particulada brinda una mejor posibilidad de interpretación de su funcionamiento en el suelo (Galantini & Suñer, 2008).

La respiración del suelo deviene en la liberación de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) como resultado de la actividad biológica que hay en el perfil, realizada por medio de los organismos del suelo, raíces vivas y macroorganismos como lombrices, nematodos e insectos (Parkin et al; 1996).

El objetivo de esta investigación es analizar la respuesta de las diferentes fracciones de la materia orgánica del suelo y la respiración edáfica en suelos bajo diferentes intensidades de uso agropecuarios con el fin de detectar aquellas prácticas agrícolas que favorecen su conservación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las determinaciones se realizaron en la cuenca media del río Luján en 2 establecimientos productivos linderos (34°37'48,68" S, 59°07'29,06") con suelos Argiudoles típicos. Se identificaron 3 intensidades de uso definiendo 3 tratamientos.

**Agroecológico:** Pradera de trébol rojo (*Trifolium pratense*) en transición agroecológica de 2 años.

**Convencional:** Cultivo de trigo (*triticum aestivum*) en siembra directa con aplicación de agroquímicos en un planteo de agricultura continua de 15 años.

**Natural:** Pradera naturalizada de festuca (*festuca arundinacea*) de 30 años.

Se realizó un muestreo de Respiración Edáfica en diciembre de 2016 y un muestreo de MO en marzo de 2017.

**Materia Orgánica Fraccionada:** Se determinó Materia Orgánica Total (**MOT**), Materia Orgánica Particulada (**MOP**) y Materia Orgánica Asociada (**MOA**) para cada tratamiento.

Se extrajeron mediante barreno 5 muestras compuestas por tratamiento en forma estratificada: de 0 a 5 cm y 5 a 10 cm de profundidad. Se determinó Densidad Aparente por el método del cilindro mediante 5 muestras por tratamiento (Blake & Hartge, 1986).

Se utilizó el método de Cambardella & Elliot (1993) para la separación de MOP y MOA mediante la agitación del suelo con hexametáfosfato de sodio, con posterior separación por tamiz de 53  $\mu\text{m}$ . MOA corresponde a la fracción menor a 53  $\mu\text{m}$  de diámetro, fina y asociada a la fracción mineral. La MOP o joven es la superior a 53  $\mu\text{m}$  de diámetro. Se cuantificó la MO por el método de Walkley & Black (Jackson, 1964).

Se calculó el cociente MOP/MOT (Galantini et al., 2002; Loveland & Webb, 2003) para ambas profundidades.

Para la Respiración Edáfica se usó el método de Anderson (1982) modificado mediante 5 muestras compuestas por 10 submuestras cada una por tratamiento, con barreno hasta 10 cm de profundidad. En laboratorio, cada muestra se repitió 3 veces.

El suelo fue colocado en frascos de vidrio cerrados y se incubaron por 7 días a 21°C. Dentro se puso un recipiente de menor tamaño con NaOH que absorbió el  $\text{CO}_2$  liberado. Para su cuantificación se precipitó el carbonato con cloruro de bario, y luego se tituló con HCl obteniendo los mg de  $\text{CO}_2$  generados por los microorganismos (mg  $\text{CO}_2$ /unidad de tiempo).

El análisis estadístico se realizó con el programa Infostat versión 2012 (Di Rienzo, et al., 2012). Se realizó una estadística descriptiva y prueba de normalidad, análisis de varianza y test de Tukey para MO y la prueba de Kruskal-Wallis para Respiración.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Los valores obtenidos de densidad aparente y humedad gravimétrica se detallan en la Tabla 1.

### **Materia Orgánica Fraccionada**

En superficie, se observa un mayor contenido de MOT en el tratamiento Natural, diferenciándose del Convencional y Agroecológico. Por su parte, la MOA no diferenció entre tratamientos. MOP presentó resultados similares a MOT, diferenciando el tratamiento Natural de los intervenidos productivamente. Ninguno de los parámetros mostró diferencias entre tratamientos con intervención antrópica (Gráfico 1).

A nivel subsuperficial (Gráfico 2) las distintas fracciones de la MO no presentaron diferencias significativas entre tratamientos.



A nivel superficial el mayor valor del índice MOP/MOT corresponde al tratamiento Natural diferenciándose estadísticamente del tratamiento Convencional que obtuvo el menor índice. El tratamiento Agroecológico no se diferenció de los restantes. De 5 a 10 cm el índice no encontró diferencias significativas entre tratamientos (Gráfico 3).

#### Respiración Edáfica en laboratorio

El mayor valor de Respiración Edáfica corresponde al tratamiento Natural diferenciándose del Convencional y Agroecológica que no presentaron diferencias entre sí (Gráfico 4).

Este tipo de análisis fraccionado de la MO permite identificar la fracción más estable (MOA) y la más lábil (MOP) de la MO, y observar sus variaciones de acuerdo a las diferentes prácticas agropecuarias utilizadas.

Los resultados encontrados muestran diferencias estadísticas en el estrato superficial, no así en el subsuperficial. Esto puede explicarse a partir de que en los primeros centímetros de suelo existe una elevada actividad biológica impulsada por el ingreso de material vegetal muerto, por aporte de raíces e intercambio de aire y agua.

La MOT diferenció el tratamiento Natural de los intervenidos antrópicamente. La MOP presentó similar respuesta, en tanto la fracción más estable, MOA, no mostró diferencias.

El tratamiento Natural está representado por un pastizal de festuca naturalizado de aproximadamente 30 años sin alteración. La no perturbación del suelo más los aportes continuos de la materia seca que se reincorporan al suelo y la actividad radicular explicarían los mayores valor de MOT y MOP (Duval, et al., 2014).

La situación Agroecológica se inició hace dos años con una asociación de cultivo de trigo con trébol rojo. Anteriormente se realizaba agricultura continua durante 10 años basada en soja y pocas campañas de maíz. La situación Convencional tiene un planteo de agricultura continua de aproximadamente 15 años basado en una rotación Maíz-Trigo-Soja.

El índice MOP/MOT representa el grado de transformación de las fracciones orgánicas, puesto que relaciona la proporción de MOP en el total, y no la cantidad absoluta, la que puede estar influida por la densidad aparente del suelo en cada tratamiento (Ferrerías et al., 2001). Este índice resultó más sensible para posicionar a la situación Agroecológica ya que no la diferenció estadísticamente con la situación Natural, por lo que compartiría ciertas características.

Analizando los kg de MO/ha de MOT y MOP, se observa que los mayores valores corresponden al estrato superficial de la situación Natural, diferenciándose de los otros tratamientos. Esto expresaría las características de un suelo con baja

perturbación antrópica y en activa síntesis de MOP favorecida por la cobertura herbácea presente.

Por su parte, al comparar MOT y MOP en los distintos estratos estudiados para cada tratamiento, se observa una disminución de los kg de MO/ha del estrato subsuperficial respecto del superficial de un 34% para MOT y un 48% para MOP. Esta misma comparación en la situación Agroecológica, muestra una reducción sólo del 12% de la MOT, en cambio la MOP se reduce en un 48%. Esto muestra que la MOT no presenta una importante variación entre estratos; situación diferente a MOP que tiene una mayor concentración en superficie. Esto evidenciaría una mayor actividad de síntesis de MO incipiente, que puede explicarse por la transición agroecológica basada en la incorporación de una leguminosa como el trébol rojo asociado con trigo, favoreciendo la actividad biológica, la incorporación de N al suelo y de biomasa vegetal.

La Respiración edáfica está vinculada a la materia orgánica del suelo y muestra un comportamiento similar en tanto diferencia la situación Natural de los intervenidos, evidenciando que una mayor dotación de materia orgánica genera mayor actividad biológica y por lo tanto respiración edáfica (Chirimos E, 2013, Reeves, 1997).

## **CONCLUSIONES**

Las diferencias en las distintas fracciones de la MO fueron encontradas de 0 a 5 cm de profundidad correspondientes al estrato de mayor actividad biológica y mayor deposición de residuos.

La MOT tuvo un comportamiento similar a la MOP diferenciando el tratamiento Natural de los intervenidos. El índice MOP/MOT resultó más sensible para diferenciar los diferentes tratamientos.

Se observó una respuesta similar de la respiración edáfica con la MOP y MOT.

Los valores encontrados de MOP evidenciarían signos de recuperación del suelo en transición agroecológica.

## **INSTITUCIÓN FINANCIADORA**

Investigación enmarcada en proyecto de investigación financiado por el Departamento de Tecnología de la Universidad Nacional de Luján (068/13).

## **BIBLIOGRAFÍA**

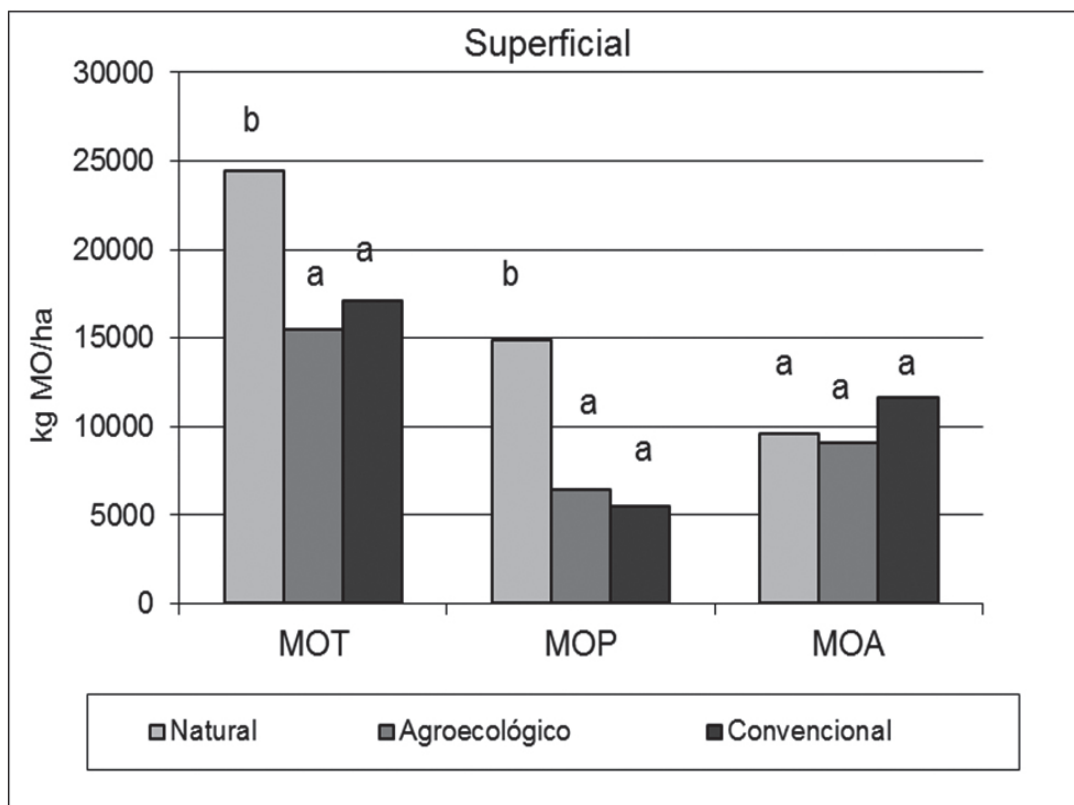
Anderson, J. 1982. Soil respiration. In *Methods of Soils Analysis, Part 2. Agronomy 9* (eds. Page, A. L., Miller, R. H. and Keeney, D. R.), American Society of Agronomy, Madison, WI, pp. 831-871.

- Blake, G. R. y Hartage, K. H. 1986. Bulk density. En: A. Klute (ed.) Methods of Soil Analysis. Part I. Agron. Monog. 9. Am. Soc. Agron. Madison, Wisconsin. EE. UU. P. 363- 375.
- Cambardella, C. A. y Elliot, E. T. 1993. Methods for physical separation and characterization of soil organic matter fractions. *Geoderma* 56: 449-457.
- Chirimoss E., Campos Y., Mogallon P. 2013. Relación entre materia orgánica y las propiedades biológicas de un suelo de la llanura de coro, bajo los efectos de enmiendas orgánicas. INTAG. España.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Duval, M.E., De Sa Pereira, E., Iglesias, J. y Galantini, J.A. 2014. Efecto de uso y manejo del suelo sobre las fracciones de carbono orgánico en un argiudol. CONICET, CERZOS-UNS; INTA Coronel Suárez; Departamento de Agronomía, UNS; Comisión de Investigaciones Científicas (CIC).
- Ferreras, P., Gaona, P., Palomares, F. y Delibes, M. 2001. Restore habitat or reduce mortality? Implications from a population viability analysis of the Iberian lynx. *Animal Conservation*. 4: 265-274.
- Galantini, J. A., Rosell, R. A., Brunetti, G. y Senesi, N. 2002. Dinámica y calidad de las fracciones orgánicas de un Haplustol durante la rotación trigo-leguminosas. *Ciencia del Suelo Volumen*. 20 (1) 17-26
- Galantini, J.A, Landriscini M., Iglesias J., Minoldo G., Fernandez R. 2007. Las fracciones Orgánicas como herramienta de diagnostico. Asociación Argentina de Productores en Siembra Directa.
- Galantini, J. A. y Suñer, L. 2008. Las fracciones orgánicas del suelo: Análisis en los suelos de Argentina. *Agriscientia*. Vol XXV (1):41-45.
- Jackson, M.L. 1964. Análisis químico de suelos. 2da. Edición. Editorial Omega.
- Loveland, P. & Webb, J. 2003. Is ther a critical level of organic mater in the agricultural soils of températe regions: a review. *Soil y Tillage Research* 70:1-108.
- Parkin, T. B., J. W. Doran, and E. Franco-Vizcaino. 1996. Field and laboratory tests of soil respiration. In *Methods for Assessing Soil Quality*. J.W. Doran, and A.J. Jones (eds.). SSSA Special Publ. 49, pp. 231-245.
- Reeves, D.W., 1997. The role of soil organic matter in maintaining soil quality in continuous cropping systems. *Soil & Tillage Research* 43, 131-167.

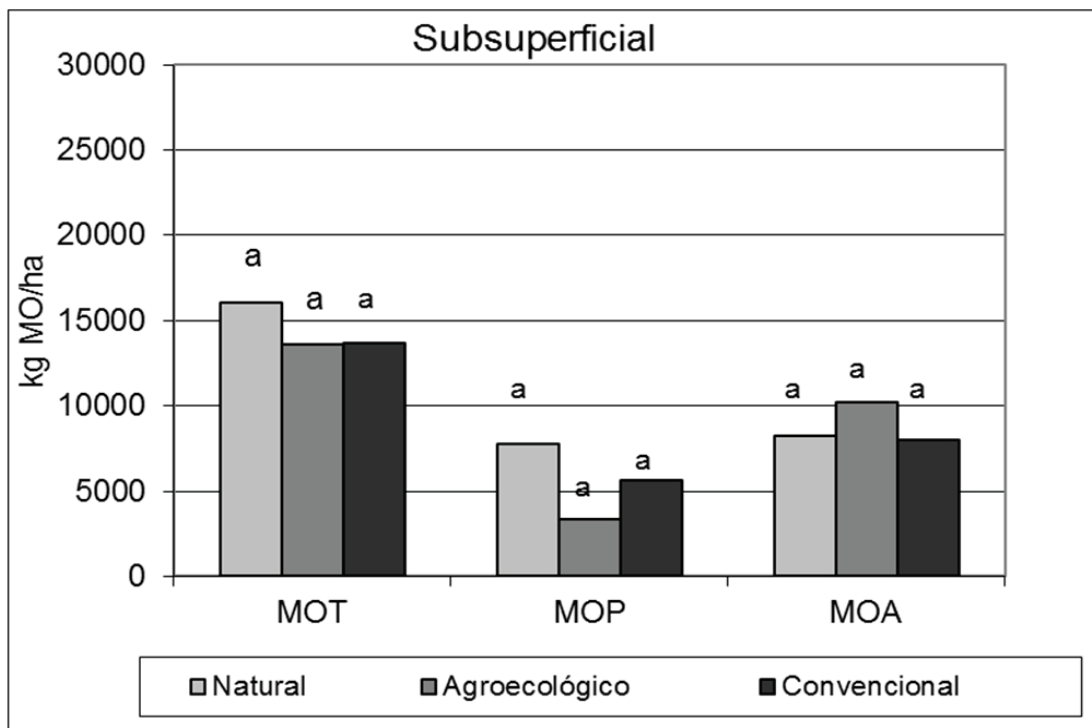
**Tabla 1.** Valores de Densidad Aparente superficial (Dap) y Humedad Gravimétrica de los 3 tratamientos.

Tratamiento	Dap (gr/cm <sup>3</sup> )	Hg (%)
Agroecológico	1,31	14,99
Convencional	1,25	15,24
Natural	1,26	16,33

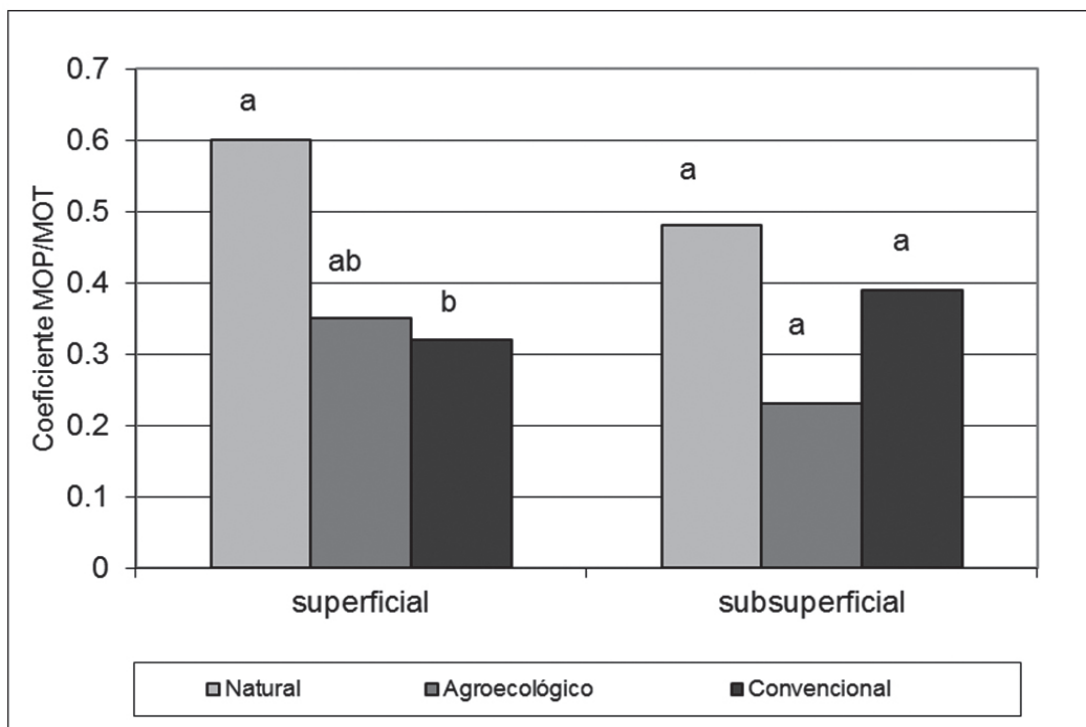
**Gráfico 1.** kg MO/ha a nivel superficial (0 a 5 cm) correspondiente a la MOT, MOA y MOP para los diferentes tratamientos expresados en escala de grises. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



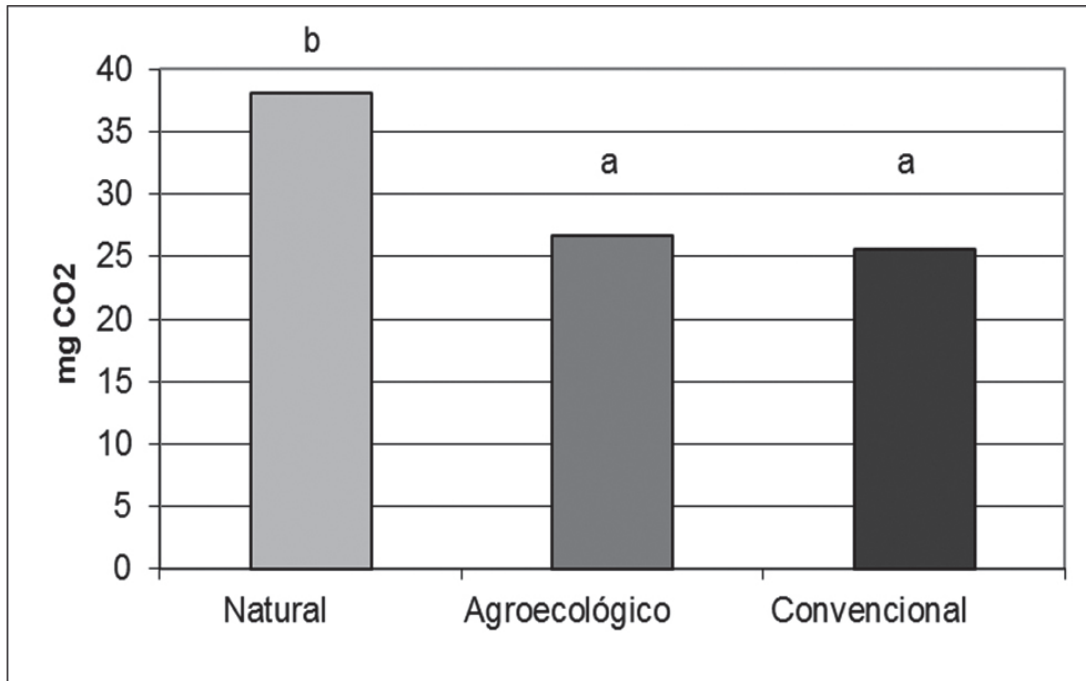
**Gráfico 2.** kg MO/ha a nivel subsuperficial (5 a 10 cm) correspondiente a la MOT, MOA y MOP para los diferentes tratamientos expresados en escala de grises. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



**Gráfico 3.** Coeficiente MOP/MOT para los diferentes tratamientos expresados en escala de grises. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



**Gráfico 4.** Respiración edáfica expresada en mg de CO<sub>2</sub> para cada tratamiento. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



## **EFFECTO COMBINADO DE GLIFOSATO Y SULFOXAFLORES SOBRE *OCTOLASION CYANEUM* (ANNELIDA, OLIGOCHAETA: LUMBRICIDAE)**

Iacovelli, J. (1); Salvio, C. (1); Manetti, P. L. (1); Clemente, N.L. (1); Faberi, A.J. (1)  
1 Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata – Unidad Integrada  
Balcarce. Ruta 226 Km 73,5, Balcarce (7620). 02266 43-0456, interno 702.  
salvio.carla@inta.gob.ar

### **RESUMEN**

Los oligoquetos terrestres participan en los servicios ecosistémicos del suelo y son considerados indicadores de la salud del suelo. Por lo tanto, el objetivo fue evaluar los efectos letales y subletales de las aplicaciones individuales y en mezclas del herbicida Glifosato y el insecticida Sulfoxaflor sobre *Octolasion cyaneum* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae). La unidad experimental (UE) consistió en un recipiente cilíndrico de PVC (12 cm de diámetro y 40 cm de altura) con suelo hasta una altura de 32 cm. En cada UE se introdujeron 10 individuos adultos clitelados de *O. cyaneum* (300-600 mg) y se agregó 4,7 g de rastrojo de soja sobre la superficie. Se utilizaron dos plaguicidas: Glifosato (48 % de ingrediente activo (i.a.)) y Sulfoxaflor (24 % de i.a.). Los tratamientos fueron: 0, 712 (dosis recomendada de aplicación (DRA)), 3560 y 7120 g de Glifosato ha<sup>-1</sup>; 0, 24 (DRA), 120 y 240 g de Sulfoxaflor ha<sup>-1</sup> y las mezclas de cada una de las dosis de los i.a.. Las aplicaciones se realizaron homogéneamente sobre el suelo mediante un pulverizador manual. El diseño fue completamente aleatorizado con 6 repeticiones y los recipientes se colocaron en una cámara a 20±2°C y 14L:10O. A los 28 días después de la aplicación (DDA), el número de organismos vivos no difirió entre los distintos tratamientos químicos ( $p = 0,254$ ). Solamente se encontraron 11 individuos de *O. cyaneum* muertos de un total de 540 organismos expuestos a los diferentes tratamientos. Respecto de los efectos subletales, el 63 % de los organismos vivos de *O. cyaneum* presentaron cambios morfológicos entre los tratamientos, siendo el daño predominante cambio de coloración en la totalidad del cuerpo respecto del individuo sano. Sin embargo, el porcentaje de daño sobre *O. cyaneum* no difirió entre los tratamientos químicos ( $p = 0,821$ ). Considerando el cambio de peso de *O. cyaneum* a los 28 DDA con respecto al testigo tampoco varió entre los distintos tratamientos ( $p = 0,147$ ). No se observaron diferencias entre las proporciones de *O. cyaneum* en los rangos de profundidad comprendidos entre 0 - 10 cm ( $p = 0,308$ ), 10 - 20 cm ( $p = 0,461$ ) y mayor de 20 cm ( $p = 0,539$ ) entre los distintos tratamientos. Se concluye que Glifosato y Sulfoxaflor, aplicados solos o en mezclas, no causan efectos letales ni subletales sobre *O. cyaneum*.

**Palabras clave:** bioensayo ecotoxicológico, plaguicidas, oligoqueto terrestre

## INTRODUCCIÓN

*Octolasion cyaneum* (Annelida, Oligochaeta: Lumbricidae) es un organismo frecuente en los suelos del Sudeste Bonaerense en sistemas de cultivos bajo siembra directa (SD) y por lo tanto, se lo considera como organismo de prueba en los bioensayos ecotoxicológicos (Rafael et al., 2015; Salvio et al., 2015 a y b). La aplicación de plaguicidas en los sistemas de cultivos como estrategia de control de plagas, puede ocasionar efectos perjudiciales en los organismos no blanco (i.e. organismos que no son el objeto de control) presentes en el suelo. Además, se suma una problemática adicional de los efectos combinados de la aplicación de los xenobióticos sobre las poblaciones de organismos que viven en el suelo, como son las lombrices (Santos et al., 2011).

Ahora bien, de acuerdo al tipo de ingrediente activo (i.a.), la dosis y la forma de aplicación, los plaguicidas pueden afectar directa o indirectamente a los oligoquetos terrestres. Es decir, a través del contacto dermal cuando los tóxicos atraviesan el tegumento y se transportan por el cuerpo, o por ingestión cuando se alimentan de los residuos vegetales contaminados (Sanchez-Hernandez, 2006; Andréa, 2010).

En Argentina, entre los plaguicidas más utilizados se encuentra el herbicida Glifosato correspondiendo a un 65 % del total (CASAFE, 2013). En el contexto actual, con aparición de resistencia de algunas plagas a los insecticidas, el mercado de plaguicidas pretende diversificar los ingredientes activos introduciendo nuevas moléculas como por ejemplo Sulfoxaflor (Whalon *et al.*, 2008). Por aquellos motivos, se consideraron el empleo de ambos plaguicidas de manera individual y conjunta para detectar posibles efectos deletéreos sobre los oligoquetos terrestres. Por ello, en el presente trabajo el objetivo fue valorar los efectos letales y subletales de las aplicaciones individuales y en mezclas de Glifosato y de Sulfoxaflor sobre *O. cyaneum*.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares de *O. cyaneum* adultos (con clitelo) se extrajeron manualmente en un lote bajo SD ubicado en la Estación Experimental Agropecuaria Balcarce del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Argentina (37° 45´ S; 58° 18´ O, 120 m s.n.m.). Estos ejemplares se colocaron en recipientes de plástico de 36,5 cm x 24,5 cm con 10 cm de suelo húmedo y se llevaron a una cámara de cría a 20 ± 2°C y un fotoperiodo 14L: 10O para su aclimatación durante dos semanas. Para el bioensayo se seleccionaron individuos con un rango de peso de 300 - 600 mg los cuales se pesaron con una balanza analítica electrónica (precisión = 0,001 g).



La unidad experimental (UE) consistió en un recipiente cilíndrico de PVC de 12 cm de diámetro y 40 cm de altura. En cada UE se colocó suelo hasta una altura de 32 cm y se llevó a una condición hídrica de capacidad de campo. La parte inferior del recipiente se cubrió con una tela de voyle sostenida con un precinto plástico para permitir el drenaje de agua y evitar el escape de las lombrices. El suelo que se utilizó fue recolectado de una pastura con más de 30 años sin aplicación de plaguicidas (6 % de materia orgánica; 43,4 % de arcilla; 30 % de limo; 26,6 % de arena; pH= 6,2 y conductividad 0,22 mmhos cm<sup>-1</sup>).

En cada UE se colocaron en la superficie del suelo 10 individuos de *O. cyaneum* (300 - 600 mg) y se agregaron sobre la superficie 4,7 g de residuos vegetales de soja. Se utilizaron dos plaguicidas: Glifosato (48 % de i.a.) y Sulfoxaflor (24 % de i.a.). Los tratamientos fueron: 0, 712 (dosis recomendada de aplicación (DRA)), 3560 y 7120 g de Glifosato ha<sup>-1</sup>; 0, 24 (DRA), 120 y 240 g de Sulfoxaflor ha<sup>-1</sup> y las mezclas de cada una de las dosis de los i.a.. Las aplicaciones se realizaron homogéneamente sobre el suelo mediante un pulverizador manual.

El diseño fue completamente aleatorizado con 6 repeticiones y los recipientes se colocaron en una cámara a 20±2 °C y 14L: 10O y el bioensayo tuvo una duración de 28 días después de la aplicación (DDA). A los 28 DDA se evaluó el número de individuos vivos y muertos, el peso fresco (mg) y los cambios morfológicos sobre *O. cyaneum*. Además, para medir la distribución de las lombrices se contabilizaron los individuos hallados en tres estratos de profundidad: 0 - 10 cm, 10 - 20 cm y mayor de 20 cm. Se procedió a extraer la columna de suelo contenida dentro del cilindro de plástico mediante el uso de un émbolo para separar cuidadosamente cada porción de la UE.

Los cambios morfológicos observados sobre *O. cyaneum* se clasificaron en las siguientes categorías: 1) sin daño; 2) daño leve (cambio de color en la totalidad del cuerpo del organismo); 3) daño moderado (decoloración de la parte posterior del cuerpo del organismo); 4) daño severo (desprendimiento de la parte posterior del cuerpo) y 5) daño total (muerte del organismo). Se determinó el porcentaje de daño ponderado promedio (PD) en función de las dosis de acuerdo a la siguiente fórmula:  $PD (\%) = [\sum(n*v)/CM*N]*100$ , siendo n el número de organismos por cada categoría, v el valor numérico de cada categoría, CM el valor de la categoría mayor y N el número total de organismos por tratamiento (Salvio *et al.*, 2015b).

Se analizó el cambio de peso (%) de los organismos de *O. cyaneum* considerando el peso final de los individuos en los diferentes tratamientos químicos con respecto al peso en el tratamiento testigo a los 28 DDA. La distribución de las lombrices se evaluó como la proporción de los individuos en cada estrato de suelo con respecto al total de los organismos en cada UE (10). Las variables evaluadas se analizaron mediante análisis de la varianza, previa validación del

supuesto de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene ( $\alpha = 0,05$ ). Los análisis se realizaron con el programa R 3.2.3. (R Development Core Team, 2016).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A los 28 DDA, el número de organismos vivos de *O. cyaneum* no difirió entre los distintos tratamientos ( $p = 0,254$ ). Solamente se encontraron 11 individuos muertos de un total de 540 organismos expuestos a los diferentes tratamientos. De acuerdo con Salvio *et al.* (2015a), Glifosato no ocasiona mortalidad sobre *O. cyaneum*. Zhou *et al.* (2013) no encuentran mortalidad en *Eisenia fetida* expuesta a  $1,5 \times 10^4$  y  $1,2 \times 10^5$  g de i.a.  $ha^{-1}$  de Glifosato. Del mismo modo, Buch *et al.* (2013) tampoco observan mortalidad sobre *Pontoscolex corethrurus* y *E. fetida* con  $2,82 \times 10^4$  g de i.a.  $ha^{-1}$  del herbicida. Por su parte,  $3 \times 10^4$  g de i.a.  $ha^{-1}$  de Glifosato no causa un efecto letal sobre *E. fetida* y *Aporrectodea trapezoides* (Maitre *et al.*, 2012). Resultados similares se observaron en el presente trabajo, si bien las dosis utilizadas fueron menores. Por su parte, con Sulfoxaflor no se encuentra información de los efectos ecotoxicológicos sobre los organismos invertebrados. Sin embargo, considerando a otros neurotóxicos como Imidacloprid, Dittbrenner *et al.* (2010) no detectaron mortalidad sobre *Lumbricus terrestris* y *A. caliginosa* con DRA. Kaspar (2014), Rafael *et al.* (2015) y Salvio *et al.* (2015b) obtienen que tanto la DRA como las dosis superiores de Clorpirifos no causan efecto letal sobre *O. cyaneum*. En el presente estudio, la combinación de Sulfoxaflor y Glifosato no afectó el número de individuos vivos. En efecto, Amand de Mendieta *et al.* (2015) y Santos *et al.* (2011) encontraron resultados similares sobre *O. cyaneum* expuesta a Glifosato y Clorpirifos y sobre *E. andrei* con Glifosato y Dimetoato, respectivamente.

Respecto de los efectos subletales, el 63 % de los organismos vivos de *O. cyaneum* presentaron cambios morfológicos entre los distintos tratamientos a los 28 DDA. El daño predominante sobre *O. cyaneum* fue cambio de coloración en la totalidad del cuerpo (Figura 1a) respecto del individuo sano (Figura 1e). También, se detectaron síntomas como constricciones, decoloración de la parte posterior del cuerpo y pérdida de dicha parte (Figura 1b, c y d).

El porcentaje de daño sobre *O. cyaneum* no varió entre los tratamientos a los 28 DDA ( $p = 0,821$ ), detectándose valores comprendidos entre 1,20 a 2,60 %. Sin embargo, Amand de Mendieta *et al.* (2015) encuentran un 7 % de daño sobre *O. cyaneum* con  $7120$  g de i.a.  $ha^{-1}$  de Glifosato y Rafael (2014) registra un 18 y 15% de daño con  $1440$  y  $5760$  g de i.a.  $ha^{-1}$  de Glifosato. En comparación con este estudio, Glifosato a la DRA y a dosis superiores presentó porcentajes de daño menores sobre los oligoquetos. Con Sulfoxaflor el efecto más frecuente fue el cambio de coloración en la totalidad del cuerpo del organismo.

El peso inicial (PI) de los organismos de *O. cyaneum* no difirió entre los diferentes tratamientos ( $p = 0,503$ ) y sus pesos variaron entre 394 y 439 mg. A los 28 DDA, el cambio de peso de *O. cyaneum* con respecto al testigo no varió entre los distintos tratamientos ( $p = 0,147$ ) (Figura 2).

Considerando la misma especie *O. cyaneum*, Rafael (2014) y Salvio *et al.* (2015a) no observan cambios en su biomasa con dosis de Glifosato similares al presente trabajo. Considerando otro insecticida como Clorpirifos y coincidiendo con este estudio, Rafael (2014) no observa diferencias en la biomasa de *O. cyaneum* con 720 g de i.a. ha<sup>-1</sup> y 5760 g de i.a. ha<sup>-1</sup>. Como se observa en la Figura 2, las combinaciones de Glifosato y Sulfoxaflor no ocasionaron cambios en la biomasa de *O. cyaneum* en ninguna de las dosis utilizadas.

Las proporciones de *O. cyaneum* en los rangos de profundidad comprendidos entre 0 - 10 cm ( $p = 0,308$ ), 10 - 20 cm ( $p = 0,461$ ) y mayor de 20 cm ( $p = 0,539$ ) no difirieron entre los diferentes tratamientos (Figura 3). Resultados similares fueron encontrados por Amand de Mendieta *et al.* (2015) y Santos *et al.* (2011) quienes detectaron que Glifosato no causa efecto en la distribución en profundidad de *O. cyaneum* y *E. fetida*, respectivamente. En el testigo, más del 96 % de los organismos se encontraron en los rangos de 10 - 20 y > 20 cm de profundidad de la columna de suelo de la UE (Figura 3). Dicho resultado debe considerarse como una distribución normal de esta especie endogeica y las posibles desviaciones de este patrón de comportamiento deben interpretarse como una respuesta a las condiciones desfavorables. Como se observa en la Figura 3, la aplicación de Sulfoxaflor no modificó el comportamiento de las lombrices en la columna de suelo, ya sea aplicado solo o en combinación con el herbicida. Sin embargo, Amand de Mendieta *et al.* (2015) con Clorpirifos a una dosis cinco y diez veces superior a la DRA observa ausencia de los organismos de *O. cyaneum* en el rango de profundidad comprendido entre 0 - 10 cm. A su vez, Santos *et al.* (2011) observan un comportamiento similar sobre *E. andrei* con la aplicación de Dimetoato.

## CONCLUSIONES

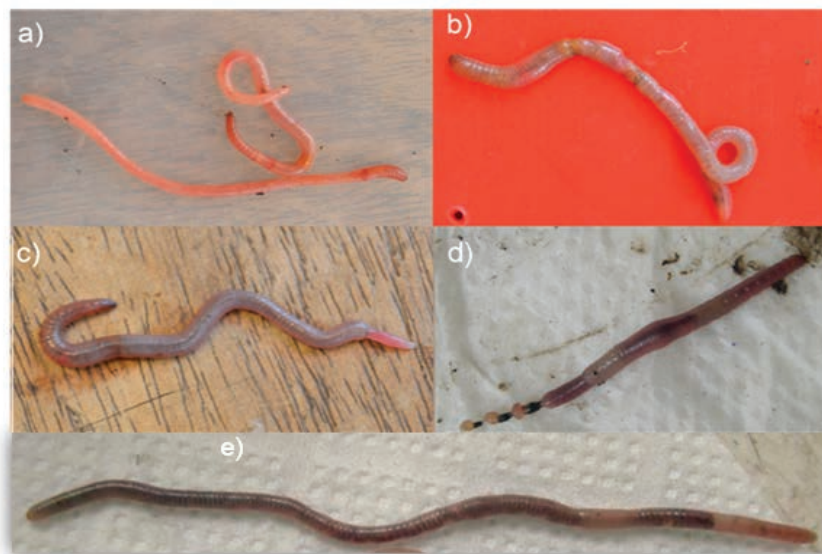
En el presente estudio se concluye que con las dosis utilizadas de manera individual como en mezclas binarias de Sulfoxaflor y Glifosato no causan efectos sobre la supervivencia, los cambios en el peso corporal como morfológicos y en el comportamiento sobre *O. cyaneum*. Es decir, los plaguicidas a las dosis empleadas no producen efectos letales ni subletales sobre esta especie.

## BIBLIOGRAFÍA

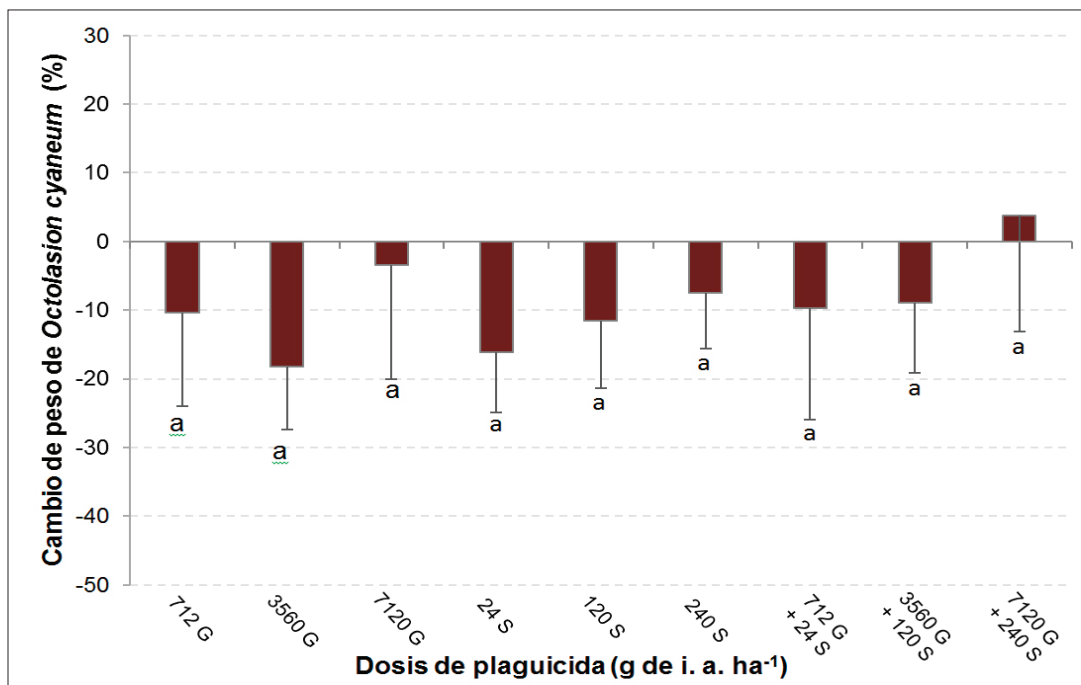
- Amand de Mendieta, J.; Salvio, C.; López, A.N.; Manetti, P. 2015. Microcosmo: efectos de Glifosato y Clorpirifos sobre organismos no blanco. SETAC Latin America 11th Biennial Meeting. Buenos Aires, 7-10 Septiembre 2015. 141p.
- Andrea, M.M. 2010. O uso de minhocas como bioindicadoras de contaminação de solos. Acta Zool. Mex. 26 (2): 95 -107.
- Buch, A.C.; Brown, G.G.; Niva, C.C.; Sautter, K.D.; Sousa, J.P. 2013. Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). Appl. Soil Ecol. 69: 32-38.
- Casafe, 2013. Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes. [en línea] <<http://www.casafe.org/pdf/estadisticas/Informe%20Mercado%20Fitosanitario%202012.pdf>>[consulta: 10 de febrero de 2017].
- Dittbrenner, N.; Tribskorn, R.; Moser, I.; Capowiez, Y. 2010. Physiological and behavioural effects of imidacloprid on two ecologically relevant earthworm species (*Lumbricus terrestris* and *Aporrectodea caliginosa*). Ecotoxicology 19(8): 1567-1573.
- Kaspar, J. 2014. Susceptibilidad de *Octolasion cyaneum* (Saveny, 1826) (Annelida, Oligochaeta, Lumbricidae) a la exposición de los insecticidas más utilizados en agricultura. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. 44 p.
- Maitre, M.I.; Rodríguez, A.R.; Masin, C.E.; Ricardo, T. 2012. Evaluation of earthworms present on natural and agricultural-livestock soils of the center northern Litoral santafesino, República Argentina. In: Soundararajan, R. P. Pesticides Advances in Chemical and Botanical Pesticides. Tech Janeza Trdine, Rijeka, Croatia. pp 13 -38.
- R Development Core Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Version R 3.2.3.
- Rafael, S.E. 2014. Comportamiento evasivo de *Octolasion cyaneum* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae) y efectos letales y subletales de su exposición a la acción de plaguicidas. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. Balcarce, Buenos Aires. 61 p.
- Rafael, S.E.; Salvio, C.; Manetti, P.L.; Clemente, N.L.; López, A.N. 2015. Susceptibilidad de *Octolasion cyaneum* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae) expuesta a clorpirifos. Ci. Suelo 33(2): 173-181.

- Salvio, C.; Menone, M.; Rafael, S.; Iturburu, F.G.; Manetti, P.L. 2015a. Survival, reproduction, avoidance behavior and oxidative stress biomarkers in the earthworm *Octolasion cyaneum* exposed to Glyphosate. *B. Environ. Contam. Tox.* 96(3): 314-319.
- Salvio, C.; Manetti, P.L.; Clemente, N.L.; Menone, M.; López, A.N. 2015b. Toxicidad subletal de clorpirifos sobre *Octolasion cyaneum* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae). *Agriscientia* 32 (2): 131-138.
- Santos, M.J.G.; Morgado, R.; Ferreira, N.G.C.; Soares, A.M.V.M.; Loureiro, S. 2011. Evaluation of the joint effect of glyphosate and dimethoate using a small-scale terrestrial ecosystem. *Ecotox. Environ. Safe.* 74: 1994-2001.
- Sanchez-Hernandez, J.C. 2006. Earthworm Biomarkers in Ecological Risk Assessment. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 188: 85-126.
- Whalon, M.E.; Mota-Sanchez, D.; Hollingworth, R.M. 2008. Analysis of global pesticide resistance in arthropods. In: Whalon, M.E.; Mota-Sanchez, D.; Hollingworth, R.M. (eds.). *Global Pesticide Resistance in Arthropods*, CAB International. Wallingford, UK. pp. 5-31.
- Zhou, C.F.; Wang, Y.J.; Li, C.C.; Sun, R.J.; Yu, Y.C.; Zhou, D.M. 2013. Subacute toxicity of copper and glyphosate and their interaction to earthworm (*Eisenia fetida*). *Environ. Pollut.* 180: 71-77.

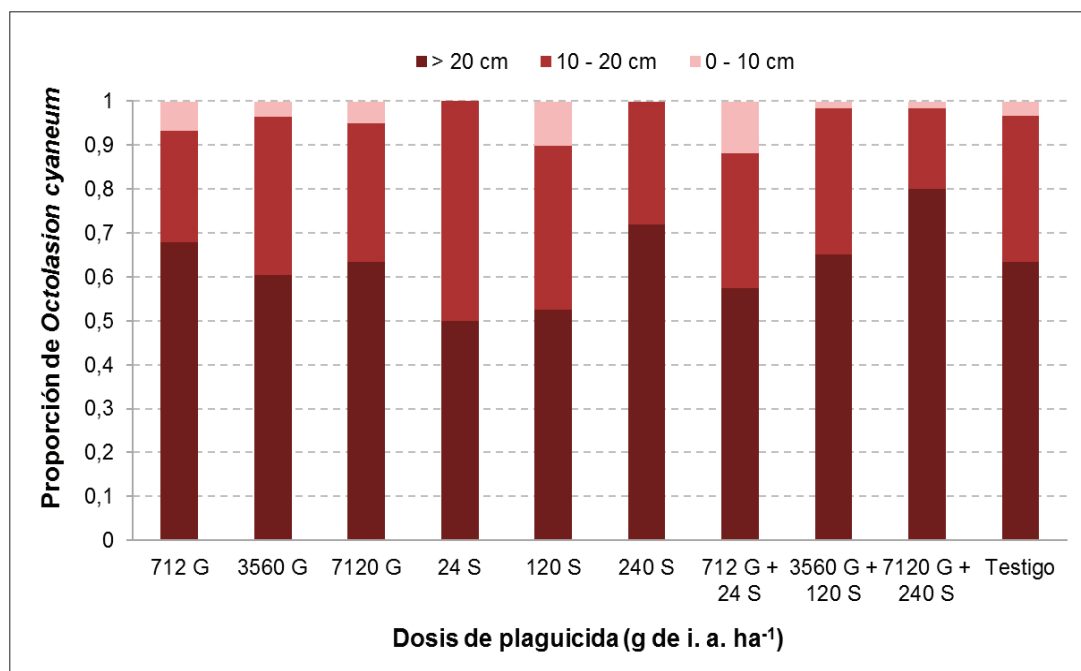
**Figura 1.** Daños en *Octolasion cyaneum* ocasionados por la exposición a los distintos tratamientos: **a)** decoloración total del cuerpo, **b)** lesiones en el tegumento, **c)** decoloración de la parte posterior del cuerpo, **d)** pérdida de la parte posterior del cuerpo y **e)** *O. cyaneum* sin daño.



**Figura 2.** Cambio de peso de *Octolasion cyaneum* (%) con respecto al testigo a distintas dosis de los plaguicidas (g de i. a. ha<sup>-1</sup>) a los 28 días después de la aplicación. Letras iguales indican que no hay diferencias significativas entre los tratamientos ( $\alpha=0,05$ ). Las barras de error indican los desvíos estándar. G: Glifosato y S: Sulfoxaflor.



**Figura 3.** Proporción de *Octolasion cyaneum* (promedio) en los tres niveles de profundidad: 0 – 10 cm, 10 – 20 cm y mayor a 20 cm en los diferentes tratamientos (g de i. a. ha<sup>-1</sup>). G: Glifosato y S: Sulfoxaflor.



## ÁCAROS EDÁFICOS EN ESTEPA GRAMINOSA Y ARBUSTIVA DE CHUBUT. ESTUDIO PRELIMINAR

*Manzo Rosa M. (1,2), Rizzuto Susana (1), Valenzuela M. Fernanda (1), Martinez Pablo A. (3)*  
*1 Laboratorio de Investigaciones en Evolución y Biodiversidad (LIEB). Facultad de Ciencias Naturales. Universidad Nacional de la Patagonia. Sede Esquel, Chubut.*  
*2 CONICET. 3 Universidad Nacional de Mar del Plata, Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Mar del Plata, Argentina.*  
*rosamanzo19@gmail.com*

### RESUMEN

Los suelos de la estepa de Chubut presentan texturas arenosas y están pobremente provistos de materia orgánica. La vegetación es heterogénea, pudiéndose identificar dos formaciones de estepa: una dominada por pastos y otra por arbustos. Gran parte del territorio se encuentra sometido a explotación ganadera; esto genera modificaciones que se ven reflejadas en las comunidades edáficas, entre ellas los ácaros, que juegan un papel fundamental en la regulación de la descomposición y el ciclaje de nutrientes. El objetivo del trabajo fue hacer un relevamiento de los taxa de la subclase Acari, a nivel de orden y suborden, que se encuentran en la estepa gramínea y la estepa arbustiva de Chubut. El área de estudio se encuentra en una franja angosta en el oeste de la Provincia, alrededor del meridiano 71° O, entre los 42°15' S y los 45°15' S. Se seleccionaron 3 sitios de muestreo, en cada uno se eligió un ambiente de estepa gramínea y uno de estepa arbustiva. En cada punto se recolectó suelo desnudo y suelo bajo vegetación; las muestras fueron llevadas al laboratorio y se colocaron en embudos Berlese durante 12 días. Se contabilizó un total de 1780 individuos, de los cuales 2/3 se hallaron en la estepa arbustiva y 1/3 en la estepa gramínea. En la estepa gramínea dominó el suborden Oribatida mientras que en la arbustiva lo hizo Prostigmata. El orden Mesostigmata estuvo siempre por debajo de 10%. El número de individuos en suelo bajo vegetación fue casi del doble que en suelo desnudo, para todos los grupos. Los resultados obtenidos pueden deberse en gran parte a las diferentes dietas de los grupos, encontrándose mayor abundancia de grupos más generalistas en ambiente más heterogéneo. Además se puede concluir que en ambientes extremos como los estudiados, los ácaros habitan bajo especies vegetales, en la rizosfera, donde se generaría un ambiente más propicio en comparación con el suelo desnudo.

**Palabras claves:** Ácaros, Estepa, Chubut.

## INTRODUCCIÓN

Los suelos de la estepa de Chubut presentan texturas arenosas y están pobremente provistos de materia orgánica. La vegetación es muy heterogénea, encontrándose principalmente una estepa graminosa, dominada por choico (*Adesmia campestris* (Rendle) Rowlee), Abrojo (*Acaena caespitosa* Gillies ex Hooker et Arnott) neneo (*Mulinum spinosum* (Cav.) Pers.), calafate (*Berberis heterophylla* Juss), coirón llama (*Stipa humilis* Cav.) y coirón duro (*Stipa speciosa* Trin & Rupr.), una estepa arbustiva y subarbustiva en la que se desarrollan coirón (*Festuca gracillima* Rothm), neneo (*Mulinum spinosum*), Leña de piedra (*Azorella monantha* Clos) Junellia (*Junellia patagonica* (Speg.) Moldeke) y senecio (*Senecio filaginoides* DC), además de duraznillo (*Colliguaya integerrima* Gillies & Hook), algarrobo patagónico (*Prosopis denudans* Bentham), molle (*Schinus polygamus* (Cav.) Cabrera), calafate, coirón duro y coirón llama (Correa 1998; León *et al.* 1998).

Gran parte del territorio se halla sometido a explotación ganadera. La historia de la ganadería en una zona junto con las especies involucradas en la explotación y la carga ganadera tienen un efecto modelador en la vegetación (Soriano & Paruelo 1990), en el suelo y por ende, en el paisaje. Estas modificaciones del ambiente se ven reflejadas en las comunidades edáficas, entre ellas los ácaros, que juegan un papel fundamental en la regulación de la descomposición y el ciclaje de nutrientes (Iturrondobeitia *et al.* 2004; Karyanto *et al.* 2012), siendo en este ambiente árido, de gran importancia para la reincorporación de los nutrientes al suelo.

La abundancia y la riqueza de estas comunidades edáficas están determinadas por la calidad del recurso (Lussenhop 1976; Swift *et al.* 1979). Los ácaros se desplazan por los poros del suelo, por tanto suelen ser más abundantes en aquellos suelos con alta proporción de materia orgánica, dado que presentan una estructura bien porosa (Martínez & Narciso 2009). Dada su ubicuidad, alta diversidad y marcada dependencia de los factores ambientales, son excelentes indicadores del estado del suelo (Lebrun & van Straalen 1995; Stork & Eggleton 1992).

El objetivo de este trabajo fue identificar y cuantificar los taxa de la subclase Acari que se encuentran en la estepa graminosa y la estepa arbustiva en el oeste de Chubut, hasta nivel de orden y suborden. Se trata de resultados preliminares, cuya continuidad vendrá dada en la determinación de los especímenes hasta el nivel de familia, género o especie, según el grupo de que se trate, y la propuesta y contrastación de hipótesis acerca de la preferencia por uno u otro tipo de ambiente. No obstante, se adelantan algunas ideas al respecto.



## **MATERIALES Y METODOS**

El área de estudio se encuentra comprendida en una franja angosta en el oeste de la Provincia de Chubut, alrededor del meridiano 71° O, entre los 42°15' S y los 45°15' S. Los suelos han evolucionado a partir de depósitos eólicos arenosos, niveles de cenizas acumulados por encima de las morenas, depósitos aluviales y coluviales, siendo los órdenes de suelos dominantes los Entisoles y Aridisoles. La vegetación es muy heterogénea, encontrándose principalmente coirón, tanto en estepa gramínea (principalmente) y en estepa arbustiva, además en esta última se encuentra también neneo, senecio, entre otras. A lo largo del área de estudio se seleccionaron 3 sitios de muestreo, uno cercano a la localidad de Esquel, otro cercano a Gobernador Costa y el último en Alto Río Senguer (Figura 1). En cada sitio se eligió un ambiente de estepa gramínea y uno de estepa arbustiva, según la clasificación de Correa (1998), todos bajo explotación ganadera (ovina y bovina). En cada ambiente se seleccionaron 7 puntos, separados cada un kilómetro como mínimo, dependiendo del tamaño del campo a muestrear. En cada punto se recorrió una distancia al azar de 50 o 100 m hacia adentro del área, donde se colectó una muestra de suelo desnudo y otra bajo especie vegetal. Se colectaron 14 muestras por ambiente, un total de 28 por sitio. El muestreo se realizó en primavera 2016. Las muestras consistieron en los 5 primeros centímetros de suelo en un área de 100 cm<sup>2</sup>. En laboratorio, las muestras se dispusieron en embudos Berlese durante 12 días, extrayéndose la fauna en frascos recolectores con alcohol al 70%. Una vez retirados, se separó la mesofauna bajo lupa binocular mediante minucias enmangadas y se cuantificaron los individuos de cada taxa. En esta primera etapa, la identificación fue a nivel de orden (Mesostigmata, Sarcoptiformes, Trombidiformes) y suborden Prostigmata (Trombidiformes) y Oribatida (Sarcoptiformes). Los datos provenientes de los tres sitios de muestreo se trataron en conjunto. No se realizaron análisis estadísticos ya que los resultados todavía no lo ameritan.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

Se contabilizó un total de 1780 ácaros, 586 en la estepa gramínea y 1194 en la estepa arbustiva. Los ácaros oribátidos dominaron la estepa gramínea con 57% del total, mientras que en la estepa arbustiva los prostigmata fueron dominantes, con 50%. Los ácaros Mesostigmata constituyeron solo 6 y 3,5% del total, respectivamente. Asimismo, la estepa arbustiva presentó los valores más altos de los tres taxa (Figura 2). Con respecto a la cobertura, 66,1% del total de ácaros se halló en el suelo bajo vegetación, encontrándose en el suelo desnudo el 34,9% restante (Figura 3). En la estepa gramínea el 62% de la cobertura fue dada por coirón, el porcentaje restante se repartió entre Abrojo (14,2%), leña de

piedra (14,2%) y Junellia (4,7%). Mientras que la cobertura en la estepa arbustiva fue dada por neneo en un 23%, Senecio con el 19%, y el porcentaje restante entre coirón (14,2%), Junellia (14,2%), Uña de gato (9,5%), Leña de piedra (4,7%), Adesmia (4,7%), tuna patagónica (4,7%), y Calafate (4,7%).

Una determinación más fina de los especímenes hallados, hasta nivel de familia, género y/o especie, permitirá proponer hipótesis más precisas. No obstante, se adelantan a continuación algunas posibles explicaciones para dar cuenta de los resultados obtenidos:

1) El hecho de que haya más ácaros en la estepa arbustiva que en la graminosa puede vincularse con la heterogeneidad ambiental, siendo mayor en la primera, dada tanto por el número de especies vegetales como por la diversidad morfológica de las mismas. 2) Que haya más ácaros en el suelo bajo vegetación que en el suelo desnudo, se puede atribuir a la protección que brinda la cobertura contra la insolación, una mayor estabilidad climática, a la vez que el aporte de materia orgánica al suelo es mayor bajo los pastos o arbustos que entre ellos, favoreciendo el hábitat alimenticio de aquellos ácaros que sean detritívoros como la mayoría de los oribátidos. La rizosfera constituye un ambiente rico en energía y nutrientes, además permite albergar grandes poblaciones de la mayor parte de los grupos de microorganismos del suelo (Jaramillo Jaramillo 2002) incluido los diferentes grupos de ácaros, así como la mayor parte de los protozoarios y de los nematodos de vida libre del suelo (Lee & Pankhurst 1992). 3) Finalmente, que Oribatida y Prostigmata sean dominantes y constituyan más de 90%, con una representación mínima de Mesostigmata, puede, en principio, atribuirse a la dieta. Al respecto, los prostigmatas muestran diversidad de regímenes: microfitófagos obligados, depredadores facultativos, zoófagos, necrófagos y macrófagos (Neher *et al.* 2009), lo que permite la explotación de diversos tipos de recurso; y lo mismo sucede con los oribátidos, que en su mayoría son de hábitos micro y macrofitófagos y saprófagos (Travé *et al.* 1996). Mesostigmata, por su parte, son en general depredadores de pequeños artrópodos y nematodos del suelo (Sánchez Rocha 2012), y como tales la oferta de alimento para ellos es menor que para los otros dos grupos.

## CONCLUSIÓN

Este trabajo explora los primeros datos obtenidos de un estudio que se extenderá en el tiempo, a la vez que profundizará en la identificación taxonómica de los organismos hallados. De lo encontrado hasta el presente, se puede inferir que los factores implicados en las abundancias relativas y en las distribuciones observadas se vinculan con la heterogeneidad ambiental, la calidad del medio, estabilidad climática, contenido de materia orgánica. Dada por la presencia o ausencia de cobertura, y la dieta de los organismos. La importancia de estos

factores será puesta a prueba luego de que se los cuantifique a fin de incluirlos en las pruebas estadísticas correspondientes.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Correa M. 1998. Flora patagónica, parte I. *Colección Científica del INTA, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria, Buenos Aires*: 391

Iturrondobeitia J, Caballero A, Arroyo J. 2004. Avances en la utilización de los ácaros oribátidos como indicadores de las condiciones edáficas. *Munibe*: 70-91

Jaramillo Jaramillo DF. 2002. Introducción a la ciencia del suelo.

Karyanto A, Rahmadi C, Franklin E, Susilo F-X, de Morais JW. 2012. Collembola, acari y otra mesofauna del suelo: el método Berlese. *FM Moreira, J. Huising, & D. Bignell, Manual de Biología de Suelos Tropicales: muestreo y caracterización de la biodiversidad bajo el suelo*: 152-53

Lebrun P, van Straalen NM. 1995. Oribatid mites: prospects for their use in ecotoxicology. *Experimental & Applied Acarology* 19: 361-79

Lee K, Pankhurst C. 1992. Soil organisms and sustainable productivity. *Soil Research* 30: 855-92

León RJ, Bran D, Collantes M, Paruelo JM, Soriano A. 1998. Grandes unidades de vegetación de la Patagonia extra andina. *Ecología Austral* 8: 125-44

Lussenhop J. 1976. Soil arthropod response to prairie burning. *Ecology* 57: 88-98

Martínez P, Narciso E. 2009. Mesofauna. *Biología y Ecología de la Fauna Del Suelo, 1st ed.; Momo, FR, Falco, LB, Eds*: 9-21

Neher D, Lewins S, Weicht T, Darby B. 2009. Microarthropod communities associated with biological soil crusts in the Colorado Plateau and Chihuahuan deserts. *Journal of Arid Environments* 73: 672-77

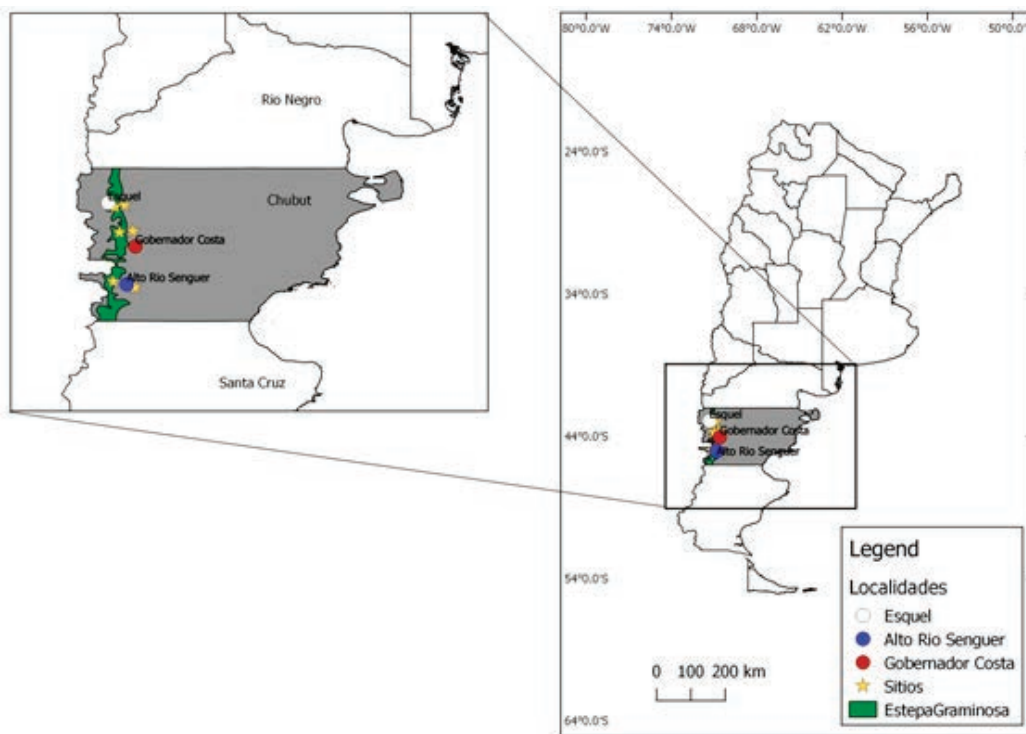
Soriano A, Paruelo JM. 1990. El pastoreo ovino: principios ecológicos para el manejo de los campos. *Ciencia hoy* 2: 44-53

Stork NE, Eggleton P. 1992. Invertebrates as determinants and indicators of soil quality. *American journal of alternative agriculture* 7: 38-47

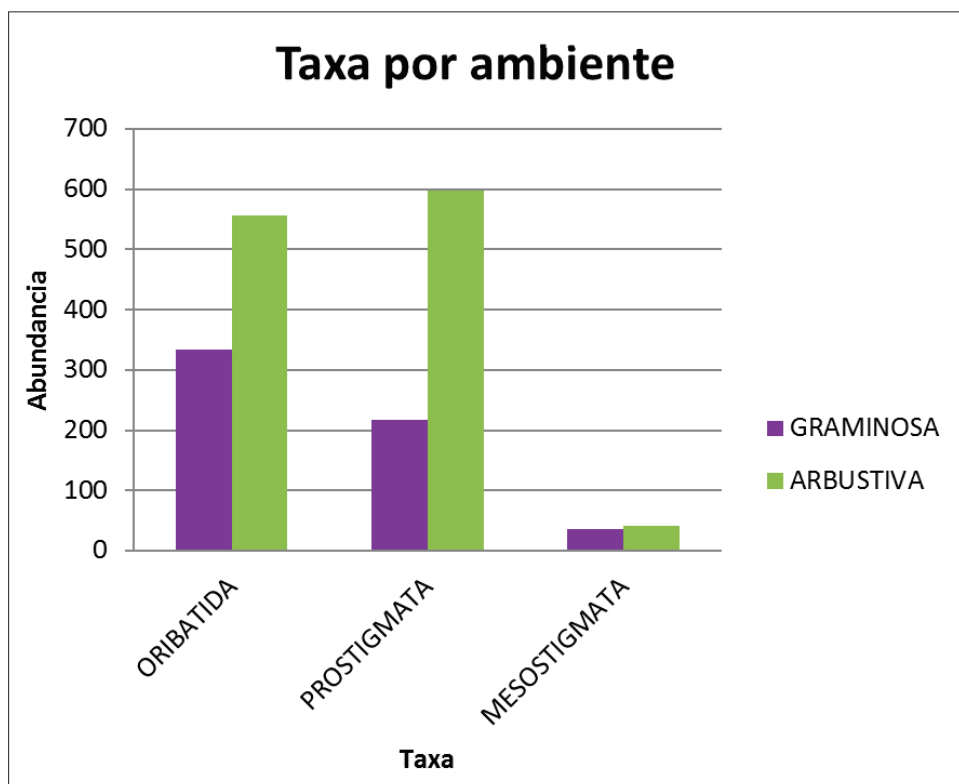
Swift M, Heal O, Anderson J. 1979. The influence of resource quality on decomposition processes. *Studies in Ecology* 5: 118-67

Travé J, André H M, Bernini F. 1996. Les acariens oribates. Éditions AGAR & SIALF.

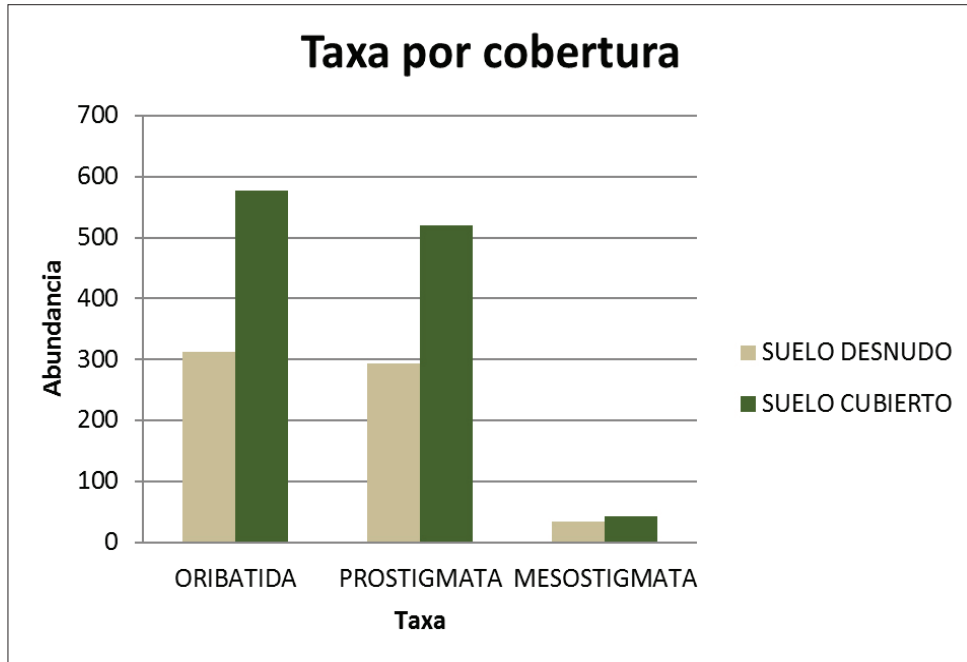
**Figura 1.** Mapa de los sitios muestreados en Estepa gramínea y Estepa arbustiva.



**Figura 2.** Abundancia (Numero de individuos totales) de cada taxa por ambiente.



**Figura 3.** Abundancia (Numero de individuos totales) de cada taxa bajo especie vegetal (Suelo cubierto) y bajo suelo desnudo.



## **DIVERSIDAD DE ARAÑAS EN SISTEMAS AGROECOLÓGICOS DE HORTALIZAS DE HOJAS CON DIFERENTES CULTIVOS ANTECESORES**

*Martiarena Diego (1); Ullé Jorge (2); Peralta Luciano (3) y Carmona Dora (1)*

*1 Unidad Integrada EEA Balcarce, INTA-FCA, UNMDP*

*2 EEA San Pedro, INTA*

*3 Laboratorio de Ecología, Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC; CONICET-UNMDP). UNMDP*

*Autor de correspondencia: martiarena.diego@inta.gob.ar*

### **RESUMEN**

Las arañas (Arachnida: Araneae) constituyen uno de los principales grupos artrópodos zoófagos epiedáficos en los sistemas agrícolas, de gran importancia en el control biológico de invertebrados herbívoros, perjudiciales a los cultivos. En sistemas hortícolas de producción agroecológica, la utilización de diferentes cultivos antecesores como cobertura de suelo genera gran cantidad de biomasa, que ofrece un ambiente de conservación para las arañas, que los utilizan según su preferencia por diferentes hábitats. En este contexto, se analizó la composición poblacional y ensamblaje de las arañas en un sistema de producción hortícola agroecológico de hortalizas de hoja con diferentes cultivos antecesores. El trabajo se llevó a cabo en EEA San Pedro, INTA en un sistema experimental de larga duración iniciado en 2011, en cultivos de hortalizas invernales de hoja. Los tratamientos o cultivos antecesores Barbecho (suelo desnudo), Campo Natural (parcela no cultivada de vegetación nativa), Maíz blanco duro, Poroto sable y Maíz blanco duro + Poroto sable (Mz. Bl. D. + Por. Sab) se dispusieron en un diseño en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones. En marzo de 2015 se realizó el muestreo de arañas mediante trampas de caída (dos por repetición) y los ejemplares identificados se agruparon en gremios según sus hábitos y por tratamiento. Se registraron 89 ejemplares de arañas de las familias Hahniidae, Linyphiidae, Lycosidae, Tetragnatidae, Araneidae, Gnaphosidae y Oxyopidae. La familia dominante fue Hahniidae y la de menor abundancia fue Oxyopidae. La mayor proporción de arañas perteneció al gremio de las tejedoras de tela. La familia Hahniidae, tejedoras de tela en sabana, fue la que más individuos aportó a la abundancia total. El tratamiento Maíz Bl. D + Por. Sab. presentó la mayor abundancia, pero fue el menos diverso; mientras que el antecesor Poroto sable resultó ser más diverso y de mayor equitatividad de familias de arañas.

**Palabras clave:** artrópodos zoófagos; Araneae; Hahniidae

## INTRODUCCIÓN

Las arañas (Arachnida: Araneae) constituyen uno de los principales grupos de la fauna de artrópodos en los sistemas agrícolas, que pueden alimentarse del 40 al 50% de la biomasa disponible de insectos, teniendo un papel importante en el control biológico de las especies que provocan daños en los cultivos de importancia económica (Riechert; Lockley, 1984; Tarabaev; Sheykin, 1990; Green, 1996).

En sistemas hortícolas de producción agroecológica, la implementación de prácticas como cultivos de cobertura implica, entre otras cosas, generar grandes cantidades de biomasa vegetal en pequeñas superficies, durante diferentes épocas del año, que alternen con el ciclo del cultivo de hortalizas (Florentín *et al.*, 2001). El uso de cultivos de cobertura, que posteriormente son cortados y/o triturados, beneficia a la comunidad de las arañas, ya que provee un ambiente adecuado para su desarrollo, potenciando su rol como reguladores naturales (Ortega Villasana y Ullé, 2013). Si bien son predadores polífagos, las estrategias de caza y preferencias por ciertos micro-hábitats, hacen que cada una esté especializada (Nyffeler, 1999). Por lo tanto, los cambios en los ensamblajes de arañas pueden ser explicados por las variaciones de la estructura de la vegetación (Bonte *et al.*, 2002), y generalmente hábitats con alta heterogeneidad favorecen una mayor riqueza de las mismas (Uetz, 1979).

En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue analizar la composición poblacional y ensamblaje de las arañas en un sistema de producción hortícola agroecológico, asociadas a distintas alternativas de manejo previo (antecesores).

## MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo se llevó a cabo en la unidad demostrativa III de producción hortícola agroecológica, ubicada en el predio de la EEA San Pedro, INTA (33°44'6.32"S 59°47'55.83"O). En el año 2011, en un sistema experimental de hortalizas invernales de hojas, se inició una evaluación de cultivos antecesores.

Se utilizó un diseño en bloques completos aleatorizados con tres repeticiones, donde se evaluaron 5 tratamientos, representados por distintos tipos de antecesores: Barbecho (suelo desnudo), Campo Natural (parcela no cultivada de vegetación nativa), Maíz blanco duro, Poroto sable y Maíz blanco duro + Poroto sable (Mz. Bl. D. + Por. Sab) Para la determinación poblacional de las arañas se efectuó un muestreo el 17 de marzo de 2015, previo a la siembra de las hortalizas y con el cultivo antecesor aún en pie, utilizando dos trampas de caída ("*pitfall traps*") por repetición, cuyo contenido fue recolectado a las 48 hs Las muestras fueron analizadas en el Laboratorio de Investigación

y Servicios de Zoología Agrícola (LISEZA) de la Unidad Integrada Balcarce (EEA Balcarce INTA- FCA, UNMDP), donde se separaron las arañas de otros artrópodos y se cuantificaron. La identificación hasta el nivel taxonómico de familia se llevó a cabo en el Laboratorio de Ecología del IIMyC (CONICET-UNMDP). Una vez identificados, los ejemplares se clasificaron en los gremios establecidos por Uetz *et al* (1999). Los atributos de la población estudiados fueron: abundancia ( $N$ = número total de individuos por tratamiento); riqueza ( $S$ = número máximo de familias); diversidad de familias, según el índice de diversidad de Shannon-Weaver ( $H'$ ), y equidad, según el índice de Pielou ( $J'$ ) (Magurran, 1988). Para comparar las abundancias totales entre antecesores se utilizó el software estadístico R commander (R Core Team, 2015) y el test de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se registró una abundancia total de 89 arañas, distribuidas en 7 familias: Hahniidae, Linyphiidae, Lycosidae, Tetragnatidae, Araneidae, Gnaphosidae y Oxyopidae. La familia dominante fue Hahniidae (41,57%) y la de menor abundancia fue Oxyopidae (1,12%).

La mayor proporción de arañas (81% aproximadamente) perteneció al gremio de las tejedoras de tela. La familia Hahniidae, tejedoras de tela en sabana ("sheet-web builders"), fue la que más individuos aportó a la abundancia total. Además, se registraron las familias Linyphiidae, cazadoras sobre telas en sabana o enmarañada ("wandering sheet/tangle weavers"), y Araneidae y Tetragnatidae clasificadas como tejedoras orbiculares ("Orb weavers"). Las familias restantes pertenecen al grupo cazadoras, diferenciándose por sus hábitos. Lycosidae y Gnaphosidae pertenecen al gremio "vagabundas sobre el suelo" ("Ground runners"), y Oxyopidae a "vagabundas sobre tallos" ("Stalkers").

El tratamiento Mz. Bl. D + Por. Sab. presentó la mayor abundancia y el tratamiento Barbecho la menor. Se hallaron diferencias significativas ( $p$  valor  $< 0,05$ ) entre ambos tratamientos (Figura 1). Los tratamientos restantes presentaron una abundancia intermedia y no se observaron diferencias significativas entre ellos (Figura 1).

La mayor riqueza taxonómica se obtuvo en el tratamiento Poroto sable,  $S=5$ , con un valor de 4 para el resto de los tratamientos.

El antecesor Mz. Bl. D.+ Por. Sab fue el menos diverso (Tabla 1) debido, principalmente a que la mayor proporción de individuos fue aportada por la familia Hahniidae. El tratamiento Barbecho, que presentó la menor abundancia de arañas, resultó ser el más diverso y equitativo de todos, ya que las 4 familias registradas aportan individuos en similar proporción y no



existe dominancia de la familia Hahniidae como en otros antecesores. La menor abundancia de esta familia podría explicarse por la dificultad que generaría la ausencia de vegetación (suelo desnudo) para la construcción de tela en sabana. Los demás antecesores obtuvieron valores intermedios de H' y J'.

## CONCLUSIONES

Con la utilización de una combinación de Mz. Bl. D y Por. sab como antecesor, se obtiene una mayor abundancia de arañas en el sistema y, por consiguiente, se favorece la conservación de las arañas y se potencia su rol de controladores biológicos de invertebrados plaga. No obstante, en dicho ambiente, la diversidad de arañas fue menor que en otros antecesores por la clara dominancia de la familia Hahniidae. En cambio, si se utiliza una leguminosa, como antecesor de cultivos hortícolas, se genera un hábitat con elevada abundancia de arañas, pero es un sistema más diverso y equilibrado que la asociación del Maíz con Poroto.

**Institución financiadora:** Red Nacional de Agroecología, Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA).

## BIBLIOGRAFÍA

- BONTE, D.; BAERT, L.; MAELFAIT, J.P. 2002. Spider assemblage structure and stability in heterogeneous coastal dune system (Belgium). *Journal of Arachnology*, 30:331-343.
- FLORENTÍN, M.A.; PEÑALBA, M.; CALEGARI, A.; DERPSCH, R. 2001. Abonos verdes y rotación de cultivos en siembra directa. Pequeñas propiedades. Proyecto Conservación de Suelos MAG-GTZ. Ministerio de Agricultura y Ganadería. San Lorenzo, Paraguay. 84 p.
- GREEN, J. 1996. Spiders in biological control an Australian perspective. *Revue Suisse Zoologie. Hors série*: 245-253.
- MAGURRAN, A. E. 1988. Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press, New Jersey. 179 pp.
- NYFFELER, M. 1999. Prey selection of spiders in the field. *Journal of Arachnology*. 27:317-324.
- ORTEGA Y VILLASANA, P.; ULLÉ, J.A. 2013. Macrofauna Edáfica Asociada a Cultivos en Agricultura Orgánica. En: Bases tecnológicas de sistemas

de producción agroecológicos: nodos agrícola ganadero horticultura orgánica y cultivos perennes. Agroecología. Informe técnico 2013. EEA San Pedro. Ediciones INTA. Buenos Aires, Argentina. 202 p.

R CORE TEAM. 2015. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL:https://www.R-project.org/.

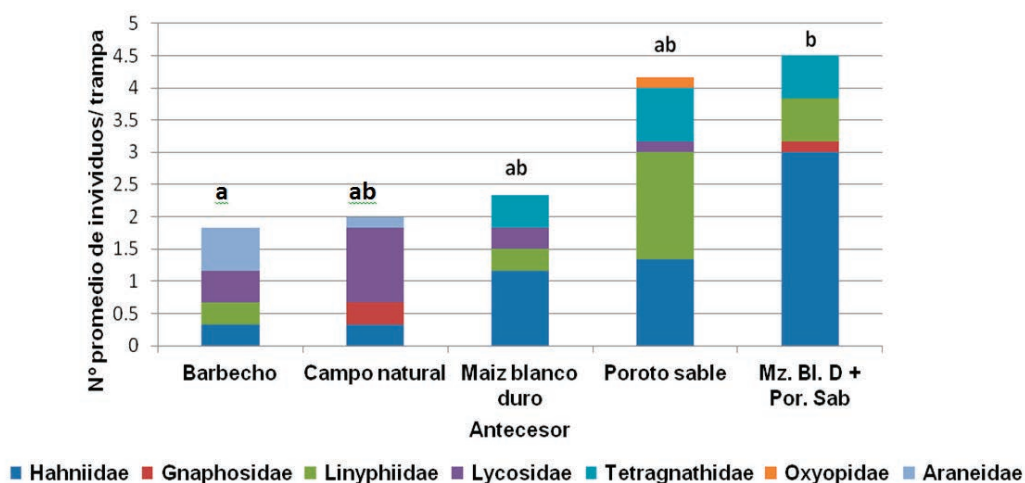
RIECHERT, S. E., & LOCKLEY, T. 1984. Spiders as biological control agents. *Annual Review of Entomology*, 29(1): 299-320.

TARABAEV, C. K., & SHEYKIN, A. A. 1990. Spiders as predators in apple-tree crowns in south-eastern Kazakhstan. *Acta Zoologica Fennica* 190: 363-366

UETZ, G.W. 1979. The influence of variation in litter habitats on spider communities. *Oecologia* 40:29-42.

UETZ, G. W.; HALAJ, J.; CADY, A. B. 1999. Guild structure of spiders in major crops. *Journal of Arachnology* 27(1): 270-280.

**Figura 1.** Abundancia y composición poblacional de arañas según antecesor en sistema agroecológico de hortaliza de hoja.



**Tabla 1.** Abundancia, riqueza, diversidad y equitatividad de arañas por tratamiento.

	Barbecho	Campo natural	Maiz Blanco Duro	Poroto Sable	Maiz Bl. D. + Por. Sab.
<i>N</i>	11	12	14	25	27
<i>S</i>	4	4	4	5	4
<i>H'</i>	1.34211318	1.118743336	1.232643284	1.310532912	0.958168476
<i>J'</i>	0.96813001	0.807002731	0.889164177	0.814279881	0.691172454

## **EFFECTOS DE LA DIVERSIFICACIÓN E INTENSIFICACIÓN DE CULTIVOS EN SISTEMAS AGRÍCOLAS CONVENCIONALES SOBRE LA COMUNIDAD DE LOMBRICES (OLIGOCHAETA: LUMBRICINA), EN COMPARACIÓN CON SISTEMAS ORGÁNICOS**

*Moreira Ferroni, Melisa (1); Rodríguez, María Pia (1,2);*

*Domínguez, Anahí (1,2); Bedano, José Camilo (1,2);*

*Departamento de Geología, Universidad Nacional de Río Cuarto.*

*2 Consejo Nacional de Investigaciones científicas y técnicas (CONICET).*

*1 Grupo de Investigaciones en Ecología de Ecosistemas Terrestres*

*Departamento de Geología, Universidad Nacional de Río Cuarto.*

*Ruta 36, Km. 601. X5804 BYA Río Cuarto, Córdoba, Argentina*

*mmoreiraferroni@gmail.com*

### **RESUMEN**

En el contexto de la agricultura convencional ha surgido una nueva propuesta de diversificar e intensificar las rotaciones de cultivos (DIRC) en busca incrementar los rendimientos de los cultivos por unidad de área, mediante la reducción del período de barbecho y el aumento del número de diferentes cultivos por unidad de tiempo y tierra. Sin embargo, sus efectos sobre la calidad del suelo y la fauna edáfica, han sido poco estudiados. En este trabajo se evaluaron los efectos de la DIRC en sistemas agrícolas convencionales, sobre la comunidad de lombrices en comparación con sistemas agrícolas orgánicos extensivos y ecosistemas naturales. Se eligieron 4 establecimientos de agricultura convencional en la región Pampeana, en los que se analizaron cinco sistemas agrícolas con diverso nivel de DIRC: monocultivo de soja, rotación típica (RT), rotación de intensificación alta con leguminosas (RL), y alta con gramíneas (RG), y pastura; y un ecosistema natural. Se estudiaron además 2 parcelas orgánicas, una con pastura y otra con maíz. El muestreo de lombrices se realizó utilizando la metodología TSBF y los ejemplares colectados fueron identificados en su mayoría hasta nivel de especie. Se observó que la mayoría de los sistemas agrícolas afectaron negativamente a las lombrices en relación a los ecosistemas naturales. Entre las rotaciones, existió un efecto positivo sobre la abundancia de la RL respecto a la RT, lo cual se explica por el mayor porcentaje de leguminosas fijadoras de nitrógeno incluidas en dicha rotación. En los sistemas orgánicos se observó una mayor abundancia, a pesar de su tamaño reducido, aunque no una mayor riqueza taxonómica, en comparación a los sistemas agrícolas convencionales. Debido a la ubicación de las parcelas orgánicas analizadas en una matriz de agricultura convencional, se sugiere incluir el efecto del paisaje circundante en futuros estudios de este tipo.

**Palabras claves:** Intensificación sustentable, sistemas agrícolas orgánicos, lombrices.

## INTRODUCCIÓN

En el marco de la agricultura convencional ha surgido una nueva propuesta de diversificar e intensificar las rotaciones de cultivos (DIRC) que busca utilizar incrementar los rendimientos de los cultivos por unidad de área, mediante la reducción del período de barbecho y el aumento del número de cultivos por unidad de tiempo y tierra. Enmarcada en un paradigma productivo completamente diferente, la agricultura orgánica se basa en los procesos ecológicos, promueve la biodiversidad, los ciclos biológicos y la actividad biológica del suelo, sin utilizar agroquímicos de origen sintético (Gomiero *et al.*, 2011; IFOAM, 2012).

Para evaluar los cambios en la calidad del suelo en función de los diferentes sistemas agrícolas se ha propuesto la utilización de indicadores biológicos, físicos y/o químicos. La ventaja de los bioindicadores sobre los indicadores físicos y químicos es que son más dinámicos, por lo cual pueden servir como una señal temprana de degradación o mejoría de los suelos (Astier *et al.*, 2001). Las lombrices son consideradas excelentes bioindicadoras, tanto por su abundancia y diversidad en la mayor parte del mundo, como así también por la cantidad de información disponible acerca de su biología, taxonomía y ecotoxicología (Römbke *et al.* 2005).

Si bien existen numerosos trabajos respecto al impacto de diferentes sistemas agrícolas sobre las lombrices, en nuestro país son muy escasos los estudios comparativos de la influencia de distintos esquemas e intensificación de rotaciones, ya que forman parte de una propuesta reciente por parte de los productores y aún poco estudiada. Aún más, la mayoría de los estudios se han focalizado en sistemas convencionales, por lo que la comparación entre éstos y sistemas orgánicos aún no ha sido desarrollada.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El área de estudio se ubica en las provincias de Buenos Aires y Santa Fe, y comprende cuatro establecimientos de agricultura convencional: *La Matilde*, *San Nicolás*, *Las Matreras* y *Carmen*, y un módulo de agricultura orgánica en la *Estación Experimental Agropecuaria INTA Pergamino (EEA INTA)*. Los suelos estudiados son Argiudoles, exceptuando *Carmen*, donde los suelos son Hapludoles (Soil Survey Staff, 2010).

En cada establecimiento de agricultura convencional se evaluaron 5 sistemas: una pastura consociada, tres esquemas de distinta diversificación e intensificación de rotaciones y un ecosistema natural. El control negativo de

mínima rotación no perteneció al mismo lote que los sistemas restantes, sino que se seleccionaron lotes con monocultivo de soja ubicados en cercanías a los establecimientos.

Las categorías de diversificación e intensificación de la rotación fueron definidas teniendo en cuenta el índice IIR, relación entre el tiempo en días de la rotación ocupado con cultivos desde emergencia a madurez fisiológica y tiempo total de la rotación (Agosti, 2016), y la incorporación en la rotación de gramíneas y cultivos fijadores de nitrógeno:

- Rotación típica (RT): IIR (0,43- 0,54) y 50% de gramíneas, en general Trigo/ Soja-Maíz-Soja.

- Rotación alta con leguminosas (RL): IIR (0,54 - 0,71) y 50% de gramíneas en la mayoría de los casos; se incorpora otro cultivo fijador de nitrógeno además de soja (arveja o vicia).

- Rotación alta con gramíneas (RG): IIR (0,50- 0,73) y 100% de gramíneas (incorporación de sorgo o cebada).

En lo que respecta al sistema de manejo orgánico, se seleccionaron dos parcelas de 1 ha ubicadas en el Módulo Agroecológico EEA-INTA. Para realizar comparaciones con los sitios convencionales, se seleccionaron una parcela con pastura consociada y una cultivada con maíz.

## **METODOLOGÍA**

En cada establecimiento se extrajeron 5 monolitos de suelo por cada sistema, mediante un marco metálico (25 x 25 x 10 cm), utilizando la metodología TSBF (Anderson & Ingram, 1993). Se colectaron manualmente las lombrices presentes en cada monolito y se conservaron en alcohol. Posteriormente en el laboratorio, se realizó el recuento e identificación taxonómica utilizando lupas binoculares y claves taxonómicas (Righi 1971, 1979, Mischis 1991, James *et al.* 2015), que permitieron la identificación hasta nivel de especie en la mayoría de los casos.

Se obtuvieron valores de abundancia y riqueza taxonómica de la comunidad, y las especies fueron clasificadas en nativas o exóticas según la procedencia de las familias (Fragoso & Brown, 2007).

Para analizar efecto de los tratamientos sobre la abundancia de lombrices, se realizaron análisis univariados utilizando MLG en el programa Infostat (Di Rienzo *et al.* 2013).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los mayores valores de abundancia de lombrices se registraron en los ecosistemas naturales, y en las pasturas en *Carmen* y *La Matilde* (**Fig. 1**). La mayor abundancia en los sistemas naturales se explicaría por la ausencia casi total de perturbaciones antrópicas, que permite la conservación de condiciones favorables para las lombrices. Por otro lado, las elevadas abundancias en las pasturas podrían explicarse teniendo en cuenta que estos cultivos mantienen cubierto el suelo por cuatro años consecutivos, aportando de forma permanente una gran cantidad de material vegetal utilizado por muchas lombrices como fuente de alimento. No obstante, tanto en *San Nicolás* como en *Las Matreras* la mayor abundancia se registró en el monocultivo (**Fig. 1**). Esto podría explicarse teniendo en cuenta que los monocultivos se encuentran alejados del resto de los sistemas y poseen una historia de uso del suelo diferente, por lo cual podrían no representar verdaderos controles negativos.

Al comparar los sistemas con diferentes niveles de DIRC, se observó una respuesta positiva de la abundancia de lombrices al incremento de la DIRC en tres de los cuatro campos analizados: *La Matilde*, *Las Matreras* y *San Nicolás* (**Fig. 1**). Específicamente, la RL presentó las mayores abundancias. Esta rotación implica un incremento en el IIR respecto de la típica e incorpora un mayor porcentaje de cultivos fijadores de nitrógeno. Esto concuerda con lo expresado por distintos autores de que las leguminosas benefician a las poblaciones de lombrices en plantaciones de la Amazonia peruana (Lavelle & Pashanasi 1989, Fragoso *et al.* 1999) y en el Llano colombiano (Jiménez & Thomas, 2003).

En lo que respecta a los sistemas orgánicos, se observó una abundancia de lombrices significativamente mayor tanto en la pastura como en el maíz orgánico comparativamente con los correspondientes cultivos en sistemas convencionales (**Fig. 2**). Esta tendencia a una mayor abundancia de lombrices en sitios orgánicos ha sido también reportada por otros autores (Pfiffner & Mäder, 1997; Ivask *et al.*, 2007; Kragten *et al.*, 2011).

## RIQUEZA TAXONÓMICA

En relación a la riqueza taxonómica, en todos los establecimientos estudiados se observó una mayor riqueza, especialmente de especies nativas, en los ecosistemas naturales comparativamente con los sistemas agrícolas (**Tabla 1**). Esto coincide con lo observado por algunos autores (Fragoso *et al.* 1999, Decäens & Jimenez, 2002) respecto a que las comunidades de lombrices en los ecosistemas naturales son más diversas que aquellas que se encuentran en sistemas cultivados.

En los sistemas agrícolas convencionales la mayor riqueza taxonómica se observó en las pasturas (**Tabla 1**). Sin embargo, las diferencias de riqueza entre los demás sistemas convencionales no fueron claras y variaron en cada establecimiento. Mientras que en *Las Matreras* y *San Nicolás* un aumento en la DIRC se relacionó con una mayor riqueza de lombrices (RG y RG y RL respectivamente), en *Carmen* y *La Matilde* no se corroboró ésta relación. En cuanto a la composición de especies de lombrices, ésta también difirió entre establecimientos, predominando especies exóticas en *Carmen* y *La Matilde*, y especies nativas en *Las Matreras* y *San Nicolás*. Estas diferencias sugieren que la composición de las comunidades en los establecimientos parece responder más a una cuestión geográfica y de uso histórico del suelo, que a las prácticas actuales de manejo del suelo.

En los sistemas orgánicos se observó una riqueza taxonómica reducida, con una comunidad dominada por una única especie exótica. La baja diversidad observada podría explicarse por una comunidad originaria de lombrices poco diversa, probablemente como consecuencia de la larga historia de uso agrícola convencional de los suelos donde se realiza el módulo orgánico.

## CONCLUSIONES

Los ecosistemas naturales resultaron hábitats más favorables para las lombrices, lo que se vio reflejado en la diversidad taxonómica y en la mayor proporción de especies nativas, aunque no siempre en su abundancia. La riqueza de especies nativas siempre fue mayor en el ecosistema natural e incluso algunas especies nativas fueron exclusivas de estos sistemas. En consecuencia, se confirmó que todos los sistemas agrícolas estudiados afectaron negativamente a las lombrices, a través de distintas perturbaciones (aplicación de agroquímicos, reemplazo de vegetación natural por cultivos, labranza, etc.), que generaron una modificación de su hábitat.

Se confirmó un efecto positivo de la diversificación e intensificación de las rotaciones sobre la abundancia de lombrices respecto de la rotación típica. De acuerdo a este estudio los sistemas agrícolas con rotaciones diversas e intensas que incluyen un mayor porcentaje de leguminosas serían los más favorables para las lombrices, al menos en lo que respecta a su abundancia, en el contexto de los sistemas de agricultura convencional.

Los sistemas agrícolas orgánicos presentaron una mayor abundancia de lombrices comparativamente con los sistemas convencionales, lo que podría relacionarse con algunas de las prácticas de manejo, como la no aplicación de agroquímicos a los cultivos. Sin embargo, la extensión reducida de las parcelas orgánicas como así también su ubicación dentro de una matriz de agricultura convencional limita las conclusiones que pueden extraerse de los resultados

obtenidos. Por este motivo, para analizar su efecto sobre la comunidad de lombrices sería conveniente la realización de estudios adicionales, considerando una mayor cantidad de sistemas orgánicos preferentemente de una mayor extensión y realizando una comparación con sistemas convencionales circundantes.

## **FINANCIAMIENTO**

El presente trabajo fue financiado por proyecto Spott-UNQ, beca a la primera autora otorgada por el CIN, y CONICET.

## **BIBLIOGRAFÍA**

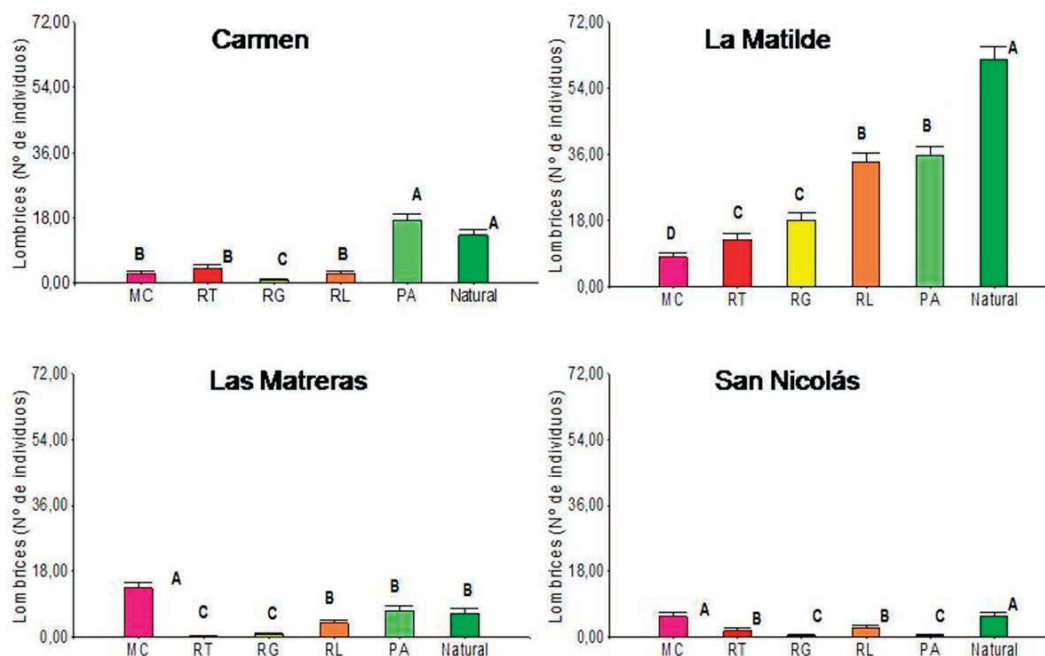
- Agosti, B, 2016. Informe anual de resultados campaña 2015-16, Chacra pergamino.
- Anderson, J. M y J.S.I, Ingram (Eds.), 1993. Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Method. CAB International
- Astier, M; M, Maass y J, Etchevers. 2001. Derivación de indicadores de calidad de suelos en el contexto de la agricultura sustentable. *Agrociencia*.
- Decaëns, T y J.J, Jiménez, 2002. Earthworm communities under an agricultural intensification gradient in Colombia. *Plant and Soil*, 240(1), 133-143.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W, 2013. InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Fragoso, C y G.G, Brown. 2007. Ecología y taxonomía de las lombrices de tierra en Latinoamérica: el primer encuentro latino-americano de ecología y taxonomía de oligoquetos (ELAETAO1). *Minhocas na América Latina: biodiversidade e ecologia. Embrapa Soja, Londrina, 33-75*.
- Fragoso, C; J, Kanyonyo; A, Moreno; B.K, Senapati; E, Blanchart y C, Rodriguez, 1999. A survey of tropical earthworms: taxonomy, biogeography and environmental plasticity. *Earthworm management in tropical agroecosystems*, 1-26.
- Gomiero. T; D, Pimentel y M.G, Paoletti. 2011. Environmental Impact of Different Agricultural Management Practices: Conventional vs. Organic Agriculture. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30: 95- 124.
- IFOAM, 2012 IFOAM: International Foundation for Organic Agriculture Movements. 2012. Disponible on-line en <http://www.ifoam.org>. Acceso: 26 de Julio de 2012.



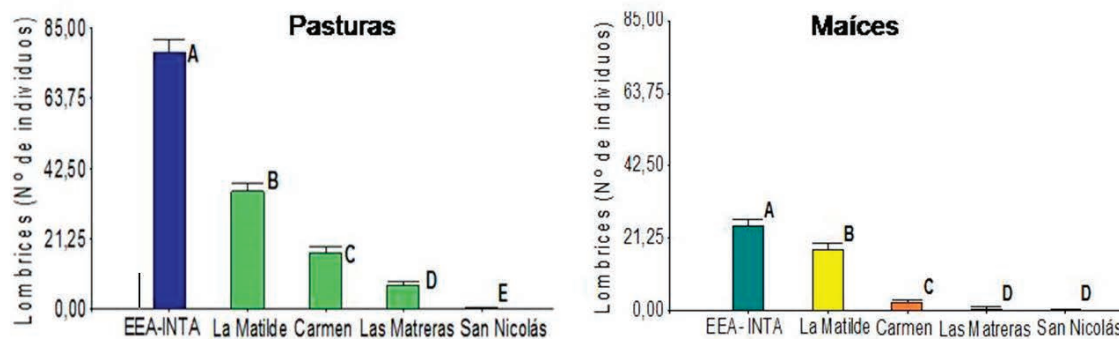
- Ivask, M; A, Kuu y E, Sizov. 2007. Abundance of earthworm species in Estonian arable soils. *European Journal of Soil Biology*, 43, S39-S42.
- James, S.W; M,Bartz y G.G, Brown, 2015. Apostila Curso de Ecologia e Taxonomia de minhocas. ELAETAO. 30 pp.
- Righi, G. 1971. Sobre a Familia Glossoscolecidae (Oligochaeta) no Brasil. *Arq.Zool.*, S. Paulo. 20 (1): 1-95.
- Jiménez, J.J y R.J, Thomas. 2003. El arado natural: Las comunidades de macroinvertebrados del suelo en las sabanas Neotropicales de Colombia. CIAT.
- Kragten, S; W.L, Tamis; E, Gertenaar; S.M, Ramiro; R.J, van der Poll; J, Wang y G.R, de Snoo. 2011. Abundance of invertebrate prey for birds on organic and conventional arable farms in the Netherlands. *Bird Conservation International*, 21(01), 1-11.
- Lavelle, P, 1988. Earthworm activities and the soil system. *Biology and Fertility of Soils* 6:237-251.
- Lavelle, P; T,Decaëns; M,Aubert; S,Barot; M, Blouin; F, Bureau; P, Margerie; P, Mora y J.P, Rossi, 2006.Soil invertebrates and ecosystem services. *European Journal of Soil Biology* 42:S3-S15.
- Lavelle, P y B, Pashanasi, 1989.Soil macrofauna and land management in Peruvian Amazonia (Yurimaguas, Loreto).En: *Pedobiologia* 33:283-291.
- Mischis, C. C, 1991. Las lombrices de tierra (Annelida, Oligochaeta) de la provincia de Córdoba, Argentina. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias* 59: 3-4.
- Pfiffner, L., &Mäder, P. 1997. Effects of biodynamic, organic and conventional production systems on earthworm populations. *Biological Agriculture & Horticulture*, 15(1-4), 2-10.
- Righi, G, 1971. Sobre a Familia Glossoscolecidae no Brasil. *Arq. Zool.*, S. Paulo. 20 (1): 1-95.
- Righi, G, 1979. Introducción al estudio de las lombrices del suelo (Oligoquetos Megadrilos) de la provincia de Santa Fe (Argentina). *Rev. Asoc. Cienc. Nat. Litoral* 10: 89-155.
- Römbke, J; S, Jänsch y W, Didden, 2005.The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 62: 249-265.

TABLAS Y FIGURAS

**Figura 1.** Abundancia promedio de lombrices en los cuatro establecimientos de agricultura convencional: Carmen, La Matilde, Las Matreras y San Nicolás, en cada uno de los sistemas analizados: MC (monocultivo de soja), RT (rotaciones de intensificación típica), RL (rotación de intensificación alta con leguminosas), RG (rotación de intensificación alta con gramíneas), pastura (PA) y ecosistema natural (NA). Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (DGC,  $p < 0,05$ ). Las barras indican los errores estándares de las medias del modelo lineal generalizado.



**Figura 2.** Abundancia de lombrices en pastura orgánica (EEA INTA) y en pasturas convencionales de Carmen, La Matilde, Las Matreras y San Nicolás (Figura izquierda); y abundancia de lombrices en maíz orgánico (EEA INTA) y en maíces convencionales (en La Matilde, Las Matreras y San Nicolás) (Figura derecha). Los sistemas analizados corresponden a la rotación de intensificación alta con gramíneas, mientras que en Carmen corresponde a la rotación de intensificación alta con leguminosas. Letras diferentes indican diferencias estadísticas significativas (DGC,  $p < 0,05$ ). Las barras indican los errores estándares de las medias del modelo lineal generalizado.



**Tabla 1:** Riqueza taxonómica total (R) y riqueza de especies nativas halladas en los 6 sistemas: monocultivo (MC), rotación típica (RT), alta con leguminosas (RL) y alta con gramíneas (RG), pastura (PA) y natural (NA), en los 4 establecimientos de agricultura convencional analizados: Carmen, La Matilde, Las Matreras y San Nicolás.

Sistemas	CARMEN		LA MATILDE		LAS MATRERAS		SAN NICOLÁS	
	R	Spp. nativas	R	Spp. Nativas	R	Spp. nativas	R	Spp. nativas
<b>MC</b>	1	1	2	0	2	0	2	1
<b>RT</b>	2	1	2	0	1	1	1	1
<b>RL</b>	1	0	2	0	2	1	2	1
<b>RG</b>	1	0	2	1	1	1	1	1
<b>PA</b>	4	0	2	0	3	1	1	1
<b>NA</b>	5	2	5	1	3	1	4	1

## **EFFECTO DE LA DIVERSIFICACIÓN E INTENSIFICACIÓN DE LA ROTACIÓN DE CULTIVOS EN SIEMBRA DIRECTA SOBRE LA MESOFAUNA EDÁFICA: RESULTADOS PRELIMINARES**

*Ortíz, Carolina Elizabeth (1,2,\*); Domínguez, Anahí (1, 2); Rodríguez, María Pía (1, 2); Galantini, Juan Alberto (2, 4); Wall, Luis Gabriel (2, 3) y Bedano, José Camilo (1, 2)*  
1 Departamento de Geología, Universidad Nacional de Río Cuarto. 2 CONICET, Argentina.  
3 Laboratorio Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas en el Suelo (LBMIBS) Universidad Nacional de Quilmes.  
4 CERZOS/UNS. (\*)caroelizortiz@gmail.com

### **RESUMEN**

En la región Pampeana argentina, se ha implementado un ensayo de diversificación e intensificación de las rotaciones de cultivos (DIRC) bajo siembra directa, el cual consiste en incluir un mayor número de cultivos diferentes por unidad de área/tiempo. La mesofauna está constituida por organismos con un diámetro corporal de 0,1 a 2 mm, principalmente Acari y Collembola, ambos indispensables en el proceso de descomposición y formación de suelo y sensibles a los cambios de manejo. El objetivo fue analizar el efecto de la DIRC sobre la abundancia de los taxones de alto rango de la mesofauna. Se seleccionaron 18 sitios en tres establecimientos, con ensayo de DIRC de 3 años antes del muestreo, con igual historia de uso de la tierra y tipo de suelo. Los tratamientos fueron: rotación típica (RT), alta con leguminosas (RL), alta con gramíneas (RG) y dos sistemas de referencia, monocultivo (MC) de soja y ambiente natural (NA). Se tomaron cinco muestras de suelo en cada sitio, divididas en hojarasca y 0-5 cm; fueron procesadas en el sistema de Berlese. Los ácaros oribátidos en la hojarasca respondieron positivamente a la DIRC en los tres establecimientos. En el suelo, la respuesta fue positiva sólo en dos establecimientos. Mesostigmata mostró una respuesta positiva a DIRC en la hojarasca de uno de los establecimientos y en el suelo de otro de ellos. Prostigmata y Collembola no respondieron positivamente a la DIRC. Se concluye que la DIRC produce cambios en la mesofauna edáfica después de un ciclo de rotación de 3 años, aumentando la abundancia de algunos grupos esenciales para la descomposición de los rastrojos y el reciclado de nutrientes del suelo, como los ácaros oribátidos.

**Palabras claves:** siembra directa- rotación de cultivos- mesofauna

## INTRODUCCIÓN

En el marco de la agricultura convencional con siembra directa, recientemente se ha propuesto que la diversificación e intensificación de las rotaciones de cultivos (DIRC) reduce el impacto negativo de la siembra directa con tendencia al monocultivo sobre el suelo. La DIRC en siembra directa, consiste en incluir un mayor número de cultivos diferentes por año, para incrementar el rendimiento de los cultivos y el aporte de carbono por unidad de área (Caviglia & Andrade, 2010). Tal intensificación puede ser medida mediante índices de intensidad de rotaciones (Agosti *et al.*, 2016).

La mesofauna edáfica, con un diámetro corporal de 0.1 a 2 mm y compuesta principalmente por ácaros (Acari) y colémbolos (Collembola), participa directa e indirectamente en procesos ecosistémicos importantes, como la descomposición de la materia orgánica y el reciclado y redistribución de nutrientes, y cataliza la actividad microbiana mediante el consumo de hongos y bacterias (Lavelle & Spain, 2003). Una mayor rotación de cultivos producto de la DIRC, podría favorecer la diversidad de la mesofauna al aumentar la cantidad de biomasa vegetal y la heterogeneidad de residuos vegetales, brindando un hábitat más estable y regulado para refugio y alimentación (Hansen, 2000).

La DIRC es una propuesta relativamente reciente, cuya sustentabilidad económica está siendo puesta a prueba, y cuyo impacto en la sustentabilidad ambiental resulta necesario evaluar.

**Objetivo:** Analizar el efecto de la diversificación e intensificación de las rotaciones de cultivos en siembra directa, sobre la abundancia de la mesofauna edáfica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### ÁREA DE ESTUDIO Y DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

Se seleccionaron tres establecimientos privados, La Matilde, San Nicolás y Las Matreras, ubicados al noroeste de la provincia de Buenos Aires, próximos a la localidad de Pergamino, para desarrollar el presente estudio. Los lotes dentro de cada establecimiento están sobre una misma Serie de suelo según la clasificación del USDA (Soil Survey Staff, 2014): establecimiento San Nicolás, suelo Argiudol vértico, Serie Peyrano; establecimiento La Matilde, suelo Argiudol típico, Serie Rojas y establecimiento Las Matreras, suelo Argiudol típico/Paleudol,

Serie Rio Tala. En cada uno de los establecimientos, un lote de historia de uso único y homogéneo, fue dividido en 4 lotes menores, iguales entre sí, de 10 a 25 hectáreas según el establecimiento, en los que se instaló un ensayo para evaluar rotaciones de diferente intensidad, con ciclos de 3 años, evaluadas mediante índices de intensidad de rotación (IIR). Se realizaron los siguientes tratamientos (Figura 1): rotación típica (RT); rotación alta con leguminosa (RL); rotación alta con gramíneas (RG) y pastura (PA). Además, en cercanías a cada establecimiento se muestrearon dos sistemas de referencia, un control de mínima rotación, monocultivo de soja (MC), y un ambiente natural o mínimamente disturbado (NA). Es decir, que en cada establecimiento se tomaron muestras en seis lotes, totalizando 18 sitios muestreados. En la Tabla 1 se muestran los 5 tratamientos agrícolas (RT, RL, RG, PA, MC), muestreados en cada establecimiento, con su correspondiente IIR, porcentaje de gramíneas, y rotación de cultivos. El IIR fue calculado según Agosti et al. (2016) con la siguiente fórmula:  $IIR \text{ (días/año)} = \text{días de cultivos (Emergencia-Madurez fisiológica)} / \text{días totales de rotación}$ . Se utiliza el período de la emergencia del cultivo a la madurez fisiológica del mismo, dado que estima el aporte de carbono al suelo, ya que en este periodo el cultivo realmente produce biomasa.

#### MUESTREO DE LA MESOFAUNA

En cada uno de los 18 sitios muestreados, se extrajeron cinco muestras de suelo de 5 cm de profundidad y 5 cm de diámetro, que fueron separadas en hojarasca y 0-5cm. Las muestras fueron transportadas al laboratorio y procesadas en el sistema Berlese durante una semana, para extraer los organismos. Los especímenes fueron fijados en alcohol al 70% y contados mediante lupas binoculares. Para esta primera contribución, se identificaron colémbolos, a nivel de Orden y los ácaros fueron identificados en Orden Mesostigmata, Suborden Oribatida (Orden Sarcoptiformes), Suborden Prostigmata (Orden Trombidiformes), y la Cohorte Astigmata (incluida actualmente en el Suborden Oribatida).

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

Se construyó un modelo lineal generalizado mixto (Zuur *et al.*, 2009) *para evaluar la significancia de las diferencias en la abundancia de los grupos taxonómicos principales de ácaros y del Orden Collembola entre los niveles de DIRC, para cada uno de los establecimientos por separado, utilizando como factor fijo los tratamientos y como factor aleatorio las muestras tomadas en cada uno de los lotes.*

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los tres establecimientos los ácaros oribátidos presentes en las muestras de la hojarasca respondieron positivamente a la intensificación y diversificación de las rotaciones de cultivos (Figura 2). En general presentaron mayor abundancia en los dos tratamientos con mayor diversidad e intensidad de rotaciones (RL y RG), equiparable a la abundancia del suelo natural y significativamente superior a la del monocultivo y la rotación típica. Esto podría estar asociado a la mayor heterogeneidad de los rastrojos, producto de la diversificación de cultivos, lo cual genera una mayor disponibilidad de microhábitats para los ácaros (Hansen & Coleman, 1998; Hansen, 2000). El incremento en la biomasa de residuos vegetales aportados por los cultivos de cobertura, genera mayor disponibilidad de alimento y mayor superficie para colonización de hongos y bacterias, lo cual podría favorecer el incremento de la abundancia de oribátidos por sus hábitos tróficos detritívoros y fungívoros (Coleman *et al.*, 2004). *De esta manera se promovería el proceso de descomposición por trituración e incorporación de materia orgánica (ej. González & Seastedt, 2000). En el suelo mineral (0-5cm) se obtuvo una respuesta similar a la hojarasca, a excepción del establecimiento San Nicolás, donde la mayor abundancia de oribátidos se encontró en la rotación típica. En los tres establecimientos, el sitio natural presentó mayor abundancia en esta profundidad. En esta contribución aún no se ha avanzado con la determinación taxonómica de las especies que componen al Suborden Oribatida, por lo que en estudios posteriores a este nivel se espera poder profundizar las tendencias observadas en el presente trabajo.*

*El Orden Mesostigmata (Figura 3), presentó en general, abundancias menores que Oribatida en los tres establecimientos. Se observó un efecto positivo de la intensificación y diversificación de las rotaciones en las muestras de hojarasca del establecimiento La Matilde y en muestras de suelo mineral de Las Matreras. En las muestras de suelo de La Matilde, los mayores valores de abundancia podrían estar asociados con la abundancia de colémbolos en los mismos tratamientos, ya que estos ácaros son predadores principalmente de colémbolos y nematodos. La importancia funcional de este grupo en los agroecosistemas, es principalmente el control de poblaciones plagas, como nematodos y larvas de insectos, que podrían perjudicar los cultivos (Koehler, 1999).*

El Suborden Prostigmata (Figura 4) no mostró un efecto significativo de la DIRC en ninguno de los tres establecimientos, para ninguna de las dos profundidades. En general la abundancia de este grupo fue mayor en los sitios naturales, en todos los casos, pero con respecto a las distintas intensificaciones no se observó un patrón determinado. Estos resultados podrían asociarse a que dentro de este Suborden existe heterogeneidad en lo que respecta a historia de vida y

hábitos tróficos (Kethley, 1990) y por lo tanto existen taxones que responden de manera diferencial ante los cambios producto de la DIRC.

La abundancia de colémbolos (Figura 5) no mostró una respuesta positiva a la diversificación e intensificación de las rotaciones. En la hojarasca, en San Nicolás y La Matilde, la menor abundancia se observó en la pastura y no hubo diferencias entre los niveles de DIRC. En Las Matreras, en cambio, se observó un efecto positivo de la rotación alta con leguminosa (RL) sobre la abundancia de colémbolos. Los mayores valores de abundancia encontrados en la profundidad 0-5cm, en los sitios que presentaban como cultivo en pie a la soja, probablemente se asocien con una única familia o especie que podría estar beneficiándose por estos cultivos.

## **CONCLUSIÓN**

Los ácaros oribátidos fueron los más abundantes y los que mejor respondieron a la diversificación e intensificación de las rotaciones de cultivos, en la hojarasca y el suelo. Estos ácaros participan activamente en el proceso de descomposición de los rastrojos por trituración e incorporación de materia orgánica y por lo tanto favorecen el reciclado de nutrientes. Por lo tanto, se puede concluir que la DIRC ha producido cambios en la mesofauna del suelo después de un ciclo de rotación de sólo 3 años, promoviendo un aumento de la abundancia de organismos esenciales para la descomposición y reciclado de nutrientes del suelo.

## **FINANCIACIÓN**

El presente trabajo fue financiado por proyectos de la SECyT-UNRC, UNQ (Proyecto Spott), y el CONICET.

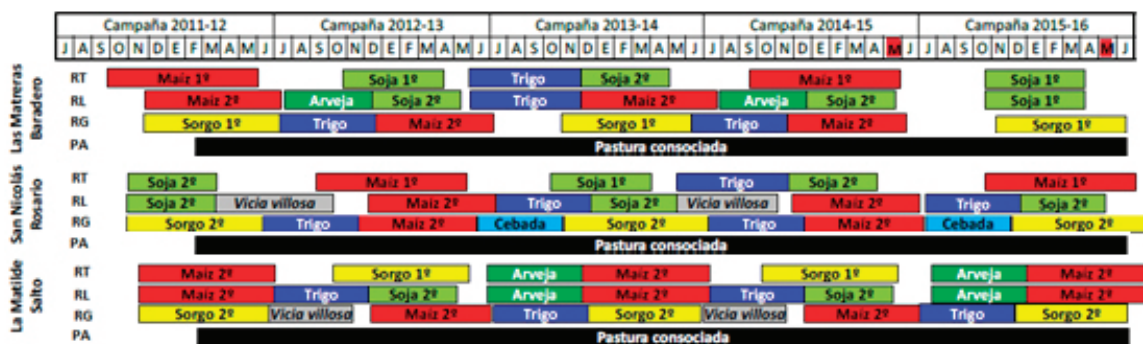
## **BIBLIOGRAFÍA**

- Agosti, M. B.; Madias, A.; Gil, R.; Staffolani, J.; Weil, M.; Barberis, S.; Ferraris G.; Salvagiotti, F.; Romaniuk, R.; Wall, L. (2016). Informe anual de resultados campaña 2015-16 -Chacra Pergamino. *INTA*.
- Caviglia, O. P., & Andrade, F. H. (2010). Sustainable intensification of agriculture in the Argentinean Pampas: capture and use efficiency of environmental resources. *Am. J. Plant Sci. Biotechnol*, 3, 1-8.
- Coleman D, D. Crossley Jr. & P. Hendrix. (2004). *Fundamentals of Soil Ecology*. Elsevier Academic Press. pp: 187-226.



- González, G., & Seastedt, T. R. (2000). Comparison of the abundance and composition of litter fauna in tropical and subalpine forests. *Pedobiologia*, 44(5), 545-555.
- Hansen, R. A. (2000). Effects of habitat complexity and composition on a diverse litter microarthropod assemblage. *Ecology*, 81(4), 1120-1132.
- Hansen, R. A., & Coleman, D. C. (1998). Litter complexity and composition are determinants of the diversity and species composition of oribatid mites (Acari: Oribatida) in litterbags. *Applied Soil Ecology*, 9(1), 17-23.
- Koehler, H. (1999). Predatory mites (Gamasina Mesostigmata). *Agric. Ecosyst. Environ.* 74, 395-41
- Kethley, J. (1990). Acarina: prostigmata (Actinedida). In: Dindal, D.L. (Ed.), *Soil Biology Guide*. John Wiley & Sons, New York, pp.667-756.
- Lavelle, P. & Spain, A.V. (2003). *Soil Ecology*. Kluwer Academic Publishers. 654 pp.
- Soil Survey Staff (2014) *Keys to soil taxonomy*, 12th edn. USDA-NRCS. US Gov. Print. Office, Washington, DC
- Zuur A, Ieno E Walker N Saveliev A Smith G. (2009). *Mixed Effects Models and Extensions in Ecology with R*. Springer. 548pp.

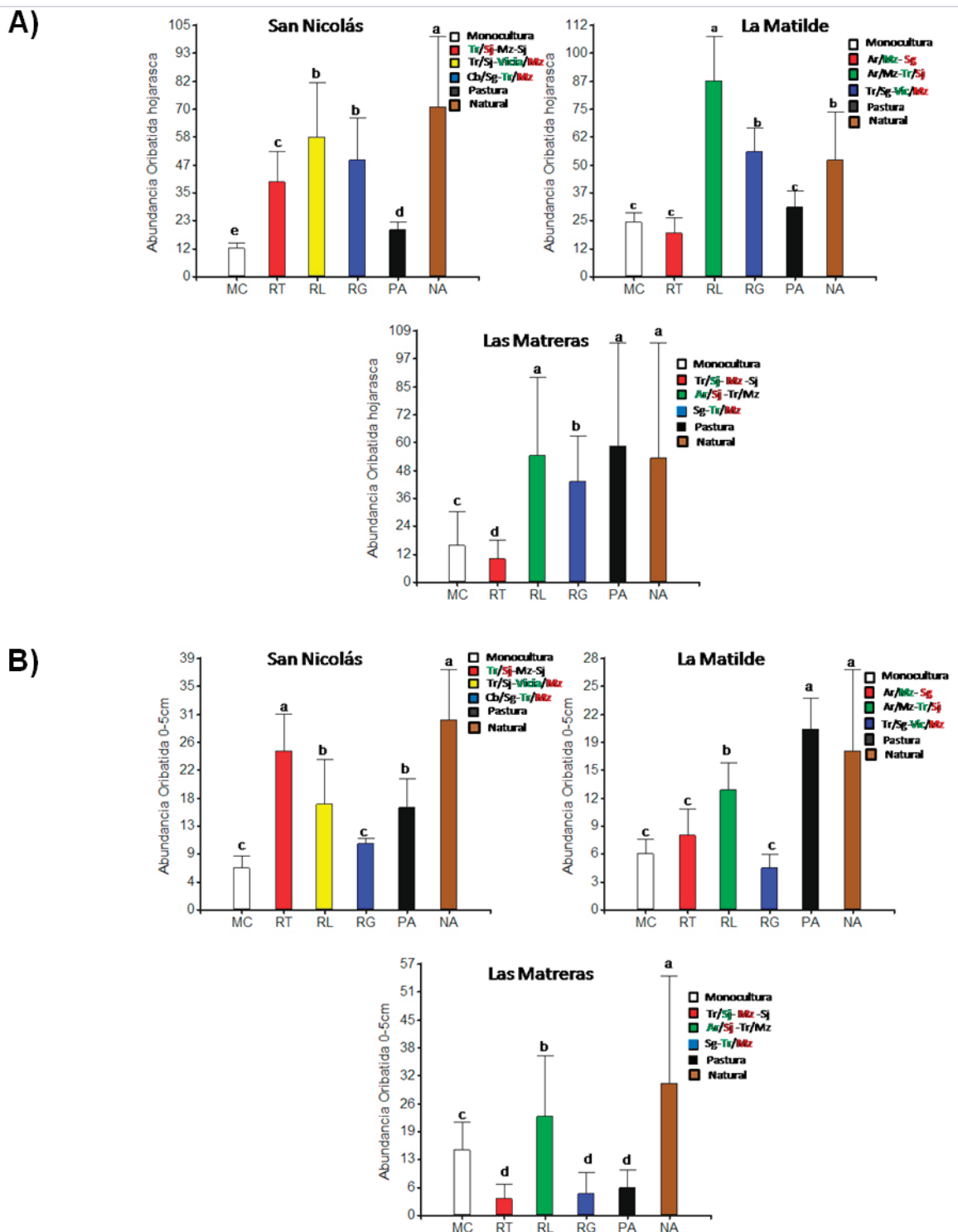
**Figura 1.** Rotaciones presentes en los tres establecimientos estudiados desde el inicio del ensayo de DIRC. En la línea superior se marca con rojo el mes de Mayo de 2015, en el que se realizó el muestreo en cada establecimiento. RT: rotación típica; RL: rotación alta con leguminosas; RG: rotación alta con gramíneas; PA: Pastura.



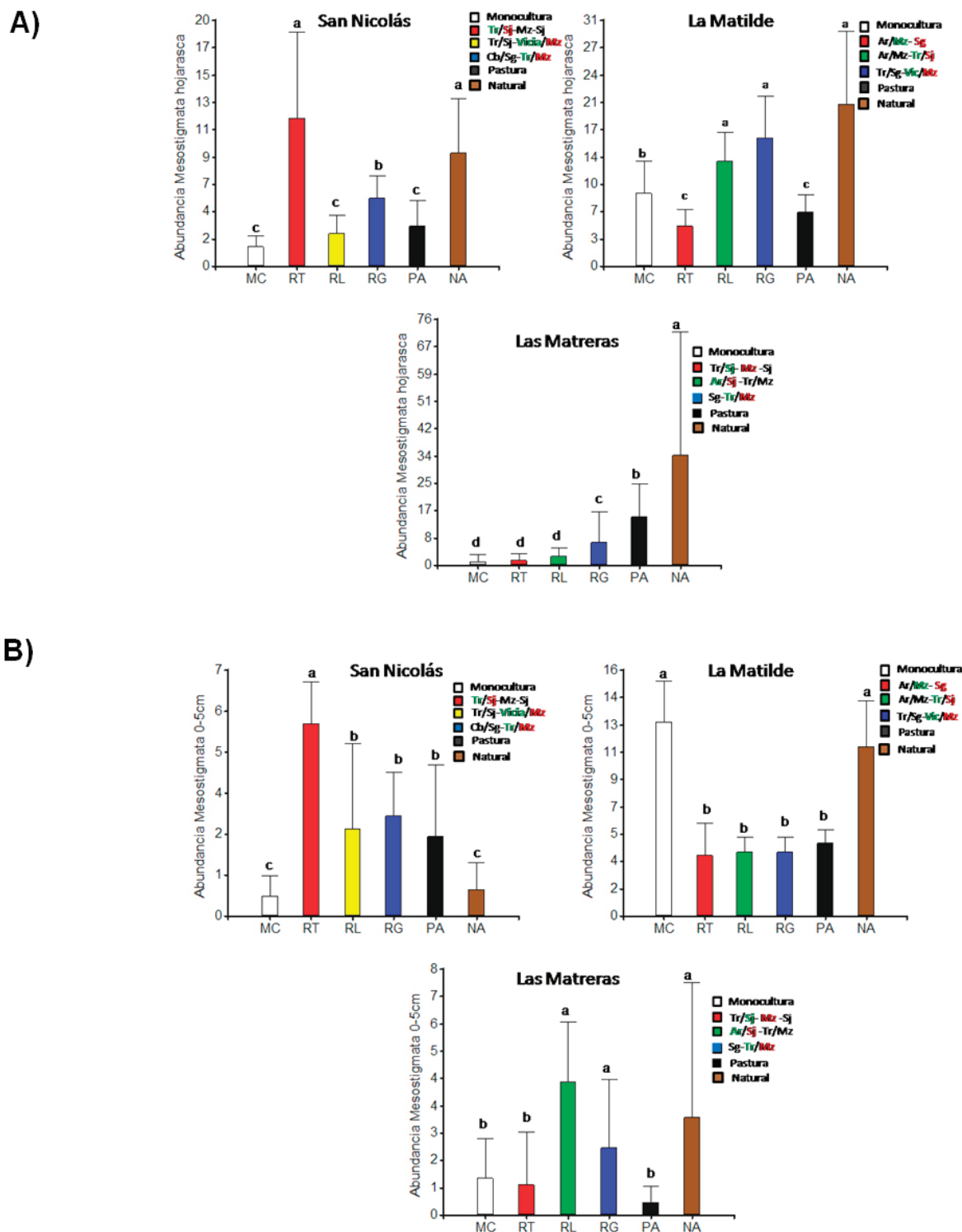
**Tabla 1. Índice de intensificación (IIR**, varía de 0 a 1 dónde 0 significa ausencia de cultivo, y 1 presencia de cultivo continua) y porcentaje de gramíneas (% Gram) de cada rotación en los cuatro establecimientos. **Tr**: trigo (*Triticum aestivum*); **Sj**: soja (*Glycine max*); **Mz**: maíz (*Zea mays*); **Ar**: arveja (*Pisum sativum*); **Cb**: cebada (*Hordeum vulgare*); **Sg**: sorgo (*Sorghum vulgare*); **Vic**: vicia (*Vicia villosa*). **Cebadilla criolla** (*Bromus unioloides*), **trébol blanco** (*Lolium multiflorum*), **alfalfa** (*Medicago sativa*); **festuca** (*Festuca arundinacea*).

Establecimiento	Rotación	Cultivos	IIR	% Gram
Las Matreras	Rotación típica	Tr/Sj- Mz -Sj	0,43	50%
	Rotación alta con leguminosa	Ar/Sj -Tr/Mz	0,54	50%
	Rotación alta con gramínea	Sg-Tr/Mz	0,50	100%
	Monocultivo	Sj	0,34	0%
	Pastura consociada	festuca, cebadilla, alfalfa y trébol blanco	1	50%
San Nicolás	Rotación típica	Tr/Sj-Mz-Sj	0,43	50%
	Rotación alta con leguminosa	Tr/Sj-Vic/Mz	0,71	50%
	Rotación alta con gramínea	Cb/Sg-Tr/Mz	0,66	100%
	Monocultivo	Sj	0,34	0%
	Pastura consociada	festuca, cebadilla y alfalfa	1	50%
La Matilde	Rotación típica	Ar/Mz- Sg	0,51	67%
	Rotación alta con leguminosa	Ar/Mz-Tr/Sj	0,68	50%
	Rotación alta con gramínea	Tr/Sg-Vic/Mz	0,68	75%
	Monocultivo	Sj	0,34	0%
	Pastura consociada	festuca y alfalfa	1	50%

**Figura 2.** Abundancia del Suborden Oribatida en los tres establecimientos, en hojarasca (A) y (B) en suelo (0-5 cm). Letras diferentes indican diferencias significativas,  $p < 0.05$ . Se señalan con letra en color verde los cultivos antecesores y con letra en color rojo los cultivos presentes en el momento de muestreo. (MC: monocultivo; RT: rotación típica; RL: rotación alta con leguminosa; RG: rotación alta con gramíneas; PA: pastura; NA: natural)

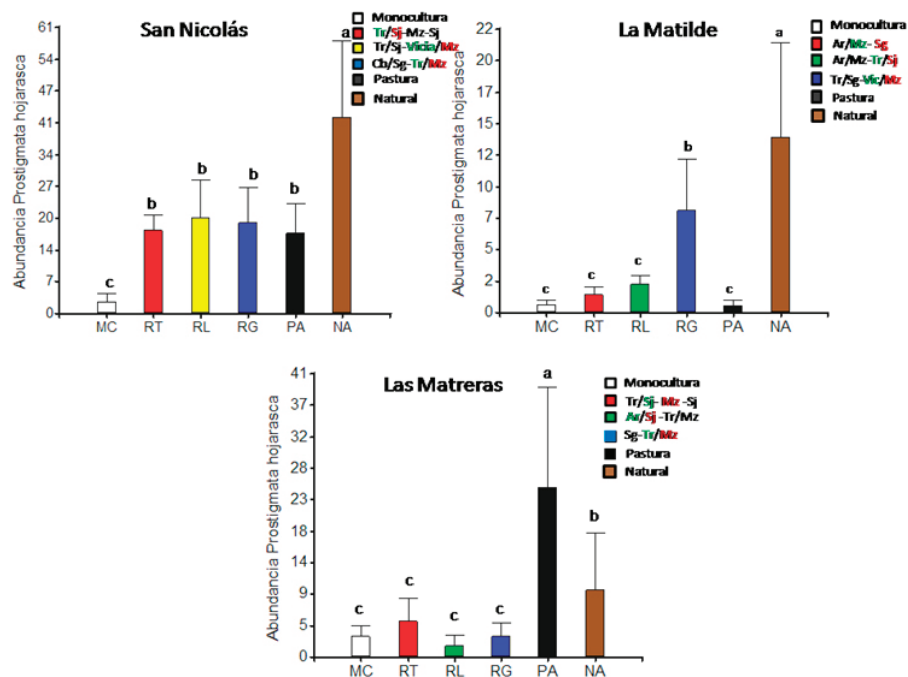


**Figura 3.** Abundancia del Orden Mesostigmata en los tres establecimientos, en hojarasca (A) y (B) suelo (0-5 cm). Letras diferentes indican diferencias significativas  $p < 0.05$ . Se señalan con letra en color verde los cultivos antecesores y con letra en color rojo los cultivos presentes en el momento de muestreo. (MC: monocultivo; RT: rotación típica; RL: rotación alta con leguminosa; RG: rotación alta con gramíneas; PA: pastura; NA: natural)

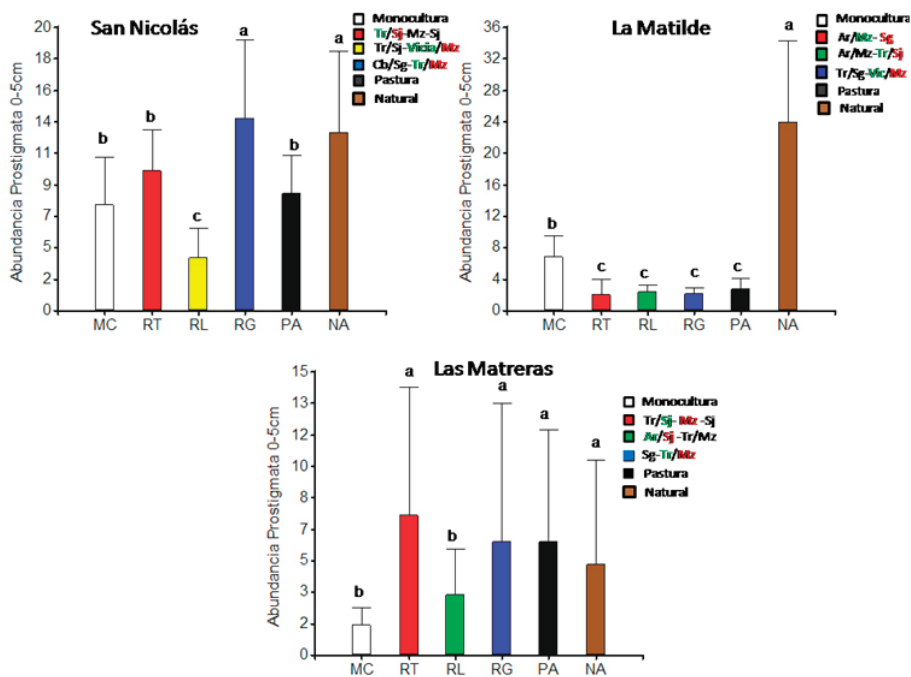


**Figura 4.** Abundancia del Suborden Prostigmata en los tres establecimientos, en hojarasca (A) y (B) suelo (0-5 cm). Letras diferentes indican diferencias significativas  $p < 0.05$ . Se señalan con letra en color verde los cultivos antecesores y con letra en color rojo los cultivos presentes en el momento de muestreo. (MC: monocultivo; RT: rotación típica; RL: rotación alta con leguminosa; RG: rotación alta con gramíneas; PA: pastura; NA: natural).

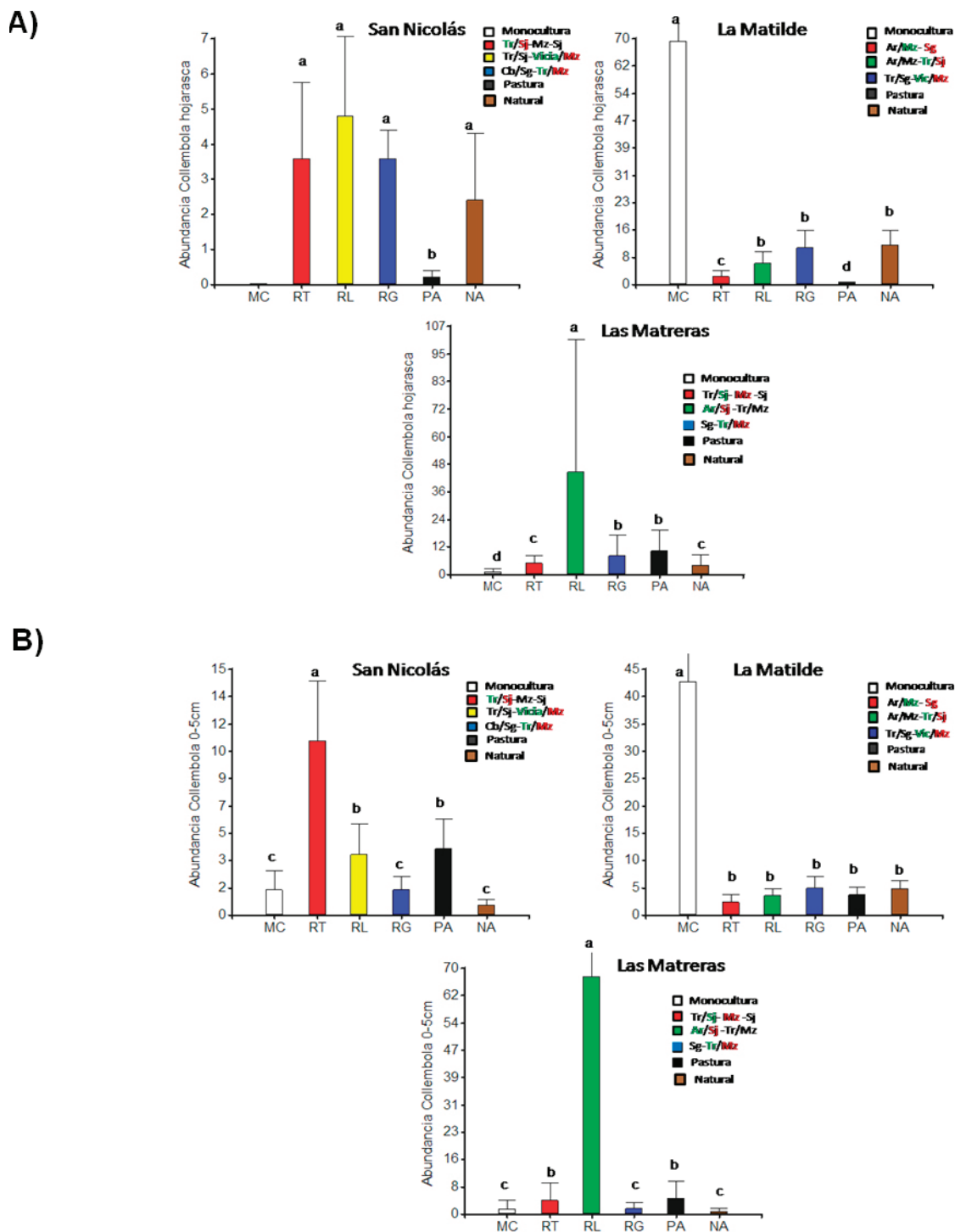
A)



B)



**Figura 5.** Abundancia del Orden Collembola en los tres establecimientos, en hojarasca (A) y (B) suelo (0-5 cm). Letras diferentes indican diferencias significativas  $p < 0.05$ . Se señalan con letra en color verde los cultivos antecesores y con letra en color rojo los cultivos presentes en el momento de muestreo. (MC: monocultivo; RT: rotación típica; RL: rotación alta con leguminosa; RG: rotación alta con gramíneas; PA: pastura; NA: natural)



## **IMPACTO DE LAS CANTERAS DE EXTRACCIÓN DE ÁRIDOS SOBRE LA COMUNIDAD DE HORMIGAS, EN ESQUEL, CHUBUT, PATAGONIA ARGENTINA**

*Pereda Gomez Marcelo Ezequiel (1), Pesacq Pablo (1), Elizalde Luciana (2) y Rizzuto Susana (3)*  
*1 CIEMEP, UNPSJB, Roca 780, Esquel.Chubut 2 Laboratorio de Ecotono, Pja*  
*Guitierrez 1125, Bariloche, Rio Negro 3LIEB, Fac. Cs. Naturales. UNPSJB Km.4.*  
*9000 Esquel, Chubut.*

### **RESUMEN**

La actividad asociada a las canteras de extracción de áridos genera un disturbio de gran magnitud, que impacta sobre los ecosistemas en diversas regiones del mundo, afectando a los suelos y sus organismos. Las hormigas (Hymenoptera, Formicidae) son un grupo exitoso, tanto ecológica como evolutivamente, gracias a sus conductas eusociales muy desarrolladas que permiten que se adapten a una amplia gama de nichos en el suelo y la vegetación. En muchos casos son utilizadas para indicar calidad ambiental en ecosistemas degradados. El objetivo de este trabajo fue evaluar el impacto del disturbio generado por la actividad de extracción de áridos en las comunidades de hormigas. El sitio de estudio se ubicó en Esquel, Chubut. Las hormigas fueron muestradas durante la estación de verano con trampas de caída, en sitios control (alejados al menos 50 m de las canteras) y sitios disturbados por la actividad de la cantera. A partir de estos datos se calcularon los valores de incidencia, diversidad, dominancia y riqueza específica. Además se midieron distintas variables de suelo (cobertura vegetal, textura, etc.), que afectan a las hormigas. La mayor diversidad de hormigas fue en los sitios controles con respecto a los disturbados, mientras que la dominancia fue mayor en los sitios disturbados. Estos últimos fueron dominados por una sola especie: *Dorymyrmex tener*. Por lo tanto, la actividad de las canteras afecta al desarrollo de la comunidad de hormigas, reduciendo su diversidad. En estudios posteriores se podría determinar la naturaleza bioindicadora de *D. tener*, y el rol que ocupa en los procesos de regeneración vegetal.

**Palabras clave:** Disturbio, Diversidad, Ecotono.

### **INTRODUCCIÓN**

La actividad de las canteras de extracción de áridos produce una degradación que afecta severamente al suelo y los organismos, y las posibilidades de recuperación natural son escasas (Ciano *et al.*, 2003; Rack *et al.*, 2011; Ferro *et*

*al.*, 2013). Modificando la composición y textura del suelo, además de disminuir casi a cero la cobertura vegetal, impidiendo su establecimiento natural (Ciano *et al.*, 2003).

La familia Formicidae (las hormigas) es un grupo exitoso, tanto ecológica como evolutivamente, gracias a sus conductas eusociales, permitiendo que se adapten a una amplia gama de nichos en el suelo y a variados tipos de vegetación (Hölldobler & Wilson, 1990; Fernández, 2003). Sin embargo, la diversidad de las hormigas decae en comunidades bajo impacto (Andersen, 1993; Andersen *et al.*, 2003, Farji-Brener *et al.*, 2002; Sackman *et al.*, 2005). Por lo tanto, los factores más importantes que regulan estas comunidades son la composición y estructura vegetal y también la estructura y composición del suelo (Andersen, 2000). En el noroeste de la región patagónica se encuentran dos tipos de ecosistemas: la estepa y el bosque andino. Ambas regiones poseen una gran diferencia entre la flora y fauna (Cabrera, 1971). Entre ambas, existe una región de transición llamada ecotono. Dando por resultado una fauna de hormigas mixta (Kusnezov, 1953; Fergnani *et al.*, 2013).

En cuanto al impacto de la cantera, es de esperarse que este disturbio afecte al desarrollo de las comunidades de hormigas, visualizándose en el cambio de los atributos de la comunidad de hormigas en los sitios disturbados.

El objetivo de este trabajo es evaluar el impacto del disturbio generado por la actividad de extracción de áridos en las comunidades de hormigas, identificando y explicando las variaciones que presentan las comunidades en los sitios disturbados con respecto a los sitios controles.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

El área de estudio está ubicada en el ejido Municipal de la Ciudad de Esquel, en el noroeste de Provincia de Chubut (42° 55' S, 71° 19' O). Allí se seleccionaron dos canteras inactivas: "Arroyo Seco" y la "Vía" (Imagen I). Los sitios de estudio se comprenden entre dos áreas biogeográficas: la Subregión Subantártica y la Subregión Patagónica (Morrone, 2006).

En cada cantera se determinaron dos tratamientos; área disturbada y un área control adyacente. Arroyo Seco fue designado el tratamiento: disturbio (SDI) y el tratamiento control (SCI) y en la Vía, el tratamiento disturbio (SDII) y el control (SCII) (Imagen II y III). Dentro de cada tratamiento se establecieron 7 sitios, cada uno definido como un punto de muestreo y se ubicaron separados entre sí por más de 50 m. Se dispusieron cinco trampas de caída: cuatro ubicadas en cada extremo de un cuadrángulo de 10m x 10m, y una quinta en el centro. En cada trampa se rellenó con propilenglicol al 40%, diluido en agua, y unas gotas de detergente sin olor. Este método de captura es el adecuado para muestrear artrópodos que viven en el suelo, por lo tanto es conveniente la capturar las



hormigas de esta región, porque habitan en el suelo (Fernández, 2003; Cheli & Corley, 2010). El muestreo se realizó durante febrero del 2015, y las trampas de caída estuvieron en el campo durante una semana, de manera simultánea. Todos los organismos que cayeron en las trampas fueron colectados a partir de colar las muestras, para luego ser rotuladas y conservadas en alcohol al 70%. Las hormigas se identificaron a nivel de especie utilizando las claves disponibles (Kusnezov, 1978; Fernández, 2003). La incidencia se calculó como:

$$\frac{\Sigma \text{ Sitios por tratamiento donde apareció la especie}}{\Sigma \text{ Sitios por tratamiento}} \times 100$$

se estimó la riqueza específica por medio del índice de Chao 2, utilizando el programa EstimateS versión 9.1.0 (Colwell, 2013), la diversidad de especies de hormigas se obtuvo por el índice de Shannon

$$(H = -\sum_{i=1}^s p_i \log_2 p_i)$$

y la dominancia por el índice de Simpson (**1-S**). Además se midieron distintas variables del suelo, que impactan a la comunidad de hormigas (Fernández 2003): porcentaje de suelo desnudo, humedad y temperatura promedio del suelo y porcentaje de grano fino y grueso de suelo, con la finalidad de evaluar cambios entre el disturbio y el control.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los sitios controles poseen una mayor diversidad y riqueza de especies que en los sitios disturbados (Tabla I). Mientras que el índice de dominancia de Simpson es mayor en los sitios disturbados con respecto a los controles (Tabla I). La incidencia en la mayoría de las especies fue mayor en los sitios controles, salvo para el caso de *Dorymyrmex tener* que fue mayor en los sitios disturbados (Grafico I).

Las variables de suelo fueron diferentes entre los tratamientos disturbios y control (Tabla II), por lo tanto la actividad de la cantera ha modificado los suelos, reduciendo la humedad, la cobertura vegetal, el grano fino y aumentando la temperatura y el grano grueso en el suelo.

La alteración en las comunidades de hormigas presente en las áreas disturbadas se vincula con la modificación de las variables ambientales y edáficas medidas. La reducción de la vegetación estuvo relacionada con la disminución en la diversidad de hormigas, la vegetación más presente en los sitios controles fue la nativa, y la baja presencia en los sitios disturbados afectó directamente a especies granívoras de *Pogonomyrmex* o aquellas que habitan ambientes sombreados como *Lasiophanes*.

En cuanto a la temperatura, aunque en los sitios disturbados se registraron mayores temperaturas. Si bien esto beneficia al desarrollo de las hormigas

(Fernández, 2003), en este estudio la relación parece ser inversa. Posiblemente el aumento de temperatura esté vinculado con la baja cobertura vegetal y humedad. En cuanto al mayor porcentaje de grano grueso en los sitios disturbados, el mismo no facilitaría el desarrollo de algunas especies, por lo tanto el establecimiento de formícidos se da generalmente en suelos con textura granulométrica baja, como los arenosos o arcillosos, que son más aptos para la elaboración de túneles, mientras que en los suelos de textura granulométrica gruesa la productividad decae abruptamente (Andersen, 2000). La gran presencia de *D. tener* es debido a que es una especie que vive en sitios abiertos y de baja cobertura vegetal (Kusnesov, 1953; Farji-Brenner *et al.*, 2002), y se desarrolla exitosamente en lugares que otras especies no colonizan (Bestemeyer, 1997).

## CONCLUSIONES

En estudios posteriores se podría determinar la naturaleza bioindicadora de *D. tener*, y el rol que ocupa en los procesos de regeneración vegetal. En cuanto a las demás especies identificadas, están ligadas a lugares vegetados, donde tienen mayor disponibilidad de recursos (Kusnesov, 1953; Andersen, 2000). En otras publicaciones, algunas especies como *Camponotus distinguendus*, *Pogonomyrmex angustus* y *Lasiophanes* sp., fueron sugeridas como especies de monitoreo sobre matorrales en proceso de recuperación (Farji Brenner *et al.*, 2002). Como en estudios anteriores, se observa que la reducción de la estructura vegetal simplifica la diversidad de hormigas e incrementa la dominancia de especies tolerantes al estrés (Bestemeyer & Wiens, 1996; Bestemeyer, 1997; Farji Brenner *et al.*, 2002). En el caso de las canteras, las especies presentes podrían estar cumpliendo ese rol. Por lo tanto habría que evaluar el papel de estas especies de formícidos en la regeneración de estos ambientes.

**Institución financiadora:** CIEMEP-UNPSJB, Laboratorio de Ecotono-UNC y LIEB-UNPSJB.

## BIBLIOGRAFÍA

- Andersen A. N. 1993. Ants as Indicators of Restoration Success at a Uranium Mine in Tropical Australia. Society for Ecological Restoration.156-167. Australia.
- Andersen A. N. 2000. Global Ecology of Rainforest Ants: Functional Groups in Relation to Environmental Stress and Disturbance. Smithsonian Institution. USA.

- Andersen A. N., Hoffmann B.D, Somes J. 2003. Ants as indicators of minesite restoration: community recovery at one of eight rehabilitation sites in central Queensland. *Ecological Management & Restoration* Vol. 4.12-19. Australia.
- Bestelmeyer, B.T & Wiens, J.A. 1996. The effects of land use on the structure of ground-foraging ant communities in the Argentine Chaco. *Ecological Applications*, 6 (4), p 1225-1240. Ecological Society of America.
- Bestelmeyer, B.T. 1997. Stress tolerance in some Chaco and Dolichoderine ants: implications for community organization and distribution. *Journal of Arid Environments*: 297-310.
- Cabrera, A. L. 1971. Fitogeografía de la República Argentina. *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica*, Vol. XIV, N° 1-2. 40.
- Ciano, N, V. Nakamatsu, J. Luque, C. Vicente & C. Lisoni. 2003. Plan de abandono de canteras y picadas en la Cuenca del Golfo San Jorge – Patagonia Argentina. *Quinta Jornadas de Preservación de Agua, Aire y Suelo en la Industria del Petróleo y del Gas*. Mendoza.
- Cheli H.G & Corley J.C. Efficient Sampling of Ground-Dwelling Arthropods Using Pitfall Traps in Arid Steppes. 2010. *Neotropical Entomology*. Vol. 39(6): 912-917.
- Colwell R.J. EstimateS 9.1.0 User's Guide. 2013. Department of Ecology & Evolutionary Biology, University of Connecticut, Storrs, CT 06869-3043, USA.
- Farji-Brener A. G., Corley J.C, Bettinelli J. 2002. The effects of fire on ants communities in north-western Patagonia: the importance of habitat structure and regional context. *Blackwell Science Ltd*. Vol. 8, 235-243.
- Fernani P. N., Sackmann P., Ruggiero A. 2013. The spatial variation in ant species composition and functional groups across the Subantarctic-Patagonian transition zone. *Journal of Insect Conservation* Vol. 17: 295–305.
- Fernández F. (ed.). 2003. *Introducción a las Hormigas de la región Neotropical*. Instituto de Investigación de Recursos Biológicos Alexander von Humboldt, Bogotá, Colombia. XXVI. 398 pp. 41.
- Ferro L. F., M. F. Valenzuela, S. Rizzuto, O. Troncoso, M. Tarabini, F. Gomez. 2013. Caracterización ambiental de una ex cantera de áridos en el ejido municipal de Esquel, Chubut. III Congreso Nacional de Ecología y Biología de Suelos. CONEBIOS III. Río Cuarto, Córdoba.
- Hölldobler, B. & Wilson, E. 1990. *The Ants*. Harvard University Press. USA. 746 pp.

Kusnezov, N. 1953. Las hormigas en los parques nacionales de la Patagonia y problemas relacionados. Anales del museo Nahuel Huapi. 105-125.

Kusnezov, N. 1978. Hormigas argentinas: clave para su identificación. Miscelánea. Instituto Miguel Lillo 61:1-147 + 28 pl.

Morrone, J.M. 2005. Biogeographic areas and transition zones of Latin America and the Caribbean Islands based on panbiogeographic and cladistic analyses of the entomofauna. Annual Review of Entomology . Vol. 51:467-94.

Rack M., Ocampo S.M., Castro I., Valenzuela M. F. 2011. Relevamiento preliminar del estado ambiental actual de las canteras de aridos en Comodoro Rivadavia. Párrafos Geograficos Vol. 10, N° 1.

Sackmann P & Fargi-Brener A.G. 2006. Effect of fire on ground beetles and ant assemblages along an environmental gradient in NW Patagonia: Does habitat type matter? *Ecoscience*, 13(3):360-371.

## TABLAS Y/O FIGURAS

**Imagen I:** Fotografía satelital de la localidad de Esquel y la ubicación de las dos canteras.



**Imagen II** (izq.): Muestras con los organismos colectados durante el muestreo. Se observan las hormigas. **Imagen III** (der): *D. tener*, la especie más presente en los sitios disturbados.



**Imagen IV:** *L. picinus*

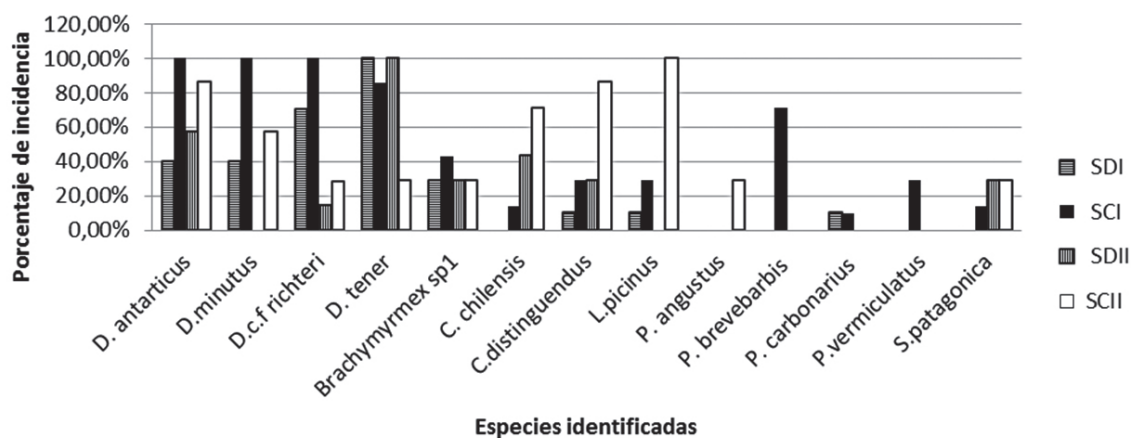


**Imagen V:** *C. chilensis*



**Grafico I.** Porcentaje de Incidencia de especie por tratamientos

### Porcentaje de Incidencia de especie por tratamientos



**Tabla I.** Atributos de la comunidades de hormigas medidas por cada tratamiento.

Atributos medidos	SDI	SCI	SDII	SCII
Riqueza estimada promedio	7	11	6	9
Índice de Shannon promedio	0,27	1,31	0,31	1,76
Índice de Simpson promedio	0,97	0,4	0,88	0,37

**Tabla II.** Variables de suelo medidas por cada tratamiento.

Variables medidas	SDI	SCI	SDII	SCII
Humedad promedio de suelo	2,26	7,10	1,92	7,04
Temperatura de suelo promedio	30,26	25,60	31,38	24,19
% de grano grueso de suelo	56,91	24,57	48,23	19,86
% de grano fino de suelo	43,09	75,43	51,77	80,14
% Cobertura de suelo desnudo	91,23	25,40	83,91	11,06

## ÍNDICES BIOLÓGICOS DE CONSERVACIÓN DEL USO DEL SUELO EN SISTEMAS FORESTADOS

Reynoso, Cristian; Nistal Ayelen; Falco Liliana  
Instituto de Ecología y Desarrollo sustentable (INEDES-CONICET)  
Programa de Investigación en Ecología Terrestre (PIET)  
Dpto. Cs. Básicas. Universidad Nacional de Luján  
creynoso86@outlook.es

### RESUMEN

Existen criterios para evaluar los cambios en el estado de conservación del suelo, y para ello se utilizan indicadores; atributos ecológicos sensibles al manejo y a las condiciones edafoclimáticas. La biota del suelo regula procesos fundamentales como la descomposición, mineralización y reciclaje de nutrientes e influye en la fertilidad, por lo que se considera un recurso que debe ser protegido y manejado adecuadamente. La mesofauna edáfica, se caracteriza por ser sensible a perturbaciones naturales y antrópicas, las cuales originan cambios en su composición específica y abundancia, conllevando a una disminución de la estabilidad y la fertilidad.

Nos propusimos comparar la biota edáfica en tres montes uniespecíficos coetáneos y contiguos de, *Eucalyptus sp.*, *Salix nigra* y *Quercus robur*, tras 25 años de su implantación. Desde el punto de vista edáfico la presencia de los montes no significó una pérdida de calidad de su condición inicial, por el contrario, los suelos incrementaron el contenido de materia orgánica, fósforo y reducción de la densidad aparente. Entre montes el cambio se observa en el contenido de fósforo y acidez del suelo. Respecto de la biota el análisis de beta diversidad nos permitió confirmar que las comunidades son diferentes. El análisis de la mesofauna muestra que los colémbolos son muy abundantes en el monte de *Salix* y en el de *Quercus*. Los ácaros lo son en el monte de eucalipto, representados oribátidos y astigmátas. El índice ácaros/colémbolos mostró que el sistema más perturbado es el eucalipto. Sin embargo al mejorar el análisis taxonómico de los ácaros los grupos presentes son indicadores de un sistema conservado. Si bien el trabajar con grupos de mayor nivel taxonómico nos permite contar con información biológica en un corto plazo de tiempo y es necesario complementarla con el análisis taxonómico de los ácaros. El componente biológico ve cambios en el sistema que el análisis clásico de los suelos no permiten detectar

**Palabras clave:** indicadores biológicos, beta diversidad.

## INTRODUCCIÓN

Desde el punto de vista biológico, los ácaros junto con los colémbolos, integrantes de la mesofauna, son muy abundantes y diversos en la mayoría de los suelos del mundo. Su importancia en un ecosistema edáfico radica principalmente en las funciones que realizan: fragmentación, reestructuración física de la materia orgánica por medio de la masticación, diseminación microbiana, mineralización del nitrógeno, ciclado de nutrientes, formación de agregados y capacidad de retención de agua (de Ruiter et al, 1998; Scheu, 2002) Todos estos son procesos fundamentales para mantener la productividad y funcionalidad del suelo. La biota participa de servicios ecosistémicos, se la considera un recurso que debe ser protegido y manejado adecuadamente, (FAO, 2013).

La mesofauna es considerada un buen indicador biológico del estado de conservación del suelo (Socorrás 2013). Pero su identificación taxonómica a nivel de especie es muy difícil. Algunos autores (Bedano et al. 2011; Socorrás 2013; Socorrás e Izquierdo 2014) han demostrado que el uso de grupos de mayor nivel taxonómico puede proporcionar información relevante sobre el estado del suelo. Esta información surge del comparar o analizar las proporciones (balance) de algunos grupos; grupos que presentan sensibilidad a los disturbios. Así, los colémbolos, son indicadores de estabilidad y contenido de materia orgánica. Son altamente sensibles a la variación de la humedad y al contenido de materia orgánica. Su abundancia se ve reducida en sistemas con alta dependencia de insumos. (Bedano et al. 2006; Chocobar 2010; Turnbull y Lindo 2015). Los ácaros también modifican su abundancia como respuesta a los disturbios (Bedano et al 2011; Socorrás, 2013). Mateos (Socorrás 2013) presenta la relación ácaros/ colémbolo como una relación que permite evaluar el grado de perturbación en áreas antropizadas. Cuando esta es favorable a los colémbolos, se considera que el ecosistema está conservado.

Pero entre los ácaros existe un comportamiento disímil a las prácticas de manejo según el suborden al cual pertenecen. Los Oribátidos y los Mesostigmata reacciona más sensiblemente a las prácticas agrícolas, que Prostigmata y Astigmata. Los dos últimos taxones incrementan su número.

Se han establecido relaciones entre los oribátidos (considerados indicadores de la estabilidad y fertilidad del suelo) y los astigmata (indicadores de ambientes edáficos perturbados), su balance oribatidos/astigmata es utilizado como indicador de calidad del suelo (Socorrás Izquierdo 2014). La relación Oribátidos / prostigmata permite conocer ambiente con altos niveles de materia orgánica y humedad (Socorrás 2013). Bedano et al. (2001) establecieron la relación Astigmata/Mesostigmata para predecir la inestabilidad del medio edáfico. Si hay abundancia del grupo del numerador (indicador de inestabilidad), se puede



inferir que el medio está alterado y perturbado. Bedano (2011) propone el índice (Oribatida + Mesostigmata) / (Prostigmata + Astigmata).

Dado que el uso de indicadores basados en taxones de alto nivel de la mesofauna brindan buena información del estado del suelo, es que nos proponemos como objetivo del trabajo comparar la biota edáfica en tres montes uniespecíficos coetáneos de *Eucalyptus spp.*, *Salix nigra*, y *Quercus robur*, tras 25 años de su implantación. La hipótesis de trabajo es que cada especie forestal influye, sobre la biota edáfica (mesofauna) a través de su hojarasca como de su rizosfera generando cambios tanto en las variables edáficas y en la disponibilidad de recursos. Estos cambios en las características del hábitat alteran la composición, abundancias y relaciones entre los grupos bióticos.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### SITIO DE ESTUDIO

Los relevamientos se realizaron en el *arboretum* ubicado en el campo experimental de la Universidad Nacional de Luján (UNLu). El clima local es subtropical húmedo, La ciudad recibe anualmente unos 1042 mm de precipitación. Los veranos son cálidos, con temperaturas medias de entre 20°C y 25°C, y las máximas promediando los 30°C. Los inviernos son templados y no tan lluviosos como los veranos, con temperaturas medias alrededor de los 10°C, y las mínimas promediando los 5° C (Área de Climatología UNLu).

El suelo sobre el cual se realizaron los respectivos muestreos es clasificado taxonómicamente como Argiudol típico (Sfeir 1980)

Se muestrearon durante los meses de octubre y noviembre tres montes contiguos y uniespecíficos del *arboretum*. Las especies seleccionadas son: *Salix nigra*, *Eucalyptus spp.* y *Quercus robur*. Las plantaciones se realizaron en 1990, siguiendo una distribución regular.

### MÉTODO DE MUESTREO

En el *arboretum* de la Universidad Nacional de Luján se tomaron muestras de cada ambiente, nueve en cada uno, con una separación de 30 metros de distancia abarcando toda la superficie de los montes implantados. La ubicación de las muestras permitió generar tres transectas (9 puntos por línea) desde el eucaliptal al sauzal. Las muestras se tomaron entre líneas de plantación. En cada estación de muestreo se colectó la hojarasca (0.0625 m<sup>2</sup>) colocándola en bolsas, con un cilindro de 264,938 cm<sup>3</sup> volumen se extrajo una muestra de suelo para poder obtener la densidad aparente (DAP) de cada una, además se tomaron alrededor de 200 gramos del mismo que fueron extraídos para análisis químicos. En cuanto a estos últimos se obtuvieron valores de materia orgánica

mediante el método de Walkley & Black (1965) y fósforo a través de Bray & Kurtz (1945), el pH y la conductividad eléctrica fueron determinados con peachímetro y conductímetro respectivamente.

Las muestras de hojarasca fueron colocadas en embudos, para que por medio del método de Berlese-Tullgren se extrajeran la fauna asociada, se conservaron en alcohol 70 y finalmente fueron identificados al nivel taxonómico de Familia y Subfamilia, utilizando claves dicotómicas (Momo y Falco, 2010; Dindal, 1990). Con los datos de riqueza y abundancia de la biota (macro + meso) se calcularon el índice de diversidad alfa (Shannon) y beta (Whittaker).

Con la información de la mesofauna, clasificada en colémbolo y ácaros (y en los subórdenes oribátidos; prostigmatas; mesostigmata y astigmata) se aplicaron las relaciones:

Ácaros/ Colémbolos; oribátidos/prostigmatas; oribátidos/astigmatas; astigmatas/mesostigmata y  $(\text{Oribatida} + \text{Mesostigmata}) / (\text{Prostigmata} + \text{Astigmata})$ .

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

A fin de determinar las diferencias en las variables edáficas resultado de la presencia de los montes, se utilizó el test no paramétrico Kruskal-Wallis ANOVA y un post hoc a fin de conocer las diferencias estadísticas entre grupos. Dichos análisis fueron realizados por medio del programa STATISTICA 12.5

## **RESULTADO Y DISCUSIÓN**

En la tabla 1, se detallan los valores del suelo de referencia (año 1989) y los valores actuales en los montes forestales. Las tres especies en estudio determinaron un incremento en el contenido de materia orgánica (3.3% a más del 5%), en fósforo disponible (2,9 ppm a más de 7 ppm) y una reducción de la densidad aparente ( $1,24 \text{ Kg}\cdot\text{m}^{-3}$  a  $1 \text{ Kg}\cdot\text{m}^{-3}$ ).

Al comparar las especies forestales entre sí encontramos diferencias significativas, en el contenido de fósforo; y en la acidez del suelo. La conductividad eléctrica y densidad aparente no presentaron diferencias estadísticamente significativas. El contenido de materia orgánica es alto en todos los montes, sin distinguirse uno del otro. Desde el punto de vista edáfico, el sauzal no se diferencia del suelo del robledal. El eucalipto se destaca por la disponibilidad de fósforo.

En cuanto a la biota, la diversidad alfa varía en el siguiente orden: 2 (eucalipto); 1,7 (robledal) y 1,2 (sauzal) sin mostrar diferencias significativas. Los montes comparten 12 taxas (ver cuadro 2). En macrofauna son comunes el orden Lepidoptera, Araneae; Apilioneae; la familia Armadillidiidae, Carabidae;

Formicidae; género *Styblus*. A nivel meso del sub orden Mesostigmata; de la familia Oppiidae; Hermanniidae; de la sub familia Onychiurina y de la especie *Entomobrya atrocinta*.

Sin embargo al analizar la diversidad beta (figura 1) encontramos diferencias entre los montes. El mayor recambio de taxas se da al pasar del eucaliptal al sauzal ( $B=0,9$ ) y del sauzal al robledal ( $B=0,8$ ). Esto demuestra cierta especificidad de los organismos presentes por las condiciones, tanto microambientales como por la hojarasca, correspondientes a cada monte forestal.

Una descripción mas detallada de los montes, revelan que el suelo del eucaliptal se distingue por el valor más alto de fósforo (14,6 ppm), quizás producto de la simbiosis con micorrizas. En cuanto a esto ultimo la acción beneficiosa de los hongos mutualísticos a sus macrosimbiontes y por tanto la importancia de la simbiosis micorrícica, se reflejaría en varios sentidos: aumento en la absorción de agua y nutrientes minerales, mayor crecimiento y supervivencia de la mayoría de plantas en campo, protección frente a infecciones de organismos patógenos y estrés ambiental (Hacska Ylo, 1967). La biota asociada a la hojarasca está conformada por 24 taxones (ver tabla 2). Dentro de la mesofuana los ácaros son mas abundantes (ver tabla 3). De tener en cuenta sólo la proporción de ácaros/colembolos (ver tabla 3) el sistema está perturbado (Socorrás, 2013). Sin embargo al utilizar la proporción oribátido vs astigmata la mayor abundancia del primero refleja un ambiente estable. Estos resultados se relacionan con lo observado por Socorrás (2013), que al mejorar el nivel taxonómico (en nuestro caso sub orden) podemos saber cuál es el grupo de ácaros dominante y su relación con el estado del suelo. En nuestro caso el sistema no “está mal”, pues los unicos ácaros presentes son los que indican buena fertilidad y humedad : los oribátidos. El sistema esta conservado

El sauzal se identificaron 19 grupos (Ver tabla 2). Los colémbolos son dominante ( *Onychiurina se destaca*) respecto de los ácaros (ver tabla 3). Por ende la relación entre ambos indica preponderancia de los colémbolos, grupo indicador de la fertilidad y estabilidad (Ver tabla 3). Se puede considerar que el ecosistema está conservado y es estable. En lo que respecta a la participación de los ácaros, los oribátidos son los mas abundantes.

Se identificaron 24 taxones (ver Tabla 2) en el robledal . Los colémbolos son los más abundante (ver tabla 3) indicando un sistema conservado (dado por la relación ácaros /colémbolos). De los ácaros fue en el único ambiente que se identificaron ejemplares de prostigmata. La composición de ácaros, la relación entre (oribatidos/astigmatas), y el índice (oribatida + mesostigmata) / (prostigmata + astigmata) dan un valor menor que 1 indicando que el sistema está más disturbado.

## CONCLUSIÓN

Luego de 25 años la presencia de áreas forestadas determinó el incremento de materia orgánica (5,5%), en el contenido de fósforo y una reducción de la densidad aparente. Los montes se distinguen por su contenido de fósforo y la acidez del suelo.

Estos cambios son consecuencia de la hojarasca, y de la rizosfera (acción directa). Pero además, cambios en el régimen de temperatura y humedad modifican de manera indirecta el hábitat. La estimación y comparación de la diversidad puntual no detecta diferencia entre especies forestales, sin embargo ésta existe y es detectada por el recambio de especies (beta diversidad). Por otra parte, el estado de conservación del sistema, evaluado con los relaciones entre grupos, muestra la necesidad de conocer, al menos, la composición de los ácaros (astigmata; prostigmata; mesostigmata y oribatidos). La sola relación de ácaros y colémbolos es insuficiente en una visión global. Es importante remarcar: con los datos edáficos decimos que los sistemas están conservados. Sólo a través de los indicadores biológicos, logramos una visión integradora. Los índices permiten mostrar que el monte de robles fue y es el sistema más disturbado. El uso de indicadores es una herramienta que permite pensar los cambios en las prácticas de manejo a fin de conservar las propiedades del sistema.

**Institución financiadora:** Universidad Nacional de Luján

**Tabla 1.** Variables físicas y químicas en los montes estudiados, letras diferentes indican diferencias significativas al 5% (Kruskal Wallis)

	<i>Eucalyptus spp</i>	<i>Salix nigra</i>	<i>Quercus robur</i>	Suelo de referencia*
Densidad aparente (gr/cm <sup>2</sup> )	0.88 a	0.80 a	0.93 a	1,24
pH (1:2,5)	5,32 b	6,43 a	5,62 b	6,2
Materia Orgánica (%)	5,14 a	5,64 a	5,766 a	3,33
Fósforo (ppm)	14,63 a	7,4 b	7,19 b	2,9
Hojarasca (gr)	229,23	107.30	236,84	

\*tomados de Giovanetti M. 1989

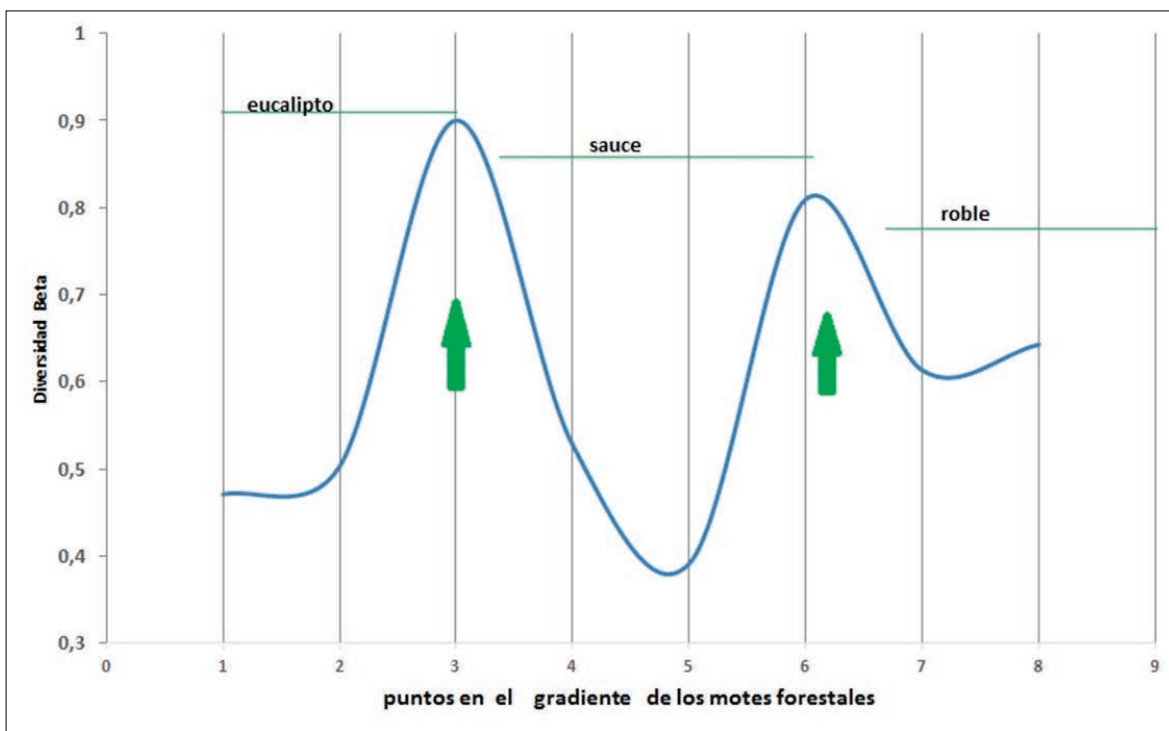
**Tabla 2.** Identificación taxonómica de los organismos presentes.

Mesofauna		Eucaliptus	Salix	Roble
Especie	<i>Entomobrya atrocincta</i>	x	xx	xxx
Subfamilia	<i>Onychiurina</i>	x	xxx	xx
Familia	<i>Hermanniidae</i>	x	xxx	xx
Familia	<i>Tetranychidae</i>			x
Familia	<i>Oppiidae</i>	xxx	xx	x
Familia	<i>Hypogastruridae</i>			x
Orden	<i>Astigmata</i>		x	x
<b>Macrofauna</b>				
Especie	D. abderus		x	xx
Especie	N. viridula		x	
Genero	Stilbus	x	xxx	xx
Familia	Armadillidiidae	xxx	x	xx
Subfamilia	Staphylininae	x		x
Familia	Carabido		x	xx
Familia	Formicidae	x	x	x
Orden	Blattodea		xx	x
Orden	Opiliones	xx	xxx	x
Orden	Diptera	xx		x
Orden	Dermaptera	x		
Orden	Lepidoptera	x	x	xx
Orden	Pseudoescorpiones	x		
Orden	Pulmonata			x
Clase	Chilopoda		x	xx
Clase	Arachnida	x	x	x
Clase	Chilopoda		x	xx

**Tabla 3.** Abundancia de los grupos de la mesofauna y valores de los índices calculados.

Abundancias relativas ind*m <sup>-2</sup>	Eucalyptus	Sauce	Roble
Colémbolos	41	570	322
Ácaros totales	106	98	42
Oribátidos	78	66	7
Mesostigmata	28	2	5
Astigmata	0	30	25
Prostigmata	0	0	5
Total (macro+mesofauna)	329	782	546
Riqueza (macro+mesofauna)	17	18	21
ÍNDICES			
Ácaros/colémbolos	2,59	0,17	0,13
Oribátidos/prostigmatas	-	-	1,4
Oribátidos/astigmatas	-	2,2	0,28
Astigmatas/mesostigmata	-	15	5
(Oribatida+Mesostigmata)/ (Prostigmata+Astigmata)	-	2,27	0,4

**Figura 1.** Recambio de tasas entre montes forestados. El punto 3 es el paso desde el eucaliptal al sauzal y el punto 6 desde el sauzal al robledal.



## **BIBLIOGRAFÍA**

- Bedano, J.C., Domínguez, A., Arolfo, R.(2011) Assessment of soil biological degradation using mesofauna. *Soil and Tillage Research* 117:55–60.
- Bedano, J.C., Cantu, M.P., Doucet, M.E., 2006. Influence of three different land management practices on soil mite (Arachnida: Acari) densities in relation to a natural soil. *Appl. Soil Ecol.* 32: 293–304.
- Bedano, J.C.; Cantú, M.P. & Doucet, M.E. 2001. La utilización de ácaros edáficos como indicadores de calidad de suelos en agroecosistemas del centro de Argentina. *Memorias. XV Congreso Latinoamericano de las Ciencias del Suelo.* Varadero, Cuba.
- Berlese, A. 1905. Apparachio per raccogliere presto ed in gran numero piccoli Artropodi. *Redia* 2: 85-9.
- Bray, R. H. y Kurtz, L. T. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Sci.* 59: 39-45.
- Chocobar, Eneyda A. 2010. Edafofauna como indicador de la calidad en un suelo Cumulic Phaozem sometido a diferentes sistemas de manejos en un experimento de larga duración. Tesis en opción al grado científico de Máster en Ciencias, Especialista en Edafología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 63 p.
- De Ruitere PC, Neutel A-M, Moore TC (1998) Biodiversity in soil ecosystems, the role of energy flow and community stability. *Appl soil Ecol.* 10:217-228
- Dindal, D. 1990. *Soil Biology Guide.* Wiley, New York.
- FAO (2013). Los pagos por los servicios ecosistemicos. <http://www.fao.org/3/ar584s.pdf>.
- Giovanetti M. 1989. *Lombices del Campo de la Universidad Nacional de Luján y su relación con algunos parámetros fisicoquímicos del suelo.* Tesis de grado - UNLu
- Hacska Ylo, E. 1967. Mycorrhizae: Indispensable invasions by fungí. *Agricultural science review.* Vol
- Mateos, E.1992. Colémbolos (Collembola:Insecta) edáficos de encinares de la Serra de l'Ova y de la Serra de Prades (Sierra prelitoral catalana). Efecto de los incendios forestales sobre estos artrópodos (inérito). Tesis doctoral. Universidad de Barcelona, Facultad de Biología, Dpto. de Biología Animal.

---

Momo, F y Falco, L. (2010). *Biología y ecología de la fauna del suelo*. Provincia de Buenos Aires, Argentina: Imago Mundi.

Scheu, S. (2002). The soil food web: structure and perspectives. *European Journal of Soil Biology*. 38:11.

Sfeir A., Costa M. C., Stavinsky A., Bonvechi V., Penón E., Rossi S. 1988. *Mapa Básico de Suelos*. Un. Nacional de Luján.

Shannon, C.E. (1948). A mathematical theory of communication. *The Bell System Technical Journal*, 27, 379-423

Socarrás, A. (2013). Mesofauna edáfica: indicador biológico de la calidad del suelo. *Pastos y Forrajes*, Vol. 36, No. 1 ; 5-13.

Socarrás, A.; Izquierdo, I. (2014) Evaluación de sistemas agroecológicos mediante indicadores biológicos de la calidad del suelo: mesofauna edáfica. *Pastos y Forrajes*, Vol. 37, No. 1: 47-54.

Turnbull, Matthew S.; Lindo, Zoe. (2015). Combined effects of abiotic factors on Collembola communities reveal precipitation may act as a disturbance. *Soil Biology and Biochemistry* 82, 36e43.

Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29- 38.

Whittaker, R.H. 1960. Vegetation of the Siskiyou Mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs* 30(3): 279-338.



## PRIMER ESTUDIO SOBRE EL DISTURBIO DEL FUEGO EN LAS COMUNIDADES DE ORIBÁTIDOS EN BOSQUES DE *NOTHOFAGUS PUMILIO*, NO DE CHUBUT, ARGENTINA

Susana Rizzuto (1) y Rosa María Manzo (1,2),

1 Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco, Facultad de Ciencias Naturales,  
Laboratorio de Investigaciones en Evolución y Biodiversidad (LIEB),

Esquel, Chubut, Ruta 259 Km4.

2 CONICET

e-mail: srizzuto@unpata.edu.ar

### RESUMEN

Los suelos de la región Patagónica albergan gran diversidad de mesofauna, entre la que se cuentan colémbolos y ácaros, siendo estos últimos un grupo muy diverso y abundante. El presente trabajo tiene como objetivo analizar de qué manera se ven afectadas las comunidades de ácaros oribátidos en bosques de *Nothofagus pumilio* afectados por el fuego en el NO de la provincia de Chubut. Se muestreó un área afectada por el fuego en el año 2008, denominada La Colisión, ubicada a 30 km al sur de la ciudad de Esquel. Se tomaron 5 muestras de suelo al azar en cada situación (quemado y no quemado) colectándose los primeros 10 cm de suelo y hojarasca, luego fueron colocadas en embudos Berlese-Tullgren. Se cuantificaron y determinaron un total de 1976 individuos distribuidos en tres subórdenes: Oribatida, Monogynaspida y Prostigmata. Se identificó un total de 178 individuos de ácaros oribátidos, pertenecientes a 16 familias; de ellos, 128 individuos (71,9%) de 12 familias corresponden al sitio no quemado (BLV), mientras 50 individuos (28%) de 5 familias se hallaron en el sitio quemado (BLQ). La riqueza fue de 36 spp. en BLV y 14 spp. en BLQ. El sitio que presentó mayor diversidad de especies según el índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ), fue BLV con un valor de 2.91, mientras que el sitio BLQ alcanzó un valor de 2.38. El sitio no quemado también registró mayor riqueza específica y mayor equitatividad. Luego de transcurrido un año se encontraron 14 especies en común entre ambos sitios, 22 exclusivas del bosque verde y 1 que sólo se reportó en el bosque quemado. Se evidenció una lenta recuperación del sitio quemado y sólo estuvieron presentes dos familias de oribátidos que soportan estas condiciones de suelo Oppiidae y Acaridae.

**Palabras clave:** ácaros-lenga-fuego

## INTRODUCCIÓN

El fuego es un fenómeno de gran impacto ecológico, que promueve cambios profundos en el paisaje y las comunidades. Es el régimen de perturbación a gran escala más prominente en muchos de los ecosistemas del mundo, incluyendo bosques y praderas (Hobbs & Atkins, 1990; Johnson, 1992; Liacos, 1977; Malmström, 2010). En la Patagonia y particularmente en los bosques andino-patagónicos, el fuego ha sido un problema recurrente. En el siglo pasado, los incendios antrópicos fueron muy frecuentes, voluntarios o involuntarios y en todos los casos, influyen en el desarrollo de la vegetación en las regiones de bosque templado (Donoso, 1997). Estos bosques tienen una longitud de 2.000 km y un ancho de 75 km, cubren aproximadamente 3,8 millones de hectáreas. Su distribución latitudinal, área de ocupación y la calidad de su madera hacen que *Nothofagus pumilio* sea la especie que más se destaca. Uno de los impactos directos del fuego es la muerte de micro, macro y mesofauna, bacterias y hongos. Muchos estudios han demostrado que el número de animales del suelo se reduce notablemente luego de los incendios forestales, siendo la mayoría de los que viven en la capa superior de la hojarasca los que mueren inmediatamente (Heyward & Tissot, 1936; Huhta *et al.*, 1967; Malmström, 2008; Malmström *et al.* 2008). La tasa de recuperación de las comunidades de la fauna del suelo después de un incendio es poco conocida y este ritmo varía de un par de meses a más de 5 años (Webb, 1994; Huhta *et al.*, 1967). El disturbio producido por incendios forestales y su impacto sobre los artrópodos de suelo no han sido estudiadas aún en Argentina. En este trabajo se busca conocer cómo se afecta la diversidad de ácaros oribátidos luego del disturbio del fuego.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se trabajó en el área llamada La Colisión (42°56'S; 71 | 30'S) lindante al Parque Nacional Los Alerces, noroeste de la provincia de Chubut) a 60 km de Esquel (Fig. 1), que sufrió un incendio de condiciones extremas en marzo de 2008. Mediante el uso de imágenes satelitales y relevamientos a campo se seleccionaron sitios de bosque quemado y bosque no quemado. Los sitios son: BLV y BLQ. Figura 2

Se realizó un muestreo en cada estación durante un año. En cada fecha se tomaron 5 muestras unitarias de la situación control y 5 en la quemada, totalizando 40 muestras en el año. Cada muestra fue tomada en sentido sur-norte, al azar entre los tres árboles de mayor porte, dentro de la clausura establecida para tal fin tanto en el caso de la zona quemada (BLQ) como en el caso del control (BLV). Las muestras se obtuvieron con una pala pequeña, utilizando un cuadrado de 10 cm por 10 cm y se cavaron 10 cm de profundidad; el material se colocó en bolsas de polietileno, que fueron etiquetadas (fecha,

lugar de captura, número de muestra) y se trasladaron al laboratorio. En éste se tomaron 250 cm<sup>3</sup> de cada muestra y se colocaron en embudos de Berlese-Tullgren, bajo iluminación con lámparas de 40w durante una semana, para asegurar la extracción de un máximo de fauna (Covarrubias & Saiz, 1971). La fauna se recogió en frascos colectores con alcohol 75%. Posteriormente, de cada muestra se separaron los organismos utilizando lupa binocular, pinzas, aguja de disección, pincel y pipetas finas. Posteriormente se realizó el análisis taxonómico de los microartrópodos obtenidos, donde los taxa fueron determinados hasta el mínimo nivel taxonómico posible. Los oribátidos fueron determinados hasta nivel de especie mediante el uso de claves específicas (Balogh & Balogh, 1988, 1990, 1992) y se siguió la clasificación de Subías (2004, actualización 2015). Se calcularon los índices ecológicos de diversidad, equidad y dominancia.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los ácaros se separaron a nivel de suborden, en Oribatida, Monogynaspida y Prostigmata, grupos que se obtuvieron en todas las estaciones del año y en ambos sitios. Se observaron bajas abundancias en el sitio quemado (Figuras 3 y 4).

Sobre el análisis de oribátidos en particular al analizar los sitios observamos que hay especies que se encuentran en ambos como: *Anderemaeus magellanicus*, *Austroppia crozetensis*, *Globoppia maior*, *Lanceoppia (Bicristoppia) bicristata*, *Lanceoppia (Lancelalmoppia) sp.*, *Lanceoppia (Lancelalmoppia) nodosa*, *Membranoppia (Pravoppia) argentinensis*, *Nothrus peruensis*, *Oppiella (Oppiella) nova*, *Oxyoppia (Oxyoppiella) suramericana*, *Paroppia patagónica*, *Sellnickochthonius elsosneadensis* y *Tyrophagus sp.* Las especies del bosque verde que no se encontraron en el quemado son: *Carabodes sp.*, *Acrotritia parareticulata*, *Brachioppiella (Gressittoppia) pepitensis*, *Camisia (Camisia) australis*, *Cuspidozetes armatus*, *Globoppia minor*, *Graptoppia (Stenoppia) angusta*, *Lanceoppia (Lanceoppia) kovacsi*, *Liochthonius (Liochthonius) fimbriatissimus*, *Micropoppia minus*, *Nodocephalus dentatus*, *Nothrus sp. 1*, *Nothrus sp. 2*, *Pheroliodes roblensis*, *Phtiracarus sp.*, *Ramusella (Insculptoppia) sp.*, *Scutovertex sp.*, *Similoppia (Reductoppia) sp.*, *Stomacarus sp.*, *Suctobelbella sp.*, *Tectocephalus velatus* y *Trichthonius pulcherrimus*. La única especie que aparece en el sitio quemado y no se halló en el bosque verde es *Membranoppia (Membranoppia) tuxeni* Figura 5.

Hubo un total de 178 individuos de ácaros oribátidos, de los cuales 128 individuos (71,9%) corresponden al sitio no quemado, mientras que en el quemado se registraron 50 individuos (28%) (Tabla 1).

El sitio que presentó mayor diversidad de especies según el índice de Shannon-Wiener ( $H'$ ), fue el sitio verde (BLV) con un valor de 2.91, mientras que

el sitio quemado (BLQ) alcanzó un valor de 2.38. El sitio verde registró una mayor riqueza específica (36 spp., contra 14 spp. del sitio quemado), y la equitatividad resultó mayor en relación al sitio quemado (Tabla 1).

El valor del índice de Simpson, menor en el sitio verde, indica que allí la comunidad presenta menor dominancia de especies (BLV  $D=0.07$ , BLQ  $D=0.17$ ). Esto, sumado a una mayor riqueza, contribuye a una mayor diversidad (Shannon-Wiener). Para el caso de Pielou la relación es inversa, a menor valor de la equitatividad le corresponde un mayor valor del índice de dominancia, lo cual se observa en el sitio quemado. Es decir que en el sitio quemado se da una mayor jerarquización en la estructura de la comunidad, con una sola especie muy dominante y otras pocas especies mucho menos representadas.

Si se ordenan las principales especies de ambos sitios por abundancia, se puede observar que *Tyrophagus* sp. alcanza valores altos (tabla 2) tanto en el quemado como en el verde, lo que da indicios de algún tipo de reacción probablemente relacionado con el disturbio del fuego.

La desaparición en el sitio quemado de todas las especies mencionadas se entiende como parte de los efectos directos del fuego, ya que la temperatura máxima que toleran los oribátidos varía entre 40 y 44°C (Malmström 2008; Malmström *et al.* 2008; Malmström 2010; Webb 1994). En los trabajos citados anteriormente, se ha determinado que tienen una lenta recuperación, recolonizando el ambiente después de 6 meses a un año, tal como se encontró aquí. Estas posibilidades de recolonización estarán determinadas por diferentes factores o variables que incidirán en la velocidad de la misma, como por ejemplo la recuperación de la cobertura vegetal. En pinares incendiados, Gil Martín & Subías (1998) encuentran que los oppidos son los más abundantes, al igual que lo obtenido aquí, y proponen que se incrementa la fauna hipógea debido al efecto del incendio, que según sus estudios elimina los oribátidos de mayor tamaño habitantes de las capas superficiales.

## CONCLUSIONES

De todas las especies de Oribatida registradas en ambos sitios, los integrantes de las familias Oppiidae y Acaridae alcanzaron abundancias similares y altas en el sitio verde y en el quemado. Los integrantes de éstas dos familias dadas sus capacidades de reproducción o de supervivencia, permanecen en el ambiente, aunque las condiciones son hostiles todavía, podrían dar indicios de soportar altos grados de disturbios. A nivel específico, luego de transcurrido un año se encontraron 14 especies en común entre ambos sitios, 22 exclusivas del bosque verde y 1 que sólo se reportó en el bosque quemado.

El fuego es un fenómeno complejo que tiene efectos directos e indirectos tanto en las comunidades como en el ecosistema, tales efectos en su conjunto son

los que modifican el ecosistema generando relaciones que a veces son difíciles de comprender. Por ejemplo, la destrucción del hábitat, los efectos de cambios de temperatura post-fuego y el recurso alimentario que viene de la producción de hojarasca más la comunidad de hongos y bacterias que se desarrollan, se ven afectadas por estos disturbios. Se desconoce para este caso desde dónde recoloniza la fauna estudiada, lo que será interesante para tener en cuenta en trabajos futuros. Por lo que este trabajo brinda información de base, que se deberá complementar con otros aspectos.

**Institución financiadora:** Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco. Facultad de Ciencias Naturales y Ciencias de la Salud.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Balogh, J. & Balogh, P. (1988) *Oribatid mites of the Neotropical Region I*. Budapest, Elsevier, Amsterdam and Akadémiai Kiadó, 335 pp.

Balogh, J. & Balogh, P. (1990) *Oribatid mites of the Neotropical Region II*. Budapest, Elsevier, Amsterdam and Akadémiai Kiadó, 333 pp.

Balogh, J. & Balogh, P. (1992) *The oribatid mites genera of the world*. Vol1. Budapest, Hungarian Natural History Museum, press, 263 pp.

Covarrubias, R. & Saiz, F. (1971) Sobre algunas condiciones de la extracción de fauna edáfica mediante embudos de Berlese- Tullgren. *Bol. Mus. Hist. Nat. Chile* 32, 49-66.

Donoso, Z. (1997) *El Bosque y su medio ambiente*. Ecología Forestal. Ed. Universitaria, Chile, 369 pp.

Gil-Martín, J. & Subías, L.S. (1998). Estudio faunístico de los Orbátidos (Acari, Oribatida) de pinares incendiados de un sector de la cara Sur de la Sierra de los Gredos (Avila). *Boln. Asoc. Esp. Ent.*, 22(1-2) 185-210.

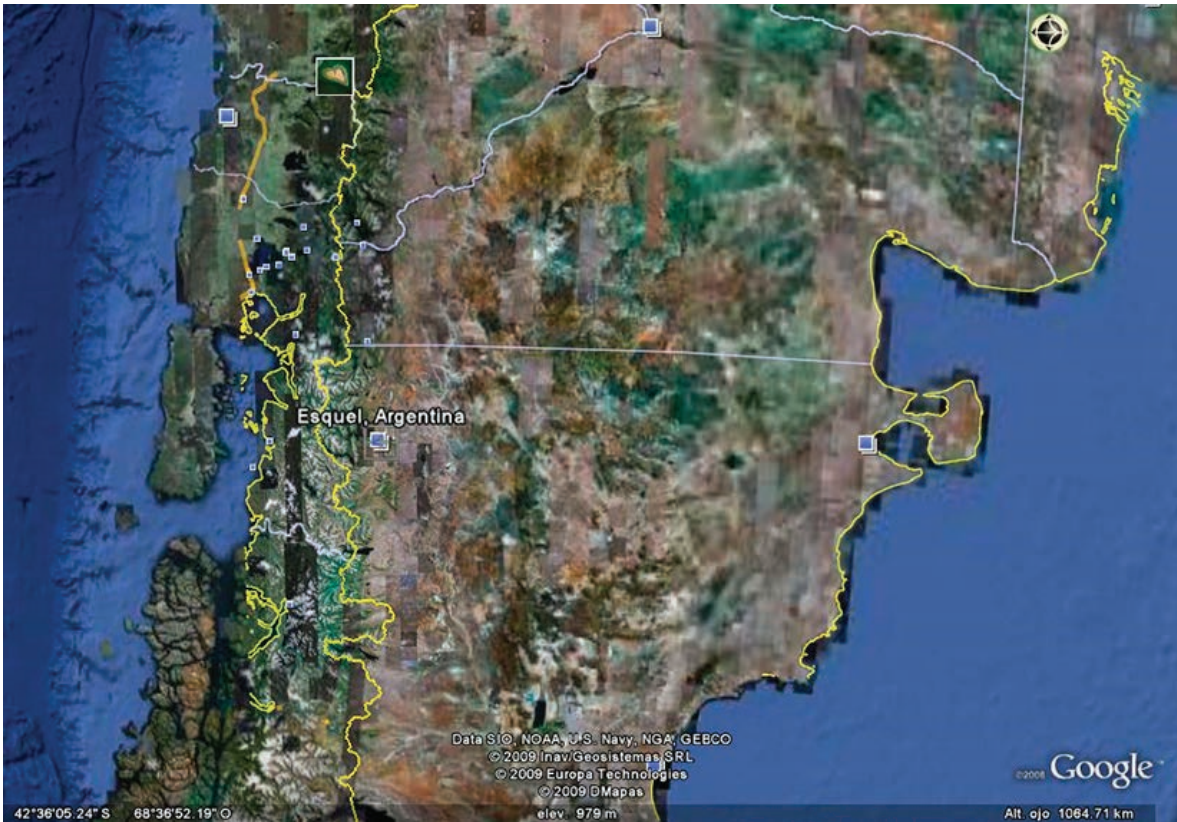
Heyward, F. & Tissot, A.N. (1936) Some changes in the soil fauna associated with forest fires in the longleaf pine region. *Ecology*, 17, 659-666.

Hobbs, R.J. & Atkins, I. (1990) Fire-related dynamics of a *Banksia* woodland in south-western Western Australia. *Aust. J. Bot.*, 38, 97-110.

Huhta, V. (1976) Effects of clear-cutting on numbers, biomass and community respiration of soil invertebrates. *Ann. Zool. Fenn.*, 13, 63-80.

- Huhta, V., Karppinen, E., Nurminen, M. & Valpas, A. (1967). Effect of silvicultural practices upon arthropod, annelid and nematode populations in coniferous forestsoil. *Ann. Zool. Fenn.*, 4, 87–145.
- Johnson, E.A. (1992). *Fire and vegetation Dynamics: Studies from the North American Boreal forest*. Cambridge University Press. Cambridge. 144 pp.
- Malmström, A. (2008) Temperature tolerance in soil microarthropods: simulation of forest-fire heating in the laboratory. *Pedobiologia*, 51, 419-426.
- Malmström, A., Persson, T., & Ahlström, K. (2008) Effects of fire intensity on survival and recovery of soil microarthropods after a clearcut burning. *Can. J. For. Res.*, 38, 2465–2475.
- Murvanidze, M., Arabuli, T., Kvavadze E.R. & Munladze, L. (2008). The effect of fire disturbance on oribatid mite communities. M. Bertrand, S. Kreiter, K.D. McCoy, A. Migeon, M. Navajas, M.S. Tixier, L. Vial (Eds.), *Integrative Acarology (2008)*, pp. 216-221.
- Liacos, L.G. (1977) Fire and fuel management in pine forest and evergreen brushland ecosystems in Greece. In: Mooney, H.A., Conrad, C.E. (Technical coordinators) *Proceedings of the Symposium on the Environmental Consequences of Fire and Fuel Management in Mediterranean Ecosystems*. USDA For. Serv. Gen. Tech. Rep. WO-3, 289-298.
- Subías, L.S. (2004) Listado sistemático y biogeográfico de los ácaros Oribátidos (Acariformes: Oribatida) del mundo (excepto fósiles). *Graellsia* 60, 3-305. Online versions accessed in Junio 2006, 531 pp.; July 2010, 557 pp.; February 2011, 564 pp.; March 2015, 587 pp.; February 2016, 593 pp. <http://www.ucm.es/info/zoo/Artropodos/Catalogo.pdf>.
- Webb, N.R. (1994). Post fire succession of cryptostigmatic mites (Acari, Cryptostigmata) in Calluna-heatland soil. *Pedobiología*, 38, 138-145.

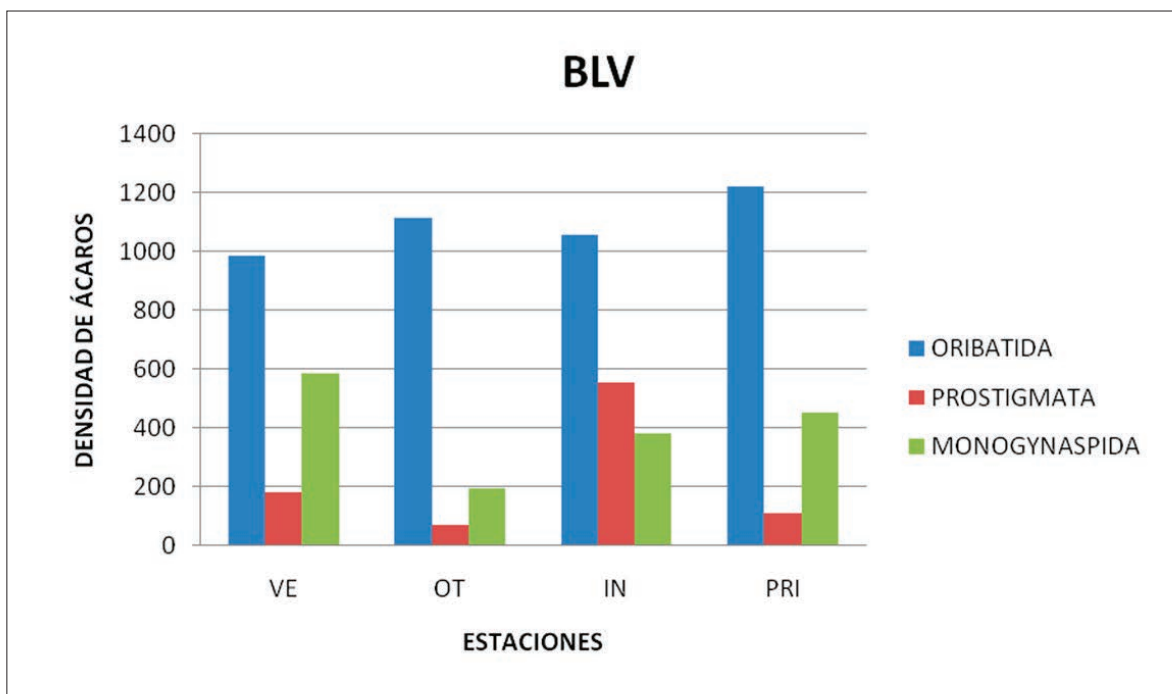
**Figura 1.** Mapa general de la región Noroeste de Chubut.



**Figura 2.** Imágenes del bosque de lenga verde (BLV) (izquierda) y quemado (BLQ) (derecha).



**Figura 3.** Densidad (individuos/m<sup>2</sup>) de ácaros encontrados en el bosque de lenga verde, por estación.



**Figura 4.** Densidad (individuos/m<sup>2</sup>) de ácaros encontrados en el bosque de lenga quemado, por estación.

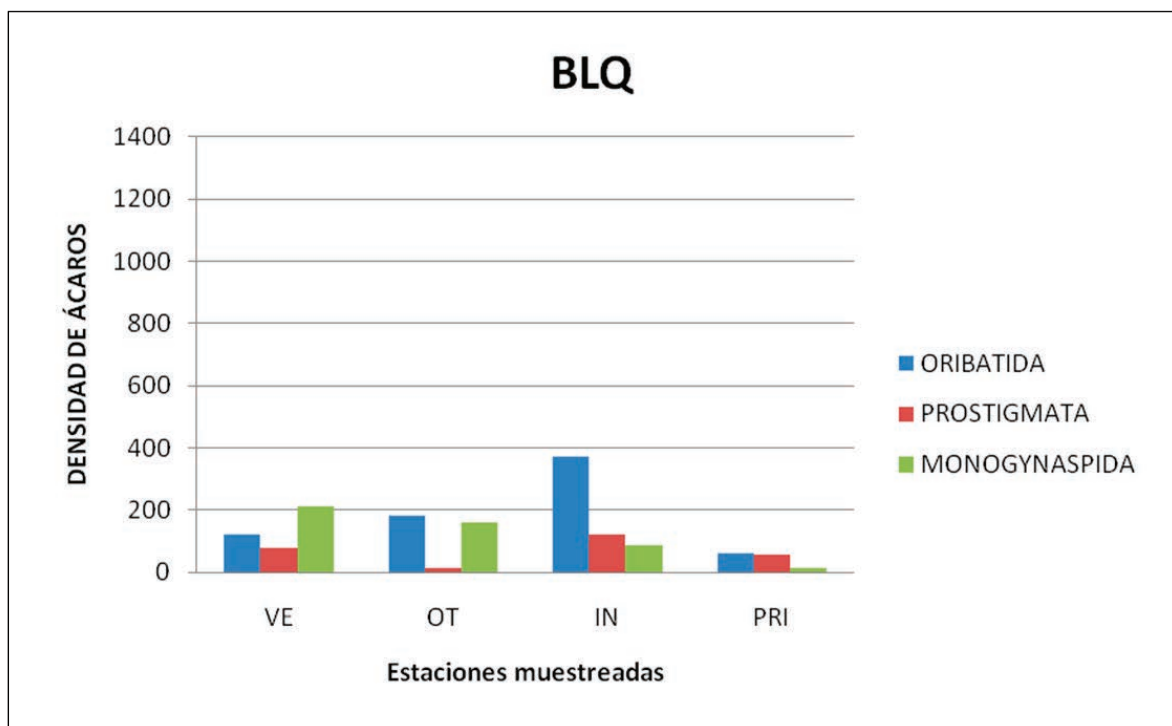
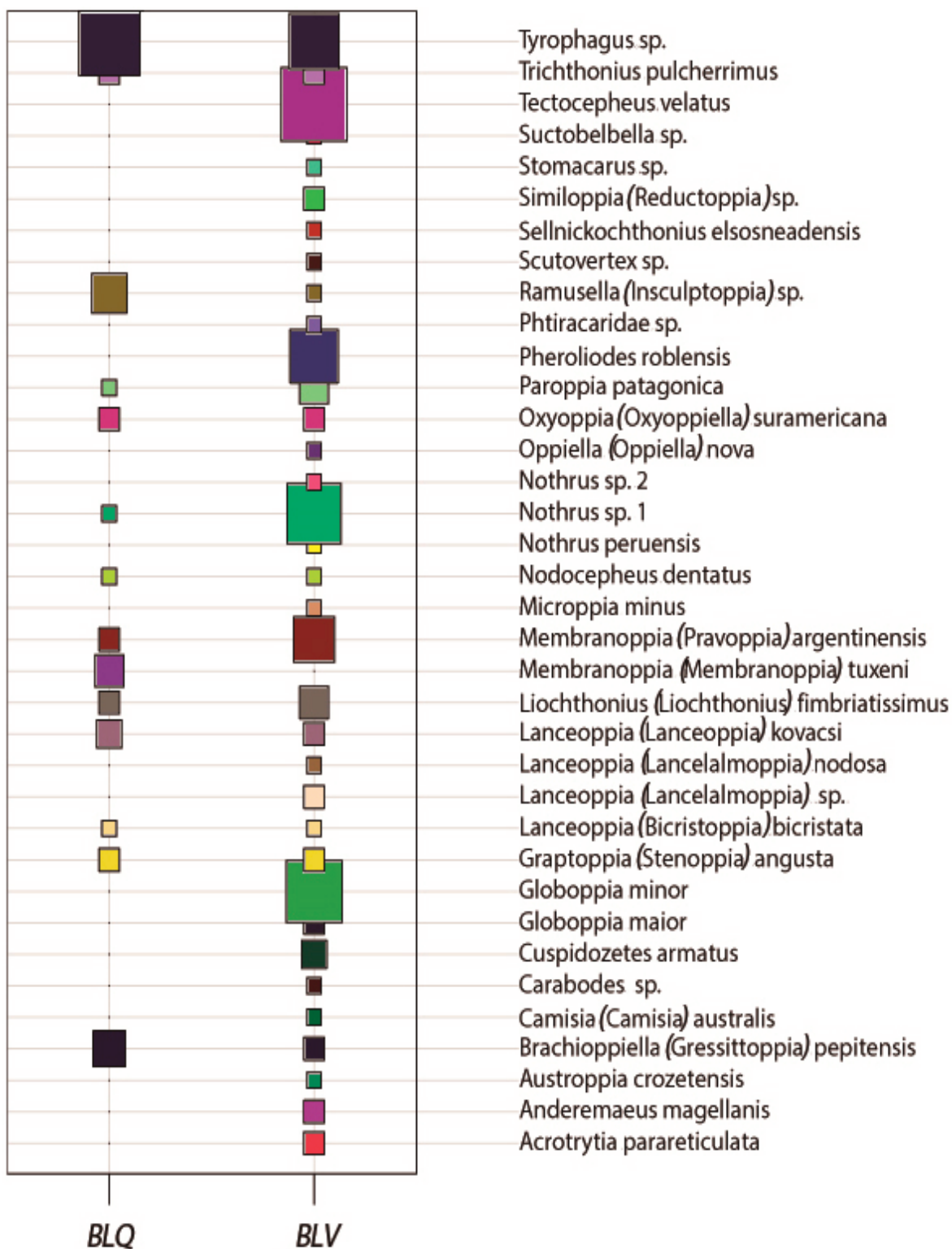




Figura 5. Especies de ácaros oribátidos en los sitios BLV y BLQ.



**Tabla 1.** Abundancia, riqueza, diversidad (Shannon-Wiener), dominancia (Simpson) y paridad (Pielou) de ácaros oribátidos en los sitios no quemado (BLV) y quemado (BLQ).

<i>Sitios</i>	<i>Abundancia</i>	<i>Riqueza</i> <i>S</i>	<i>Shannon-Wiener</i> <i>H</i>	<i>Pielou</i> <i>J</i>	<i>Simpson</i> <i>D</i>
BLV	128	36	2.91	0.76	0.07
BLQ	50	14	2.38	0.68	0.17

**Tabla 2.** Densidad de las especies de ácaros oribátidos más abundantes en los sitios no quemado (BLV) y quemado (BLQ).

BLV	BLQ
Tectocepheus velatus 84	Tyrophagus sp. 72
Globoppia minor 60	Ramusella (Insculptoppia) sp. 24
Nothus sp 1. 56	Brachioppiella (Gressittoppia) pepitensis 20
Tyrophagus sp. 48	Membranoppia (Membranoppia) tuxeni 16
Pheroliodes roblensis 44	
Membranoppia (Pravoppia) argentinensis 32	

---

## EFFECTOS DE LA INTENSIFICACIÓN Y DIVERSIFICACIÓN DE LA ROTACIÓN DE CULTIVOS SOBRE LAS ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS A NIVEL DE MICROAGREGADOS DE SUELO

*Robledo B, Gabbarini L, Covelli J, Wall L.  
Laboratorio de Biología de Suelos – Universidad Nacional de Quilmes  
(nbelenrobledo@gmail.com)*

### RESUMEN

El sistema de Siembra Directa asociado a las Buenas Prácticas Agrícolas está evolucionando a una mayor diversificación e intensificación de las rotaciones de los cultivos (DIRC). Desde 2015 trabajamos en colaboración con productores de 3 establecimientos a lo largo de la Región Pampeana Argentina que han implementado ensayos para evaluar el efecto de la DIRC sobre la productividad del sistema y la calidad y salud del suelo. Los ensayos constan de cinco tratamientos diferenciados por su Índice de Intensidad de Rotación (IIR, calculado como días con cultivos, sobre 365 días) y su porcentaje de gramíneas / leguminosas. Se seleccionaron muestras con IIR contrastante (rotación típica: Trigo/Soja - Maíz/Soja, IIR: 0,47 y rotación intensa: Trigo/Soja - Vicia/Maíz, IIR: 0,71) de uno de los establecimientos, tomando 5 submuestras distribuidas aleatoriamente dentro de cada rotación.

La hipótesis del trabajo fue que una variación en la DIRC genera cambios en la distribución de microagregados del suelo y en las prestaciones ecosistémicas del mismo analizados como actividades enzimáticas relacionadas a ciclos biogeoquímicos y a la actividad microbiana general.

Se procedió a realizar el fraccionamiento de las muestras por triplicado mediante tamizado húmedo obteniéndose un total de 80 submuestras de diferentes tamaños por rotación. Las actividades de las enzimas Cellobiohidrolasa,  $\beta$ -Glucosidasa,  $\beta$ -Glucuronidasa, Leucina aminopeptidasa, Quitinasa, Fosfatasa, Esterasa y Sulfatasa se midieron por fluorescencia utilizando sustratos derivados de la 4-Metilumbelliferona y 7-Amino-4-Metilcumarina. Los resultados obtenidos muestran que un aumento en la DIRC modifica significativamente la proporción de las fracciones de microagregados del suelo con un alto porcentaje de reproducibilidad. En general, las actividades enzimáticas medidas no difieren significativamente entre tratamientos a nivel de microagregados pero sí en las muestras de suelo sin fraccionar, lo que sugiere que la actividad del suelo total resulta de la integración de las diferentes proporciones de agregados, con su respectivo perfil fisiológico.

**Palabras clave:** Actividades enzimáticas del suelo, agregados de suelo y rotación de cultivos.

## INTRODUCCIÓN

La Siembra Directa junto con las denominadas Buenas Prácticas Agrícolas que aseguran la cobertura permanente de la superficie del suelo con la rotación de cultivos, se considera un sistema conservacionista ampliamente implementado en nuestro país. Este sistema está evolucionando a una mayor diversificación e intensificación de las rotaciones de los cultivos (DIRC). Los efectos de la DIRC sobre la estructura y biología del suelo aún no han sido descritos.

Un grupo de productores de la Regional Pergamino-Colón de AAPRESID decidió evaluar a mediano y largo plazo los efectos de la DIRC sobre la calidad del suelo, tomando como punto de partida lo que denominaban Buenas Prácticas (Rotación típica Trigo/Soja - Maíz/Soja). En cada establecimiento se dividió un lote con el mismo uso previo en cinco parcelas iguales diferenciadas por el índice de Intensidad de Rotación (IIR) con el que serían manejadas durante el ensayo. Para desarrollar este trabajo utilizamos muestras de suelo de dos IIR contrastantes correspondientes a uno de los establecimientos de este ensayo: San Nicolás.

Nos planteamos como objetivo obtener la proporción de agregados de suelo de distinto tamaño para cada rotación contrastante así como medir y analizar actividades enzimáticas relacionadas a la hidrólisis de ocho sustratos que ponen de manifiesto la actividad de las enzimas *Celobiohidrolasa*,  *$\beta$ -Glucosidasa*, *Esterasa*, *Glucuronidasa*, *Fosfatasa*, *Sulfatasa*, *Leucina Aminopeptidasa* y *N-Acetilglucosaminidasa* en cada tamaño de agregado.

La hipótesis del trabajo fue que una variación en la DIRC genera cambios en la distribución de agregados del suelo, en las prestaciones ecosistémicas del mismo analizados como actividades enzimáticas relacionadas a ciclos biogeoquímicos y a la actividad microbiana general.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MUESTREO DE SUELO

Se utilizaron suelos con diferentes niveles de DIRC en Siembra Directa del Programa Chacra Pergamino de la Regional Pergamino-Colón de AAPRESID. Se trabajó puntualmente con la Rotación Típica (Trigo/Soja-Maíz/Soja, IIR:0,47) y la Rotación Intermedia (Trigo/Soja - Vicia/Maíz, IIR:0,71) de la estancia San Nicolás, ubicada en la localidad de Uranga, Santa Fe. El muestreo se llevó a cabo en mayo de 2016, en una profundidad de 0-5 cm.

Se tomaron 5 submuestras uniformemente distribuidas de cada rotación formadas por la homogenización de 25 piques tomados con un barreno para generar una mezcla compuesta. Las muestras se tamizaron por una malla de 2 mm y se conservaron a 4°C hasta el momento del fraccionamiento.

## FRACCIONAMIENTO DEL SUELO

Para la obtención de las diferentes fracciones de las muestras de suelo se procedió a realizar el protocolo de Neumann *et al.* (2013).

Diez gramos de los suelos previamente homogeneizados que atravesaron la malla de 2.000 micrómetros ( $\mu\text{m}$ ) fueron suspendidos en 50 ml de agua destilada y sometidos a sucesivos tamizados en húmedo con tamices de 250, 63 y 20  $\mu\text{m}$ , obteniendo de esta forma la fracción de tamaño comprendido entre 2000-250, la fracción de 250-63  $\mu\text{m}$  y la fracción de 63-20 micrones que quedó retenida en el último tamiz. El eluyente del tamiz de 20  $\mu\text{m}$  se sometió a repetidas centrifugaciones a baja velocidad para obtener la fracción 20-2  $\mu\text{m}$  (pellet) y la fracción  $<2$   $\mu\text{m}$  por precipitación del sobrenadante con sulfato de magnesio.

Todas las submuestras se secaron a 40°C para su posterior pesaje y análisis enzimático.

## ANÁLISIS ENZIMÁTICO

Para la determinación de las actividades enzimáticas se procedió a realizar suspensiones de 0,8 g de cada fracción de suelo en 8 ml de buffer MES (2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid) 0,1 M, pH 6,1 que se sometieron a agitación a 200 rpm en un agitador orbital durante tres minutos.

Los valores de actividad de Fosfatasa, Quitinasa, Sulfatasa, Celobiohidrolasa,  $\beta$ - Glucosidasa,  $\beta$ -Glucuronidasa, Esterasa y Leucina Aminopeptidasa se obtuvieron utilizando el protocolo descrito por Marx *et al.* (2001). Se utilizaron sustratos derivados de la 4-Metilumbelliferona y 7-Amino-4-Metilcumarina que al hidrolizarse por acción de las enzimas presentes en la muestra liberan MUB y AMC respectivamente. Las reacciones se llevaron a cabo en placas de 96 pocillos y la cinética de aparición de los productos se midió con un lector de fluorescencia (Omega Polar Star, BMG).

## RESULTADOS

Todos los fraccionamientos mostraron resultados sin tener que descartar ningún dato. El porcentaje de recuperación de suelo, medido como la suma de las fracciones obtenidas respecto al suelo seco inicial, tuvo valores comprendidos entre 89,5 y 98% para los 30 fraccionamientos independientes. Los porcentajes de fracciones obtenidos para los fraccionamientos de la misma submuestra no muestran diferencias lo que evidencia la alta reproducibilidad del método (Figura 1).

La proporción de agregados promedio de cada rotación muestra diferencias significativas para todos los tamaños de fracciones a excepción de la fracción de 250- 63  $\mu\text{m}$  que se mantiene constante independientemente del manejo (Figura 2). Las actividades de las enzimas relacionadas al ciclo del carbono (Celobiohidrolasa y  $\beta$ -Glucosidasa), así como Fosfatasa, Sulfatasa y Glucuronidasa medidas en muestras de suelo sin fraccionar son mayores en los suelos bajo rotación intensiva. La gran diferencia que se observa en las actividades relacionadas al ciclo del carbono significa una mayor actividad de transformación de los rastros en el suelo, aumentando los niveles de incorporación de materia orgánica en la rotación intensiva, lo que podría deberse al aumento de la intensidad de la rotación.

Ocurre lo opuesto con las enzimas involucradas en el ciclo del nitrógeno (N-Acetilglucosaminidasa y Leucina Aminopeptidasa) y Esterasa cuyas actividades son mayores en la rotación de <IIR. (Figura 3, Tabla 1).

Sin considerar la fracción menor a 2  $\mu\text{m}$ , que puede contener enzimas 'lavadas' de fracciones más grandes como efecto del método de fraccionamiento, las actividades enzimáticas específicas de todas las enzimas (exceptuando Fosfatasa y Esterasa) tienden a mostrar valores más altos en los tamaños de agregados más grandes (Figura 4 a 6). El análisis de resultados continúa en proceso por lo que el presente trabajo debe considerarse preliminar.

## CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran que luego de cuatro años de diversificación e intensificación de las rotaciones de cultivos, las proporciones de microagregados del suelo se vieron modificadas en los distintos tratamientos partiendo de una historia agrícola común. La fracción más grande (2000-250  $\mu\text{m}$ ) fue significativamente mejorada por el cambio de manejo debido a su baja estabilidad.

En general, las actividades enzimáticas específicas no mostraron un patrón característico que permita diferenciar las rotaciones a nivel de agregados pero la rotación intensiva tendió a aumentar las actividades de las enzimas en el suelo sin fraccionar. Esta diferencia puede ser consecuencia de la diferente proporción de agregados de suelo con su perfil fisiológico particular correspondiente.

Este trabajo fue llevado a cabo en marco de la tesis doctoral de la Licenciada Natalia Belén Robledo financiada por Conicet en las instalaciones de la Universidad Nacional de Quilmes.

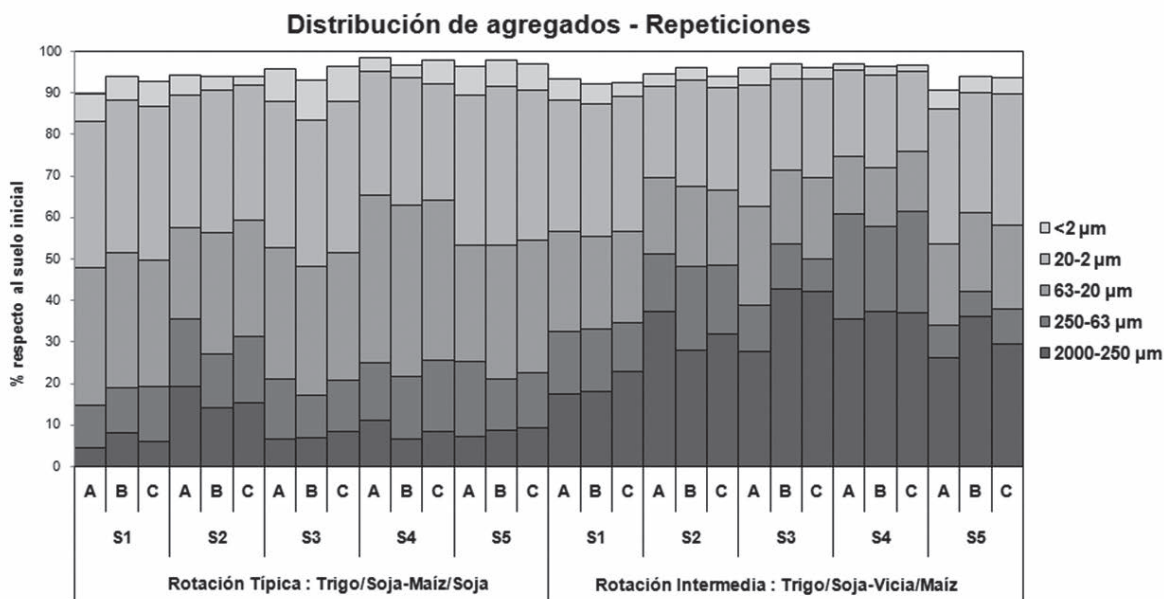
## BIBLIOGRAFÍA

- Burns R G, Jared L, De Forest J L, Marxsen J, Sinsabaugh R L, Stromberger M E, Wallenstein M D, Weintraub M N, Zoppini A.* 2013. Soil enzymes in a changing environment: Current knowledge and future directions. *Soil Biology & Biochemistry* 58 216-234.
- Lagomarsino A, Moscatelli MC, Di Tizio A, Mancinelli R, Grego S, Marinari S.* 2009. Soil biochemical indicators as a tool to assess the short-term impact of agricultural management on changes in organic C in a Mediterranean environment. *Ecological indicators* 9, 518 - 527
- Marx M, Wood M, Jarvis S* 2001. A microplate fluorometric assay for the study of enzyme diversity in soils. *Soil Biol Biochem* 33:1633–1640.
- Marx MC, E. Kandeler, M. Wood, N. Wermbter, S C. Jarvis.* 2005. Exploring the enzymatic landscape: distribution and kinetics of hydrolytic enzymes in soil particle size fractions. *Soil Biology & Biochemistry* 37: 35–48
- Moscatelli M.C., A. Lagomarsino, A.M.V. Garzillo, A. Pignataro, S. Grego.* 2012.  $\beta$ -Glucosidase kinetic parameters as indicators of soil quality under conventional and organic cropping systems applying two analytical approaches. *Ecological Indicators* 13 (2012) 322–327.
- Neumann D, Anke Heuer, Michael Hemkemeyer, Rainer Martens & Christoph C. Tebbe* 2013. Response of microbial communities to long-term fertilization depends on their microhabitat. *FEMS Microbiol Ecol* 86 (2013) 71–84
- Sinsabaugh RL, Gallo ME, Lauber C, et al* 2005. Extracellular enzyme activities and soil organic matter dynamics for northern hardwood forests receiving simulated nitrogen deposition. *Biogeochemistry* 75:201–215.

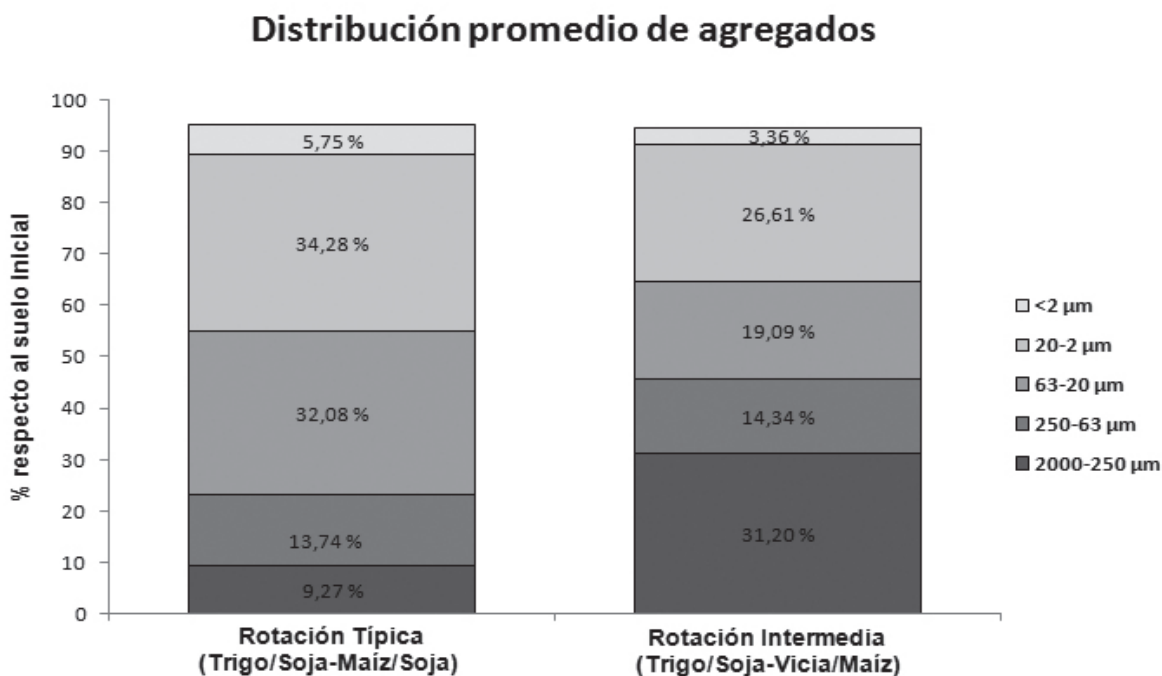
ANEXO

TABLAS Y FIGURAS

**Figura 1.** Distribución de agregados obtenidos en los distintos fraccionamientos de las cinco submuestras de rotación típica e intermedia.



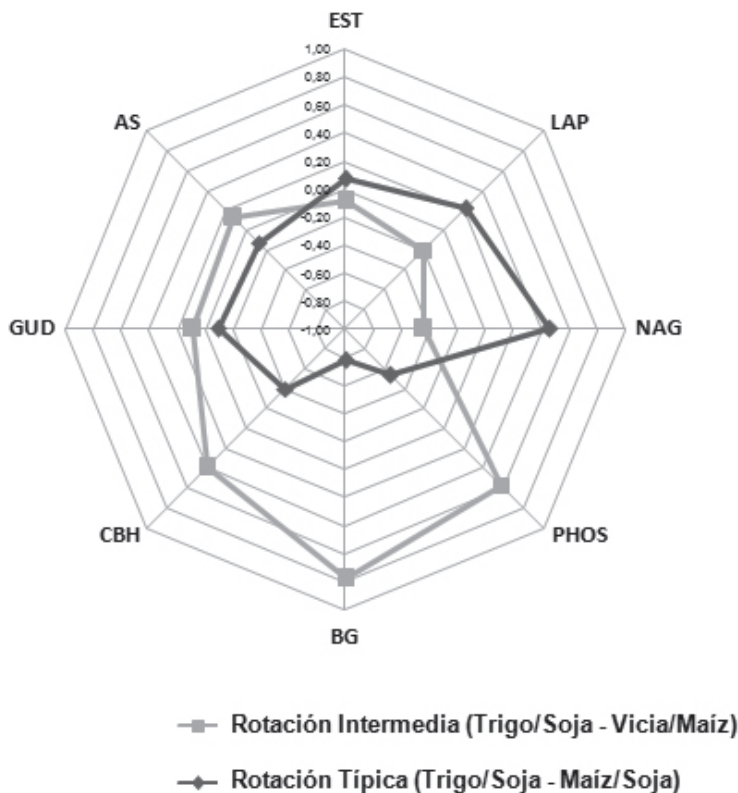
**Figura 2.** Promedio de las proporciones de agregados obtenidas en los fraccionamientos de las distintas rotaciones (n=15 para cada tratamiento).





**Figura 3.** Actividades promedio estandarizadas medidas en suelo sin fraccionar de la Rotación Típica e Intermedia.

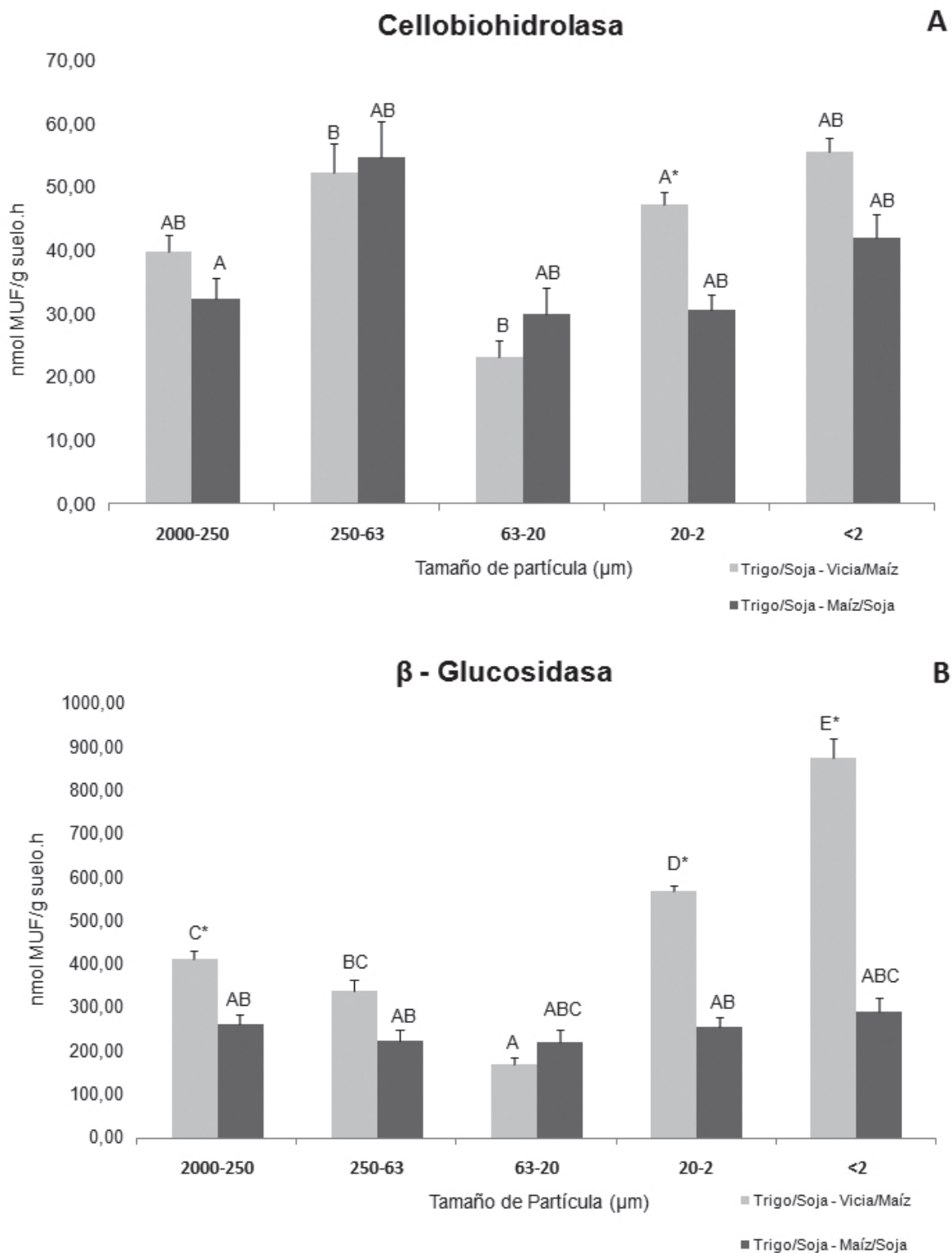
**Actividades Enzimáticas en suelo sin fraccionar**



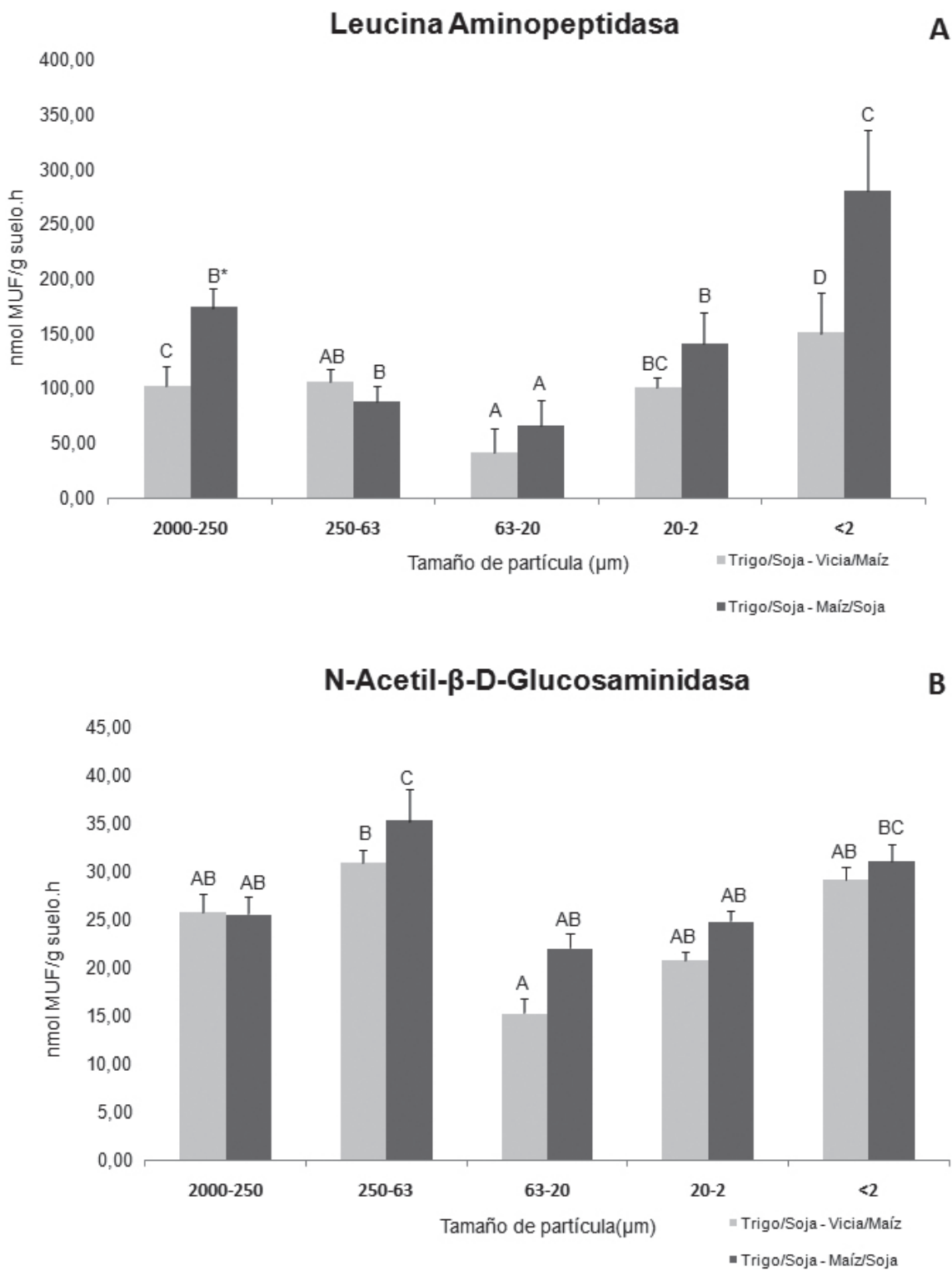
**Tabla 1.** Valores de actividad promedio  $\pm$  error estándar obtenidas en las muestras de suelo sin fraccionar de rotación típica e intermedia (n=5 para cada rotación)

Enzima	Rotación Intermedia	Rotación Típica
<i><math>\beta</math>-Glucuronidasa (GUD)</i>	24,08 $\pm$ 2,45	22,52 $\pm$ 2,03
<i>Celobiohidrolasa (CBH)</i>	38,19 $\pm$ 5,20	23,51 $\pm$ 3,34
<i><math>\beta</math>-Glucosidasa (BG)</i>	370,71 $\pm$ 19,53	196,86 $\pm$ 16,24
<i>Fosfatasa (PHOS)</i>	969,11 $\pm$ 58,95	725,84 $\pm$ 35,06
<i>Quitinasa (NAG)</i>	17,88 $\pm$ 1,05	24,18 $\pm$ 2,06
<i>Leucina Aminopeptidasa (LAP)</i>	115,00 $\pm$ 5,60	133,89 $\pm$ 13,10
<i>Esterasa (EST)</i>	2849,51 $\pm$ 190,00	2955,64 $\pm$ 156,38
<i>Sulfatasa (AS)</i>	23,38 $\pm$ 2,50	21,21 $\pm$ 1,92

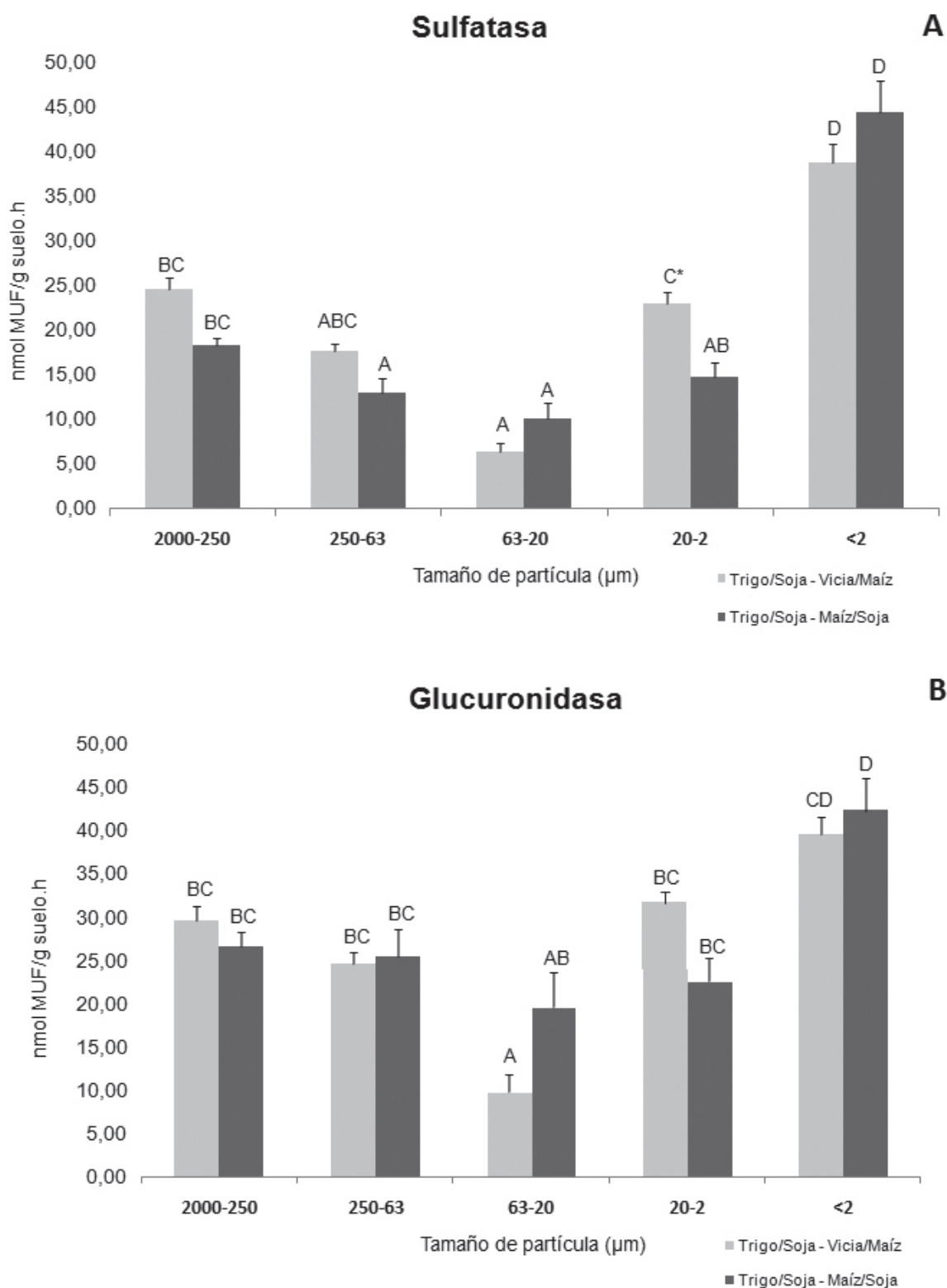
**Figura 4.** Actividades específicas de **A:** Celobiohidrolasa y **B:** B-D-Glucosidasa en distintos tamaños de agregados de las dos rotaciones contrastantes. Las barras de error indican error estándar (n=15). Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre fracciones.



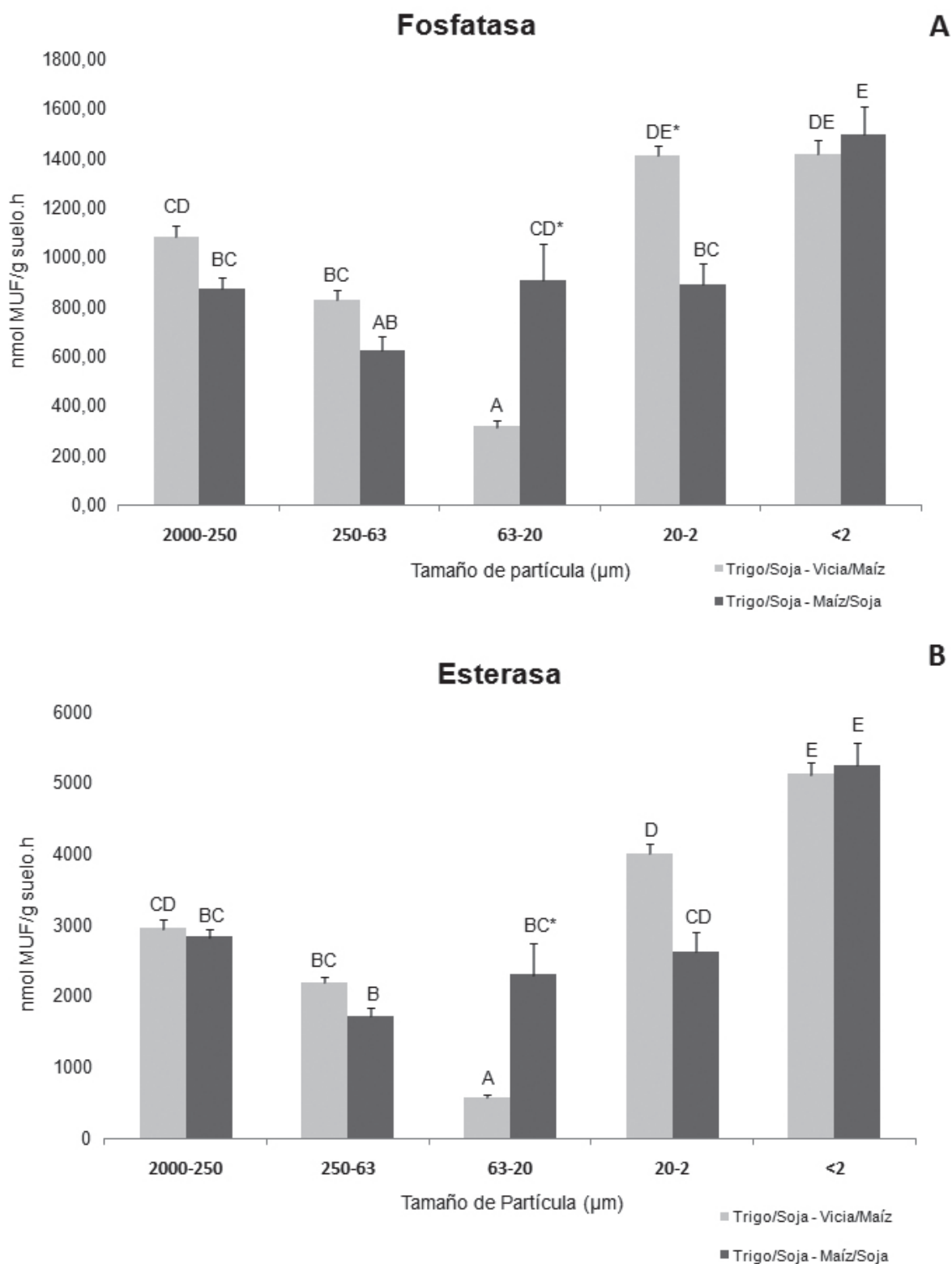
**Figura 5.** Actividades específicas de A: Leucina Aminopeptidasa y B: N-Acetil-Glucosaminidasa en distintos tamaños de agregados de las dos rotaciones contrastantes. Las barras de error indican error estándar (n=15). Las diferentes letras indican diferencias significativas (p<0,05) entre fracciones.



**Figura 6.** Actividades específicas de A: Sulfatasa y B: Glucuronidasa en distintos tamaños de agregados de las dos rotaciones contrastantes. Las barras de error indican error estándar (n=15). Las diferentes letras indican diferencias significativas (p<0,05) entre fracciones.



**Figura 7.** Actividades específicas de **A:** Fosfatasa y **B:** Esterasa en distintos tamaños de agregados de las dos rotaciones contrastantes. Las barras de error indican error estándar (n=15). Las diferentes letras indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ) entre fracciones.



## **EFFECTO DE LA DIVERSIFICACION E INTENSIFICACION DE LAS ROTACIONES DE CULTIVOS EN SIEMBRA DIRECTA SOBRE LA MACROFAUNA EDÁFICA**

*Rodríguez, María Pía (\*,1,2); Moreira, Melisa (1); Domínguez, Anahí (1,2);  
Ortiz, Carolina Elizabeth (1,2); Wall, Luis Gabriel (2,3) y Bedano, José Camilo (1,2).*

*1 Departamento de Geología, Universidad Nacional de Rio Cuarto.*

*2 CONICET, Argentina.*

*3 Laboratorio Bioquímica, Microbiología e Interacciones Biológicas en el Suelo  
(LBMIBS), Universidad Nacional de Quilmes.*

*(\*)marpiarodriguez@gmail.com*

### **RESUMEN**

Dentro de la agricultura convencional en siembra directa (SD) existe una nueva propuesta de diversificación e intensificación de las rotaciones de cultivos (DIRC), con la finalidad de incrementar el rendimiento por unidad de superficie, mientras se disminuye el impacto ambiental negativo. El efecto de la DIRC en la macrofauna del suelo ha sido poco explorado. El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de la DIRC en SD sobre la abundancia y la diversidad taxonómica de la macrofauna edáfica en la región pampeana Argentina. Un total de 24 sitios fueron muestreados en 4 campos donde se establecieron ensayos de DIRC de 3 años de duración. En cada campo se establecieron 5 tratamientos con diferentes rotaciones: monocultivo de soja (MC), rotación típica (RT), intensificación alta con leguminosas (RL), intensificación alta 100% gramíneas (RG), pastura (PA) y un sitio natural (NA) como referencia. Se tomaron 5 muestras de suelo (25x25x20cm) en cada sitio. La macrofauna fue separada manualmente, identificada taxonómicamente y contada. Los análisis de componentes principales mostraron siempre una separación de al menos uno de los tratamientos que tuvieron rotaciones más diversificadas e intensas con respecto al resto, con un grupo de macrofauna particular asociado. En todos los casos, los NA se separaron del resto de las rotaciones, sin embargo en los MC se observó esto solo en dos de los cuatro establecimientos. En todas las localidades, las rotaciones con mayor riqueza de familias de coleópteros fueron las rotaciones de alta intensificación con respecto a la típica. La abundancia de coleópteros no mostró diferencias significativas entre tratamientos, salvo en un establecimiento. Finalmente, concluimos que después de sólo 3-4 años desde el inicio del ensayo DIRC, se produjeron cambios importantes en la composición de la macrofauna del suelo, lo que refleja su sensibilidad e importancia como indicadores.

**Palabras claves:** siembra directa, rotación de cultivos, macrofauna, coleópteros.

## INTRODUCCIÓN

En el contexto de la agricultura convencional, la siembra directa (SD) es reconocida como una alternativa de menor impacto negativo en el suelo respecto a la labranza convencional. Entre sus beneficios, ha sido señalada como favorable para el desarrollo de las comunidades de invertebrados edáficos (Chan, 2001; Briones & Schmidt, 2017), favoreciendo a procesos que dependen de ellos, principalmente la generación de estructura del suelo y la descomposición de la materia orgánica (Chan, 2001). Sin embargo, si no se incorporan una serie de prácticas de manejo accesorias, en conjunto con la SD (ej. Rotación de cultivos, cultivos de cobertura) puede dar lugar a efectos contrarios (Domínguez *et al.*, 2010; Domínguez & Bedano, 2016).

Algunos productores están explorando nuevas alternativas de diversificación e intensificación de las rotaciones de cultivos (DIRC), asociadas a la SD (Caviglia & Andrade, 2010) con la finalidad de incrementar la producción y el rendimiento por unidad de superficie, mientras se disminuye el impacto ambiental negativo. Según esta propuesta, la inclusión de un mayor número de cultivos por unidad de tiempo usa los recursos ambientales más intensamente, manteniendo o incrementando el rendimiento de los cultivos y el aporte de C al suelo (Caviglia & Andrade, 2010).

La macrofauna del suelo participa en procesos ecosistémicos claves, vinculados directamente a la productividad vegetal, como la generación de estructura del suelo y la descomposición de la materia orgánica (Lavelle, 1997). Por lo tanto, la conservación de la diversidad de la macrofauna constituye un aspecto muy relevante en las estrategias que tengan como objetivo incrementar la sustentabilidad de la producción agrícola.

El objetivo del presente trabajo fue analizar el efecto de la diversificación e intensificación de la rotación de cultivos en SD sobre la abundancia y la composición taxonómica de la macrofauna edáfica en la región Pampeana argentina.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### ÁREA DE ESTUDIO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

Para este estudio, fueron seleccionados 24 lotes en cuatro establecimientos, en los que se estableció un ensayo de DIRC: La Matilde, San Nicolás y Las Matreras en Buenos Aires y Carmen en Santa Fe. En cada establecimiento se

eligió un lote grande de historia de uso único y homogéneo, y se lo dividió en 4 lotes del mismo tamaño (10-25 has) en los que se instaló un plan de rotación con ciclos de 3 años con variaciones en la intensificación y diversidad de cultivos. Las rotaciones fueron: rotación típica (RT), rotación alta con leguminosas (RL), rotación alta con gramíneas (RG) y pastura (PA) (Figura 1).

Los valores de intensificación para todos los lotes fueron calculados por medio del índice de intensidad de las rotaciones (IIR), calculado como los días con cultivos desde la emergencia hasta la madurez fisiológica de la planta, sobre los días totales de la rotación (Agosti *et al.*, 2016) (Tabla 1).

En 2015, en cercanías a cada establecimiento se seleccionó también un lote con monocultivo de soja (MC) como control de mínima rotación y un ambiente natural (NA) como control positivo.

#### MUESTREO

Los muestreos fueron llevados a cabo en el mes de mayo en dos años consecutivos (2015-16). En cada lote se extrajeron 5 monolitos de suelo (25x25x20cm). Cada monolito fue separado en dos capas: hojarasca/0-10 cm y 10-20 cm, de las que se extrajeron de forma manual los organismos de la macrofauna (Anderson & Ingram, 1993). Los ejemplares colectados se conservaron en alcohol al 96%, y posteriormente en laboratorio se realizó su recuento e identificación taxonómica. La macrofauna se identificó a nivel de grandes grupos taxonómicos, y los coleópteros a nivel de familia. En ambos casos se obtuvieron datos de abundancia y composición.

#### ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Respecto de la composición de la macrofauna total se realizaron análisis de componentes principales (ACP). Para analizar la composición de coleópteros se confeccionaron gráficos de proporciones acumuladas.

La significación estadística de las diferencias en la abundancia de los coleópteros entre tratamientos se probó mediante el uso de Modelos Lineales Generalizados Mixtos (MLGM), considerando como factor fijo al tratamiento (rotación) y como factor aleatorio a cada submuestra dentro de cada lote, con un análisis para cada establecimiento por separado. Se utilizó el programa Infostat (Di Rienzo *et al.*, 2013) como gestor de R (R Development team, 2015) para todos los análisis.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En San Nicolás, año 2015, se observa que el eje 1 del ACP separa a la RL y el sitio NA del resto de los tratamientos; mientras que el eje 2 separa a estos



dos entre sí (Figura 2). Se observan cinco taxones asociados a RL (Coleoptera, Blattodea, Dermaptera, Hemiptera y Araneae) y seis a NA (Miriapoda, Diplura, Formicidae, Orthoptera, Pseudoscorpionida y Lumbricidae). En el 2016, el eje 1 separa a la RG del resto, mientras que el eje 2 separa a la RL de la PA y la RT, cuya composición macrofaunística es similar. Geoplanidae, Hemiptera y Gastropoda se encuentran asociados a RG y Enchytraeidae a RL.

En Las Matreras, en 2015, el eje 1 separa MC y NA del resto, y a RG de PA y RT en el otro extremo del gradiente. El eje 2 separa a MC y NA entre sí. Se observaron tres grupos asociados a MC (Geoplanidae, Dermaptera y Blattodea) y dos a NA (Isoptera y Nematomorpha). En 2016, el eje 1 separa a la PA del resto, mientras que el eje 2 separa a la RL de la RT y RG. Se observan ocho de trece grupos asociados a PA (Hemiptera, Oniscidae, Araneae, Formicidae, Gastropoda, Coleoptera, Lumbricidae y Diplura) y uno a RL (Nematomorpha).

En La Matilde, en 2015, se observa en general una mayor dispersión entre los sitios. El eje 1 separa hacia la derecha al NA y PA de MC y en el otro extremo a la RT de ambas rotaciones altas, mientras que el eje 2 separa a la RG y PA del resto. En el eje 1 se observa un gradiente de derecha a izquierda desde el NA y la PA, pasando por ambas rotaciones de mayor intensidad, hacia RT en el otro extremo. El eje 2 diferencia principalmente la RG y el MC en extremos opuestos. Formicidae y Lumbricidae caracterizan al NA; Coleoptera se observa asociado a la PA, y Diplura al MC. En 2016, el eje 1 separa RG del resto, mientras que el eje 2 separa a la RT. Se observan nueve grupos asociados a RG (Orthoptera, Nematomorpha, Oniscidae, Dermaptera, Araneae, Coleoptera, Hemiptera, Blattodea y Geoplanidae) y tres a RT (Formicidae, Miriapoda y Enchytraeidae). Lumbricidae caracteriza a la PA.

En Carmen, el eje 1 separa al sitio NA, mientras que el eje 2 separa a la RG, ambos sitios con una composición de la comunidad distintiva. Coleoptera, Formicidae, Miriapoda, Opiliones, Isoptera, Oniscidae se asocian principalmente a NA y Dermaptera, Hemiptera, Araneae y Blattodea a RG.

En general, los ACP mostraron siempre una separación de al menos una de las rotaciones de alta intensificación respecto del resto de los tratamientos, dada por alguno de los dos ejes principales, con un grupo de macrofauna particular asociado. En todos los casos, los NA se separaron del resto de las rotaciones, sin embargo en los MC se observó esto solo en Las Matreras y La Matilde. La vegetación influye en las comunidades de invertebrados y microorganismos del suelo a través de la abundancia, calidad y distribución de los recursos orgánicos producidos tanto en el espacio como en el tiempo (Giller *et al.*, 1997). De este modo diferentes cantidades, calidades y diversidad de rastrojos en superficie definirán comunidades de macrofauna distintivas, dependiendo de las condiciones dadas en cada situación.

Los coleópteros, en todas las localidades, mostraron una respuesta positiva a la intensificación. Las rotaciones con mayor riqueza de familias fueron las rotaciones altas con respecto a las RT (Figura 3b). En San Nicolás, en ambos

años, la mayor riqueza se observó en RG, luego le siguió RL, y finalmente la de menor riqueza fue RT. En Las Matreras, de igual modo, la mayor riqueza se observó en RG. En La Matilde, en el año 2015 ocurrió algo similar que en San Nicolás, la rotación más rica fue RG y luego RL. En 2016 RG presentó la mayor riqueza, sin embargo RT mostró ser más rica que RL. En Carmen, la rotación con mayor riqueza de familias fue RL, luego RG y finalmente RT.

Los coleópteros, junto con otros artrópodos del suelo se alimentan y viven en la hojarasca, y participan activamente en su fragmentación y descomposición (Lavelle, 1996). Una mayor diversidad de coberturas por la inclusión de un mayor número de cultivos por unidad de tiempo puede significar una mayor diversidad de fuentes de alimento y refugio, promoviendo de este modo una mayor diversidad de coleópteros.

La abundancia de coleópteros respondió significativamente a los cambios de DIRC solo en San Nicolás para el año 2015, donde el mayor valor se observó en las rotaciones altas (Figura 3a). En los demás establecimientos, tanto en 2015 como 2016, no se registraron diferencias significativas entre los lotes muestreados.

## **CONCLUSIONES**

En general, los análisis realizados en todos los establecimientos mostraron cambios en la composición de la macrofauna entre tratamientos. En los ACP, es interesante notar que los que más se separan del resto son principalmente los que tuvieron rotaciones más diversificadas e intensas (HG, HL). De igual manera, la mayor riqueza de familias de coleópteros estuvo asociada con las rotaciones de alta intensificación. Mediante el incremento en la diversidad de los cultivos implantados y de la intensidad de esas rotaciones, se producen cambios en el sistema rastrojos/suelo, que se traducen en cambios en la composición de la fauna que habita en ese sistema. En general los resultados muestran que el incremento en la DIRC produce un aumento de particularidades en la diversidad biológica.

La falta de respuesta de la abundancia de coleópteros a la DIRC, es probable que se deba a las bajas abundancias registradas en el muestreo en general, lo cual a su vez podría estar relacionado a la técnica de muestreo empleada. La complementación de técnicas de muestreo como trampas Pitfall o Winkler asociadas a la técnica del TSBF podría mejorar la técnica de muestreo y esto reflejarse o no en un mayor número de organismos.

En general se concluye que luego de 3-4 años de implementar un cambio de manejo considerado positivo en el contexto de la agricultura convencional, como la DIRC, en un lote con idéntica historia de uso, tipo y calidad del suelo, se producen cambios importantes en la fauna del suelo. A pesar del corto plazo del ensayo, y al reducido cambio de manejo, los resultados obtenidos son significativos. La respuesta de la fauna a este cambio, refleja la sensibilidad de los organismos y su importancia como indicadores.

**Financiación:** El presente trabajo fue financiado por proyectos de la SECyT-UNRC, UNQ (Proyecto Spott), y el CONICET.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Agosti, M.B., A, Madias; R, Gil. (2016). INFORME ANUAL DE RESULTADOS CAMPAÑA 2015-16 CHACRA PERGAMINO.

Anderson, J. & Ingram, J., (1993). Tropical soil biology and fertility: A handbook of methods, 2ª edición. Wallingford, UK CAB International.

Briones, M. J., & Schmidt, O. (2017). Conventional tillage decreases the abundance and biomass of earthworms and alters their community structure in a global meta-analysis. *Global Change Biology*.

Caviglia, O.P., Andrade, F.H. 2010. Sustainable Intensification of Agriculture in the Argentinean Pampas: Capture and Use Efficiency of Environmental Resources. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*, 3: 1-8.

Chan, K. Y. (2001). An overview of some tillage impacts on earthworm population abundance and diversity—implications for functioning in soils. *Soil and Tillage Research*, 57(4), 179-191.

Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. (2013). InfoStat versión 2013. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de C C.W. (Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Domínguez A., J. C. Bedano & A. R. Becker. (2010). Negative effects of no-till on soil macrofauna and litter decomposition in Argentina as compared with natural grasslands. *Soil Till Res* 110: 51-59.

Domínguez, A., & Bedano, J. C. (2016). The adoption of no-till instead of reduced tillage does not improve some soil quality parameters in Argentinean Pampas. *Applied Soil Ecology*, 98, 166-176.

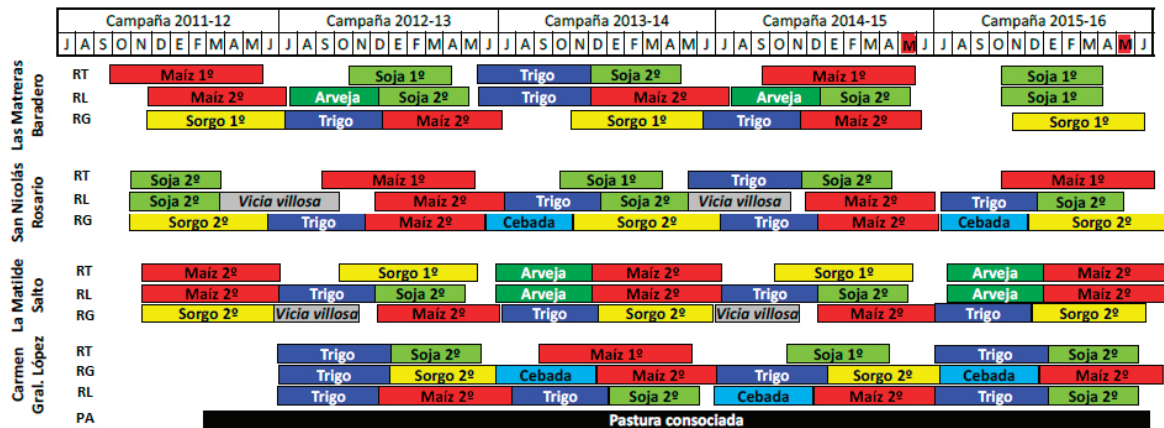
Giller, K. E., Beare, M. H., Lavelle, P., Izac, A. M., & Swift, M. J. (1997). Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. *Applied soil ecology*, 6(1), 3-16.

Lavelle, P. (1996). Diversity of soil fauna and ecosystem function. *Biology International* 33: 3-16

Lavelle, P. (1997). Faunal activities and soil processes: adaptive strategies that determine ecosystem function. *Advances in ecological research*, 27, 93-132.

R Development Team (2015). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, <http://www.R-project.org>.

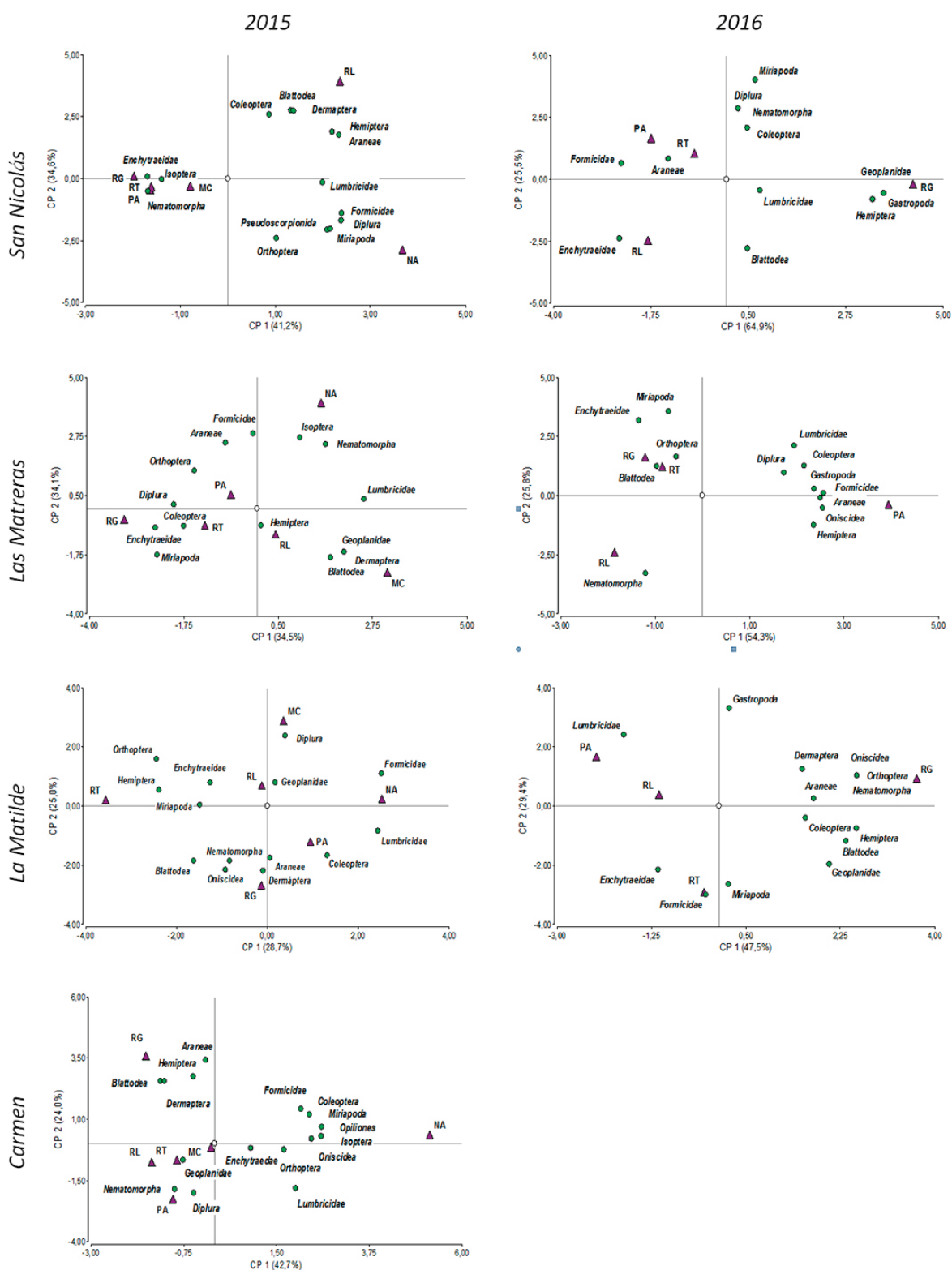
**Figura 1.** Plan de rotación de cultivos de los establecimientos en el ensayo de DIRC. En las campañas 2014-15 y 2015-16 se señala con rojo el mes en el que se realizaron los muestreos. RT (rotación típica), RL (rotación alta con leguminosas), RG (rotación alta con gramíneas), PA (pastura). Modificado de Agosti *et al.* (2016).



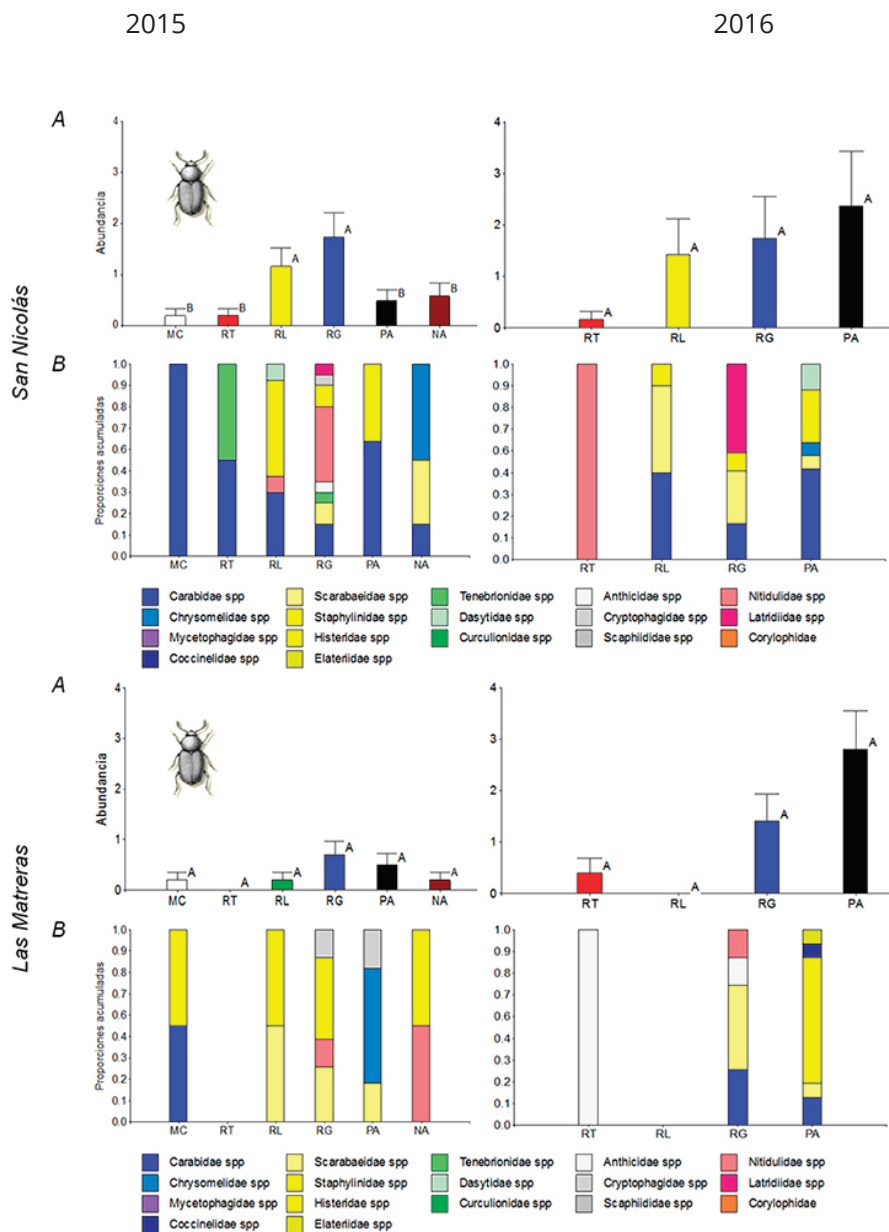
**Tabla 1.** Valores del índice de intensidad de la rotación (IIR) y del porcentaje de gramíneas (%Gram) para cada una de las rotaciones consideradas en el estudio. RT (rotación típica), RL (rotación alta con leguminosas), RG (rotación alta con gramíneas), PA (pastura), Sj (soja), Tr (trigo), Mz (maíz), Ar (arveja), Sg (sorgo), Cb (cebada), Cob (cobertura).

Establecimiento	Rotación	Total (días)	Cultivo (días)	IIR	%Gram	
Las Matreras	RT	Tr/Sj-Mz-Sj	1460	626	0,43	50
	RL	Ar/Sj-Tr/Mz	1460	788	0,54	50
	RG	Sg-Tr/Mz	1460	724	0,5	100
	PA	Pastura	365	365	1	50
San Nicolás	RT	Tr/Sj-Mz-Sj	1460	624	0,43	50
	RL	Tr/Sj-Cob/Mz	1460	1037	0,71	50
	RG	Cb/Sg-Tr/Mz	1460	957	0,66	100
	PA	Pastura	365	365	1	50
La Matilde	RT	Ar/Mz-Sg	1460	751	0,51	50
	RL	Ar/Mz-Tr/Sj	1460	1000	0,68	50
	RG	Tr/Sg-Cob/Mz	1460	998	0,68	50
	PA	Pastura	365	365	1	50
Carmen	RT	Tr/Sj-Mz-Sj	1460	790	0,54	50
	RL	Cb/Mz-Tr/Sj	1460	1012	0,69	75
	RG	Tr/Sg-Cb/Mz	1460	1065	0,73	100
	PA	Pastura	365	365	1	50

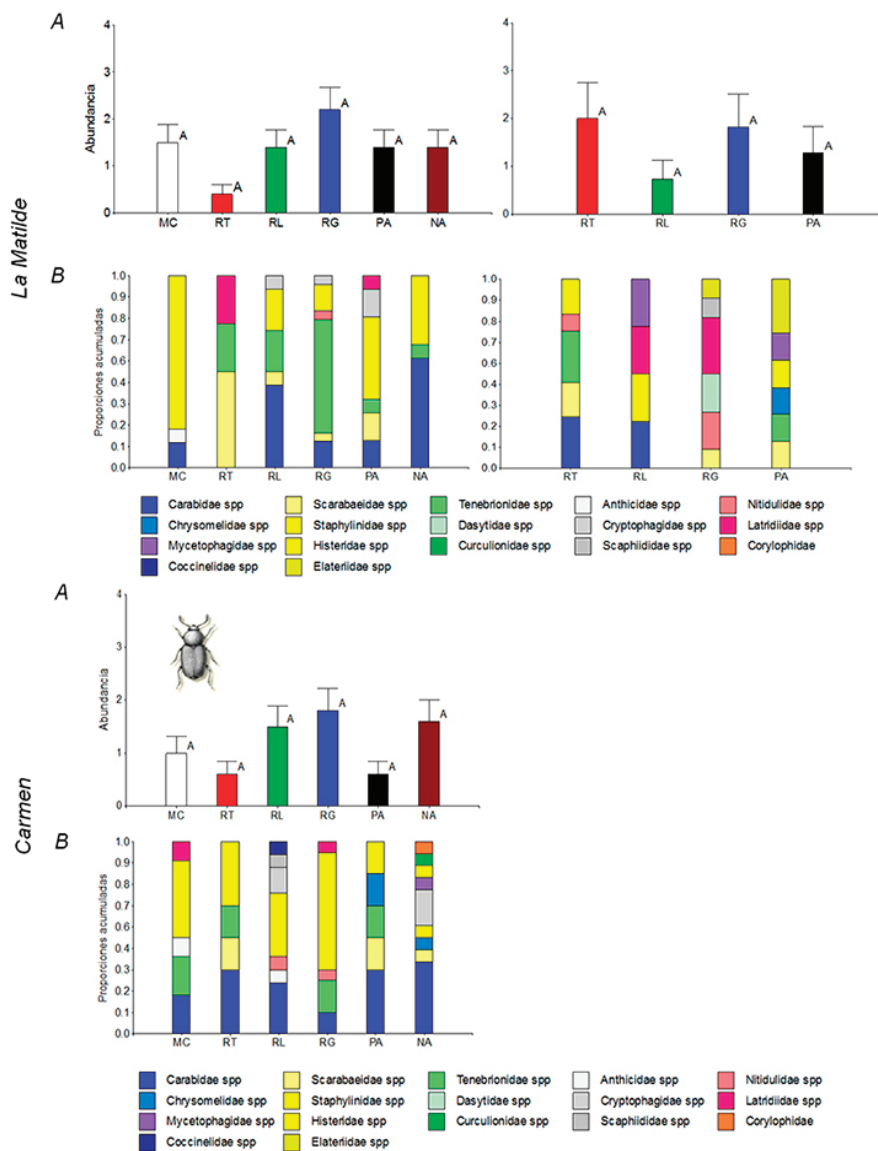
**Figura 2.** Composición taxonómica de la macrofauna en los tratamientos estudiados en los cuatro establecimientos, mediante análisis de componentes principales. A la izquierda se encuentran los gráficos del año 2015, y a la derecha los del 2016.



**Figura 3.** Abundancia total (A) y composición de familias (B) de coleópteros en los tratamientos estudiados en los cuatro establecimientos. A la izquierda se encuentran los gráficos del año 2015, y a la derecha los del 2016.



**Figura 3.** Continuación. Abundancia total (A) y composición de familias (B) de coleópteros en los tratamientos estudiados en los cuatro establecimientos. A la izquierda se encuentran los gráficos del año 2015, y a la derecha los del 2016.



## EVALUACIÓN DEL AGREGADO DE ENMIENDAS ORGÁNICAS DE ORIGEN ANIMAL Y VEGETAL SOBRE LA COMUNIDAD DE NEMATODOS DEL SUELO

Andrea S. Rodríguez (1); Estela Kees (1); Claudia V. Azpilicueta (1); Graciela E. Reybet (2)  
1 Laboratorio de Servicios Agrarios y Forestales (LASAF), Ministerio de Producción- Neuquén-  
Argentina. e-mail: lasaf\_suelos@neuquen.gov.ar  
2 Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue (UNCo), Cinco Saltos Río  
Negro - Argentina.

### RESUMEN

La aplicación de residuos orgánicos mejorara la fertilidad del suelo, la productividad del cultivo y además induce cambios en la mesofauna del suelo. El objetivo fue evaluar el agregado de dos enmiendas orgánicas, residuos de repollo *Brassica oleracea* (R) y estiércol de gallina fresco (G) sobre las poblaciones de nematodos fitopatógenos y de vida libre del suelo comparado con un control sin tratar (C), en una chacra de producción comercial de zapallo en Río Negro. Se recolectaron muestras de suelo al inicio del ensayo (T0) 23/03/2017 y a los 41 días de la incorporación de las enmiendas (T41). Los nematodos fueron extraídos del suelo por la técnica de flotación-centrifugación. Se determinó la abundancia de los grupos tróficos y funcionales de nematodos. Se calculó el índice canal. Los nematodos fitófagos representaron el 85% de la abundancia total de nematodos en T0, dominando el género *Meloidogyne* spp. con una densidad de  $529,2 \pm 98$  individuos en 100 g de suelo seco. La población de este nematodo endoparásito no varió después del agregado de las enmiendas, probablemente debido a que los compuestos tóxicos no fueron retenidos al no cubrir las parcelas tratadas y también a la textura franco arenosa del suelo. La abundancia de los nematodos de vida libre aumentó a niveles poblacionales similares a la de los fitófagos en las parcelas enmendadas a los 41 días de la aplicación de los residuos. El número de nematodos bacteriófagos y fungívoros aumentó en respuesta al agregado de las enmiendas. La abundancia del grupo funcional bacteriófagos de enriquecimiento fue 6,8 y 5,4 veces mayor en R y G respecto de C. La abundancia de fungívoros fue 5,8 y 7,3 veces mayor en G y R respecto a C, dominando el género *Aphelenchus* en las parcelas enmendadas. Las enmiendas no afectaron la población de nematodos omnívoros-predadores, sin embargo, los valores de abundancia más bajos se observaron en las parcelas tratadas, posiblemente el efecto de la labranza durante la incorporación de las enmiendas afectó su densidad. El índice canal no fue influenciado con el agregado de las enmiendas.

**Palabras clave:** repollo, estiércol de gallina, nematodos microbívoros.



## INTRODUCCIÓN

La materia orgánica constituye la principal reserva natural de los nutrientes potencialmente asimilables por las plantas. La conservación y el manejo de la misma es la vía más económica para optimizar la nutrición vegetal y por lo tanto, desempeña una función importante en la fertilidad del suelo y del sustrato. Estas enmiendas al incorporarlas pueden controlar patógenos del suelo (Oka, 2010), y aumentar considerablemente el número de nematodos bacteriófagos y predadores (Thoden et al., 2011), hongos predadores y otros enemigos naturales de los nematodos fitoparásitos, lo que contribuye a reducir los niveles de infestación de forma satisfactoria. Es una medida efectiva cuando está disponible a costos muy bajos o es localmente producida (Puertas & Hidalgo-Díaz, 2009).

Distintas enmiendas se han utilizado para controlar poblaciones de *Meloidogyne* spp. con resultados variables (McSorley, 2011; Oka, 2010). La aplicación de cama de pollo afectó positivamente la población de nematodos bacteriófagos en respuesta a una rápida proliferación bacteriana promovida por la relación de C/N baja del residuo (Koenning & Barker, 2004). La descomposición de residuos de cultivos de especies de *Brassica*, tales como repollo, brócoli, rúcula, tienen actividad nematicida. Su acción directa se debe a la formación de compuestos tóxicos a partir de la degradación de glucosinolatos (GLS), e indirecta por la estimulación de microorganismos antagonistas (Gimsing & Kirkegaard, 2009).

El uso de residuos orgánicos es una práctica común en los productores de la zona de Alto Valle para mejorar la fertilidad del suelo y la productividad. Este estudio surge de la necesidad de conocer el efecto de distintas estrategias, orientada hacia una producción sustentable, como es la biofumigación. Así mismo, la introducción de esta estrategia de manejo debe considerar el efecto asociado, no solamente a los nematodos patógenos del suelo, sino también a la fauna benéfica. Es por ello que el objetivo del presente estudio fue evaluar la influencia de enmiendas orgánicas de origen vegetal y animal sobre la comunidad de nematodos fitopatógenos y de vida libre del suelo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### CARACTERIZACIÓN DEL SITIO DE ENSAYO Y DISEÑO EXPERIMENTAL

El ensayo se realizó en un establecimiento de producción comercial de zapallo, zanahoria y cebolla, en la localidad de Contralmirante Cordero de la provincia de Río Negro (38°45' 57,7" latitud S, 68° 05' 23,5" longitud O). El principal criterio para la selección del sitio del ensayo fue el nivel elevado de

infestación del suelo con el nematodo del nudo, *Meloidogyne* spp. El suelo de origen aluvial y ubicado en la Terraza Aluvial Subreciente pertenece al orden Aridisol (Soil Survey Staf, 2010). El suelo posee una textura media franco arenosa (7% arcilla, 22% limo y 71% arena) con un pH de 7,42, conductividad eléctrica de 1,01 dS m<sup>-1</sup> (suelo no salino) y RAS de 1,21 (suelo no sódico). El contenido de materia orgánica total del suelo fue de 1,89%.

Se empleó un diseño estadístico de bloques al azar con tres repeticiones. Los tratamientos fueron: residuos de cosecha de *Brassica oleracea* var. *capitata* (R) a una dosis de 5 kg m<sup>-2</sup>, 2,5 kg m<sup>-2</sup> de estiércol fresco de gallina ponedora fresco (G) y un control sin tratar (C). La parcela fue de 2 x 3 m y la parcela útil los 2 m<sup>2</sup> centrales. Se labró el suelo con arado y rastra para lograr un buen desmenuzamiento del mismo y posteriormente se aplicaron las enmiendas orgánicas. Los residuos de repollo (hojas y raíz) fueron triturados en cintas de 5 cm aproximadamente. Para la medición del contenido de los glucosinolatos presentes en los residuos de repollo se separaron cinco plantas y se utilizó el Protocolo de determinación de tioglucosidos totales (Croft, 1979, Bongiorno et al., 2009). El estiércol de gallina ponedora contenía 10,75% N y 46,33% de materia orgánica. El 23/03/2017 se incorporó el repollo y el estiércol en los primeros 20 cm de suelo y se procedió a efectuar un riego hasta capacidad de campo. Se recolectaron las muestras de suelo el 23/03/2017 (T0), posterior a la cosecha de zapallo y el 3/05/2017, a los 41 días de la incorporación de las enmiendas (T41).

#### MUESTREO DE SUELO Y ANÁLISIS DE NEMATODOS

Las muestras de suelo fueron extraídas al azar utilizando un barreno a una profundidad de 0 a 20 cm. Se tomaron seis submuestras de la parcela útil, las cuales fueron homogeneizadas para conformar una muestra compuesta. Las mismas fueron conservadas a 4°C hasta su procesamiento. Para la extracción de los nematodos se separó una alícuota de 100 g de suelo húmedo de cada muestra y se la procesó mediante la técnica de flotación-centrifugación (Caveness & Jensen, 1955). La abundancia de cada taxón de nematodos se expresó por 100 g de suelo seco, para ello se determinó la humedad del suelo gravimétricamente secando cada muestra a 105°C, hasta peso constante. Se evaluó la comunidad de nematodos a partir de los grupos tróficos: bacteriófagos (Ba), fungívoros (Fu), fitófagos (Fi) y omnívoros-predadores (OP) de acuerdo a Yeates et al. (1993). A cada taxón se le asignó un valor de c-p (colonizador-persistente) de 1 a 5, escala relacionada con las características del ciclo de vida (Bongers & Bongers, 1998). La combinación entre el valor de c-p y el grupo trófico conforma los grupos funcionales de nematodos. Se calculó el índice canal (CI) (Ferris et al., 2001).

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

La abundancia de nematodos se analizó con un modelo lineal generalizado (MLG) (McCullagh & Nelder, 1989) según el trinomio: componente aleatorio Binomial Negativa, función de enlace canónico y componente sistemático constituido por las covariables: tratamiento y fecha (R versión 3.1.0).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se identificaron 25 taxones de nematodos (Tabla 1). El número de nematodos fitófagos representó entre el 83 y 89% de la abundancia total de nematodos al inicio del ensayo (T0), dominando el género *Meloidogyne* spp., con una densidad de  $529,2 \pm 98$  individuos en 100 g de suelo seco, presente en todas las parcelas. En segundo lugar ejemplares de la familia Trichodoridae con  $14,5 \pm 5,0$  individuos en 100 g de suelo seco, presente en el 78% de las muestras. El agregado de residuos de repollo y estiércol de gallina no afectó la densidad de *Meloidogyne* spp. en contraste con otras investigaciones donde dosis de  $4 \text{ kg m}^{-2}$  de residuos de *B. oleracea* causaron una reducción del 71 % en las poblaciones de *M. arenaria* (Masheva et al., 2012). Estudios en la zona de Alto Valle con aplicaciones de 2 y 3  $\text{kg m}^{-2}$  de estiércol de gallina y cubierto con polietileno mostraron una tendencia favorable a la disminución de la abundancia de *Meloidogyne* en el suelo respecto al control (Azpilicueta et al., 2006). Las especies de Brassicacea contienen diferentes niveles de glucosinolatos, éstos se convierten en isotiocianatos (ITC) y nitrilos en el suelo que suprimen a nematodos fitófagos incluyendo a especies de *Meloidogyne* (Edwards & Ploeg, 2014). Algunos factores determinan la eficiencia de la biofumigación, como la clase textural y la temperatura. Price et al. (2005) encontraron que las concentraciones de ITC fueron más altas en suelos cubiertos, donde la temperatura aumentó la volatilización de los ITC y la cubierta evitó la difusión desde el suelo. En nuestro ensayo, las parcelas no fueron cubiertas. También la concentración de GLS varía de acuerdo a la especie de *Brassica* utilizada y al estado fenológico (Zasada & Ferris 2004). En nuestro estudio, la incorporación de 1,7 % (w/w) de biomasa de repollo resultó en una concentración promedio de GLS de  $0,125 \mu\text{mol g}^{-1}$  de material seco. La incorporación de distintos niveles de biomasa de *B. hirta* y *B. juncea*, con contenidos de GLS de 73,1 y  $109,9 \mu\text{mol g}^{-1}$ , respectivamente, redujo la población de *M. javanica* (Zasada & Ferris, 2004).

Los nematodos bacteriófagos representaron el 10% de la abundancia total de nematodos en T0 y entre un 37 y 43% a los 41 días en las parcelas enmendadas. Hubo efecto tratamiento x fecha para Ba (Tabla 2). La abundancia de Ba fue mayor en los tratamientos R y G en T41. El número de nematodos bacteriófagos con valor de  $c-p = 1$  ( $Ba_1$ ) fue similar en R y G ( $190 \text{ individuos} \pm 77 \text{ individuos}$  en 100 g de suelo seco) y mayor que en C ( $p = 0,0027$ ). La abundancia de  $Ba_1$

fue 6,8 y 5,4 veces mayor en R y G, respecto a C. Hubo efecto fecha para la abundancia de nematodos bacteriófagos con valor de  $c-p = 2$  ( $Ba_2$ ), aumentó en T41 ( $p = 0,0002$ ). La respuesta de los nematodos  $Ba_1$  a la aplicación de R y G estaría relacionada con la disponibilidad de mayor recurso alimenticio respecto al tratamiento C, debido a que estos residuos promueven la degradación rápida mediada por bacterias (Koenning & Barker, 2004). Jiang et al. (2013) encontraron una relación positiva entre la población de bacterias y nematodos bacteriófagos. La diversidad y número de nematodos de vida libre y fitófagos puede ser alterada con el agregado de materia orgánica (Widmer *et al.*, 2002). Miembros de la familia Rhabditidae estuvieron presentes en todas las parcelas, mientras que con agregado de repollo se detectaron además individuos de la familia Diplogasteridae.

La aplicación de enmiendas orgánicas también estimuló la abundancia de nematodos fungívoros (Tabla 2), esto es consistente con las observaciones realizadas por Hinds et al. (2013). En T41 la abundancia de  $Fu$  fue 5,8 y 7,3 veces mayor en G y R respecto a C. De todos los grupos funcionales de  $Fu$  presentes en el suelo (Tabla 2), el grupo fungívoro  $c-p = 2$  prevaleció dominando el género *Aphelenchus* en las parcelas enmendadas (Fig. 1). Las especies fungívoras pueden consumir hongos patógenos de plantas y así contribuir a mejorar la sanidad de los cultivos (Friberg et al., 2005).

El índice CI da información de la naturaleza de los canales de descomposición de la materia orgánica a través de la red trófica del suelo. La determinación del CI, integra para su cálculo a los nematodos oportunistas que responden rápidamente al enriquecimiento como los grupos funcionales  $Ba_1$  y  $Fu_2$  (Ferris et al. 2001). Los valores del índice CI fueron más bajos, aunque no significativamente, en R y G en T41 ( $CI = 3,25\%$ ) comparado con el control ( $CI = 6,27\%$ ). Un índice CI bajo indica que el proceso de descomposición de la materia orgánica fue predominantemente realizado por bacterias.

La presencia de omnívoros-predadores se relaciona con la complejidad de la red trófica del suelo. La población de OP aumentó en T41. Aunque la diferencia entre los valores de OP en los tratamientos no fue significativa (Tabla 2), la mayor abundancia se observó en las parcelas control. Esta tendencia probablemente se relacione con el efecto que tuvo la labranza al momento de incorporar las enmiendas afectando negativamente a la población de OP (Treonis et al., 2010).

En resumen, el agregado de materia orgánica en forma de estiércol de gallina y residuos de repollo afectó la estructura de la comunidad de nematodos del suelo. A los 41 días de la aplicación de las enmiendas, la abundancia de los nematodos de vida libre ( $Ba + Fu + OP$ ) fue similar a la abundancia de los nematodos fitófagos (Tabla 2). La población de *Meloidogyne* spp. no fue afectada.

## BIBLIOGRAFÍA

- Azpilicueta C, Maero E. Reybet, G., Escande, A. 2006. Efecto de la biofumigación sobre una población de *Meloidogyne* en cultivo de avena y almácigo de cebolla en Neuquén. Horticultura Argentina. 25.
- Bongers, T. Bongers, M. 1998. Functional diversity of nematodes. Applied Soil Ecology. 10: 239–251.
- Bongiorno, M., Larrosa, C., Maidana, A., Arenas, M. Cruz, Y., López, R., Gianuzzi, L., Cap, G. 2009. Biofumigación con recursos locales: el caso de la producción hortícola de los quinteros del Parque Pereyra Iraola. LEISA. Revista de Agroecología. 25.
- Caviness, FE., Jensen, HJ. 1955. Modification of the centrifugal-flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. Proceedings of the Helminthological Society of Washington. 22: 87-89.
- Croft, A. G. 1979. The Determination of Total Glucosinolates in Rapeseed Meal by Titration of Enzyme-liberated Acid and the Identification of Individual Glucosinolates. Journal of the Science of Food and Agriculture. 30: 417- 423.
- Edwards, S., Ploeg, A. 2014. Evaluation of 31 Potential biofumigant Brassicaceous plants as hosts for three *Meloidogyne* Species. Journal of Nematology. 46: 287–295.
- Ferris, H., Bongers, T., De Goede, RGM. 2001. A framework for soil food web diagnostics: Extension of the nematode faunal analysis concept. Applied Soil Ecology. 18: 13–29.
- Friberg, H., Lagerlöf, J., Rämert, B. 2005. Influence of soil fauna on fungal plant pathogens in agricultural and horticultural systems. Biocontrol Science and Technology 15: 641-658.
- Gimsing, AL., Kirkegaard, JA. 2009. Glucosinolates and biofumigation: fate of glucosinolates and their hydrolysis products in soil. Phytochemistry Review. 8: 299-310.
- Hinds, J., Wang, K-H., Marahatta, P., Meyer, SL., Hooks, C. 2013. Sunn hemp cover cropping and organic fertilizer effects on the nematode community under temperate growing conditions. Journal of Nematology. 45: 265–271.
- Koenning, SR., Barker, KR. 2004. Influence of poultry litter applications on nematode communities in cotton agro ecosystems. Journal of Nematology. 36: 524-533.

- Masheva, S., Yankova, V., Toskov, G. 2012. Plant species screening for biofumigant activity against soil-borne pathogens and root-knot nematodes. *Agricultural Science and Technology*. 4: 139-142.
- McCullagh, P. Nelder, J.A. 1989. *Generalized linear models*, 2nd Edition. Chapman & Hall, London. 511 pp.
- McSorley, R. 2011. Overview of Organic Amendments for Management of Plant-Parasitic Nematodes, with Case Studies from Florida. *Journal of Nematology*. 43: 69–81.
- Oka, Y. 2010. Mechanisms of nematode suppression by organic soil amendments—A review. *Applied Soil Ecology*. 44: 101–115.
- Puertas, A., Hidalgo-Díaz, L. 2009. Efecto de diferentes abonos orgánicos sobre el establecimiento de *Pochonia chlamydosporia* var. *Catenulata* en el sustrato y la rizósfera de plantas de tomate. *Revista de Protección Vegetal*. 24: 162-165.
- Price, Aj., Charron, CS., Sazton, AM., Sams CE. 2005. Allyl isothiocyanate and carbon dioxide produced during degradation of *Brassica juncea* tissue in different soil conditions. *HortScience*. 40: 1734-1739.
- R Development Core Team. 2014. "R: A Language and Environment for Statistical Computing." Vienna, Austria: R Foundation for Statistical Computing.
- Thoden, TCT., Orthals, GWK., Ermorshuizen, AJT. 2011. Organic amendments and their influences on plant-parasitic and free-living nematodes : a promising method for nematode management ? *Nematology*. 13:133–153.
- Treonis, AM., Austin, EE., Buyer, JS., Maul, JE., Spicer, L., Zasada, I. 2010. Effects of organic amendment and tillage on soil microorganisms and microfauna. *Applied Soil Ecology*. 46:103–110.
- Widmer, TL., Mitkowski, NA., Abawi, GS. 2002. Soil organic matter and management of plant-parasitic nematodes. *Journal of Nematology*. 34: 289-295.
- Zasada, IA., Ferris, H. 2004. Nematode suppression with brassicaceous amendments : application based upon glucosinolate profiles. *Soil Biology & Biochemistry*. 36:1017–1024.
- Soil Survey Staff. 2010. *Keys to Soil Taxonomy*. 11th Edition. USDA. Washington D.C. 338 pp.
- Yeates, G. W., Bongers, T., De Goede, R. G., Freckman, D. W., Georgieva, S. S. 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera—an outline for soil ecologists. *Journal of Nematology*. 25: 315–331.

**Tabla 1.** Grupos tróficos de nematodos encontrados durante el desarrollo del ensayo.

Bacteriófagos	Fungívoros	Omnívoros- predadores	Fitófagos obligados + facultativos
<i>Acrobeles</i> (2) <sup>a</sup>	<i>Aphelenchoides</i> (2)	Actinolaimidae(5)	Criconematidae(3)
Cephalobidae(2)	<i>Aphelenchus</i> (2)	<i>Aporcelaimellus</i> (5)	<i>Ditylenchus</i> (2)
Diplogasteridae(1)	<i>Diphtherophora</i> (3)	Dorylaimida(4)	<i>Helicotylenchus</i> (3)
<i>Diploscapter</i> (1)	Tylencholaimidae(4)	<i>Ecumenicus</i> (4)	<i>Meloidogyne</i> (3)
Monhysteridae(2)		<i>Mylonchulus</i> (4)	<i>Pratylenchus</i> (3)
<i>Panagrolaimus</i> (1)			Trichodoridae(4)
Plectidae(2)			Tylenchidae(2)
Rhabditidae(1)			
<i>Zeldia</i> (2)			

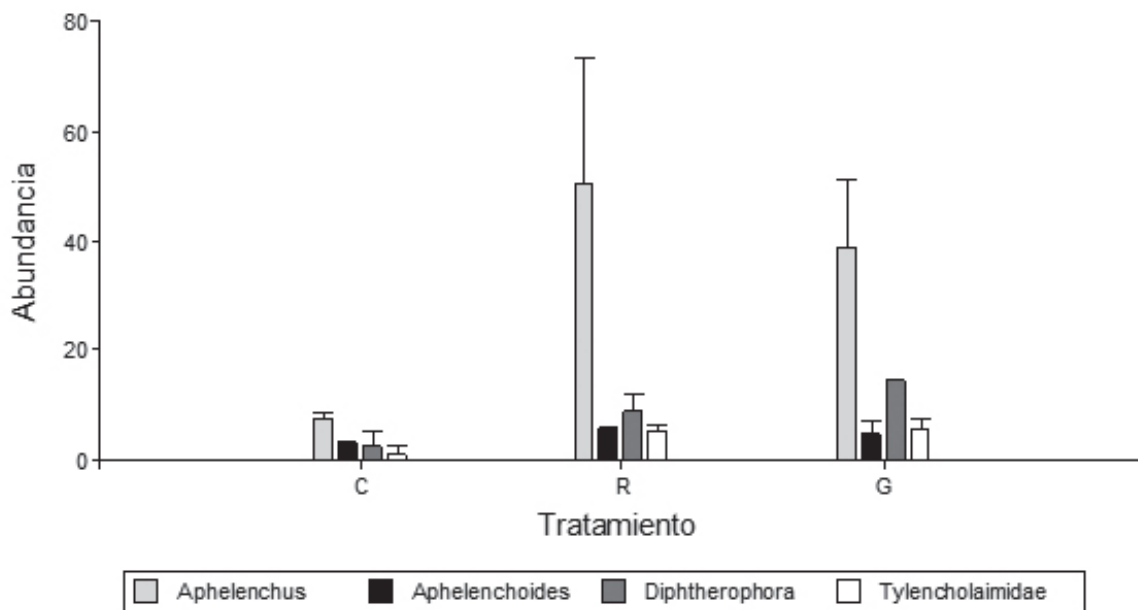
<sup>a</sup> Los números entre paréntesis corresponden al valor de colonizador-persistente asignado por Bongers & Bongers (1998).

**Tabla 2.** Abundancia (número de individuos en 100 g de suelo seco ± error estándar) de grupos tróficos de nematodos por tratamiento en dos momentos de muestreo.

Tratamiento	Ba		Fu		Fi		OP	
	T0	T41	T0	T41	T0	T41	T0	T41
<b>C</b> (Control)	50,7b	92,0b	18,7b	9,0b	646,7	542,0	7,0	36,7
	(10,7)	(35,3)	(9,0)	(0,5)	(162,0)	(284)	(1,0)	(22,0)
<b>G</b> (estiércol de gallina)	58,0b	379,8a	17,7b	52,3a	416,7	497,3	8,3	28,3
	(17,7)	(31,0)	(6,0)	(12,7)	(226,0)	(178,6)	(3,7)	(9,0)
<b>R</b> (residuo repollo)	85,7b	419,0a	11,3b	65,7a	575,7	456,3	7,3	22,0
	(26,5)	(114,5)	(2,2)	(24,4)	(157,0)	(55,0)	(2,0)	(7,0)
MLG								
T (Tratamiento)	<0,0001		0,0048		ns		ns	
F (Fecha)	0,0008		0,0151		ns		0,0001	
T x F	0,0248		0,0008		ns		ns	

Ba: bacteriófagos, Fu: fungívoros, Fi: fitófagos, OP: omnívoros-predadores. Los valores entre paréntesis corresponden al error estándar de la media. MLG: Modelo lineal generalizado. Las letras distintas indican diferencias significativas entre tratamiento y fecha para cada grupo trófico. ns= no significativo.

**Fig. 1.** Abundancia de nematodos fungívoros en 100 g de suelo seco en los tratamientos C: control, R: residuo de repollo y G: estiércol de gallina en T41. Cada media fue obtenida de tres observaciones. El error estándar de la media indicado por barras.





---

## INDICADORES EDÁFICOS EN LA PRODUCCIÓN HORTÍCOLA AGROECOLÓGICA DE LA COLONIA AGRÍCOLA DE ABASTECIMIENTO URBANO "20 DE ABRIL - DARÍO SANTILLÁN"

*Sakellaropoulos, Nadia (2,4); Berro, Andrés (2); Breit, Agostina (2); Nistal, Ayelén (2);  
González, Ignacio (2); Ullua, Lihué (3); Vita, Federico (1,3) y Di Ciocco, César (1,3).  
1 Dpto. de Ciencias Básicas, 2 Estudiantes de Ing. Agronómica,  
3 Ing. Agr. Grupo de Sustentabilidad Agropecuaria-INEDES, UNLu.  
Av. Constitución y Ruta 5 CC 221 (6700), Luján, Buenos Aires, Argentina.  
4 Autora de contacto: nadiasakell@gmail.com*

### RESUMEN

La Colonia Agrícola, ubicada en la localidad de Jáuregui, partido de Luján, posee una superficie de 80 ha. Los productores realizan el cultivo de hortalizas con manejo agroecológico. El suelo predominante es Argiudol típico, serie Mercedes. El predio se encontraba con pastoreo de vacunos hasta diciembre de 2015, cuando cinco familias horticultoras provenientes de Abasto de La Plata, comenzaron a producir con esta modalidad. Se estudió, luego de 6 meses la situación físicoquímica y biológica de los suelos bajo producción y se los comparó con suelos no perturbados cercanos a los lotes productivos y valores regionales. El relevamiento se realizó a fines de marzo de 2017, tomando 5 submuestras de cada parcela. Las muestras fueron colectadas con barreno a una profundidad de 0-10 cm y procesadas en laboratorio. Los parámetros físicoquímicos estudiados fueron la densidad aparente, lámina actual y MO y los biológicos: la mesofauna, la respiración edáfica y el índice de mineralización. Los datos fueron analizados mediante un ANOVA y sus diferencias con la prueba de Duncan. La densidad aparente de todas las situaciones presentó valores ideales (según USDA) sin diferencias estadísticamente significativas entre zonas productivas y no perturbadas. La lámina actual no presentó diferencias significativas, lo cual indica que el riego no distingue dos tipos de parcelas. La materia orgánica, que en todos los sitios fue de media a alta (según Conti, 2000), y la respiración edáfica, presentaron valores adecuados en las parcelas evaluadas sin mostrar diferencias estadísticamente significativas entre el testigo y las parcelas estudiadas, como así tampoco entre parcelas regadas y de secano. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre las parcelas X (bajo riego y con reciente laboreo) y V (riego). La mesofauna presentó diferencias estadísticamente significativas sólo entre las parcelas X e Y, posiblemente, relacionado con la cobertura del suelo de los cultivos implantados durante el período estival que presenta altas temperaturas y baja pluviometría y mayor evaporación.

**Palabras-clave:** Agroecología, horticultura, indicadores edáficos.

## INTRODUCCIÓN

La Colonia Agrícola de Abastecimiento Urbano 20 de Abril “Darío Santillán” (La Colonia), se encuentra en el predio del ex-Instituto Nacional “Ramayón López Valdivieso” (34°37’06” Sur y 59°10’40” Oeste), Luján, provincia de Buenos Aires. El clima de la región es templado húmedo con veranos muy cálidos (clasificación Koeppen) (Goldberg *et al*, 1995). El suelo predominante es el Argiudol típico (Serie Mercedes), según cartas del INTA (1967) y relevamientos propios previos. Posee una superficie de 80 ha, las cuales se encontraban con pastoreo vacuno hasta diciembre de 2015, cuando cinco familias, de un total de 50, comenzaron a producir hortalizas. Proviene de la zona de Abasto de La Plata con amplia experiencia en producción convencional y se enfrentan a un cambio de paradigma: del uso de agroquímicos para control de malezas, plagas y enfermedades, a un modelo agroecológico, basado en tecnologías de proceso: intensificación del uso de mano de obra, incorporación de cultivos no hortícolas, uso de productos para control biológico, refugios para predadores, cobertura de suelos, por citar algunos. Se realizó un muestreo inicial de cinco parcelas de una hectárea cada una. Se consideró como parcela a la superficie que le corresponde a cada productor (ver ubicación en Imagen 1). El presente trabajo tiene por objetivo analizar los valores actuales de densidad aparente, materia orgánica, lámina actual, mesofauna, respiración edáfica, índice de mineralización y analizar qué parámetros de todos los que se midieron detectan diferencias en la calidad edáfica de las parcelas de los primeros cinco productores de la Colonia en contraste con suelos no perturbados.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El muestreo se realizó a fines de marzo de 2017 (inicio del otoño), con 5 submuestras de cada parcela al azar, sin diferenciar los cultivos que allí se realizan, y se tomó como testigo (4 submuestras en pradera y 4 en monte (ver Imagen 1)) a los suelos cercanos de monte y pastizales no perturbados (ver Tabla 1). Para este estudio se decidió utilizar parámetros de análisis que nos permitiesen ver la situación inicial y su evolución de acuerdo al manejo que realice cada productor en su parcela (FAO, 2000; FAO, 2004). Para ello se tuvieron en cuenta los parámetros físicos tradicionales y los biológicos que son los más afectados en los momentos iniciales de la perturbación edáfica (Pascual 1996; Filip 2002; Ferreras, 2009; Di Ciocco, 2014). Se muestreó con barreno a una profundidad de 0-10cm y a distancias no inferiores a los 25 m entre sí. La densidad aparente (DAP) se calculó por el método del cilindro (Blake y Hartge, 1986), con

barreno de 126cm<sup>3</sup>. Las muestras se secaron a 80°C en estufa. La densidad aparente se obtuvo del cociente peso seco/volumen. La lámina actual (Lactual) se midió utilizando los datos de peso húmedo (Phúmedo), peso seco (Pseco), densidad aparente (DAP) y la profundidad del barreno (prof) (con la fórmula:  $L_{actual} = (Phúmedo - Pseco) * DAP * prof * Pseco^{-1}$  (según Conti, 2000). El porcentaje de materia orgánica (MO) se obtuvo por la metodología Walkey-Black (Álvarez y Steinbach, 2006). Para la determinación de la mesofauna se utilizó el método del embudo adaptado de Berlesse-Tullgren. El mismo consta de un embudo sobre el cual se coloca un tamiz con un diámetro de malla de 3mm. Sobre el tamiz se colocaron 60cm<sup>3</sup> de suelo, de forma invertida y ligeramente desagregada manualmente y sobre el conjunto se aplica una fuente de luz, ya que la mayoría de los organismos del suelo son lucífugos (huyen de la luz) e higrófilos (con afinidad por la humedad) por lo que resulta fácil extraerlos aplicándoles un gradiente creciente de luz y calor, el cual es el fundamento de este tipo de técnica (Sandler *et al.* 2010). Luego de 7 días se procedió al reconocimiento de los organismos bajo lupa para su identificación. La respiración edáfica, que mide indirectamente la actividad microbiana, se evaluó en muestras de 20g de suelo con el contenido de humedad original. Se colocaron en recipientes de 350ml, que contiene un recipiente menor en el centro del frasco con 20ml de NaOH 0,2N. El sistema se cierra herméticamente e incuba a 30°C durante 10 días. El CO<sub>2</sub> liberado por la respiración microbológica se recupera en el recipiente con el NaOH 0,2N. Como controles se utilizaron frascos sin suelo y con la trampa de álcali. La producción de CO<sub>2</sub> se determinó por titulación con HCl 0,2N y fenolftaleína como indicador (Frioni, 1999). El índice de mineralización es el cociente entre la respiración y el carbono orgánico del suelo. Se realizó ANOVA para el análisis estadístico de todos los datos. Las diferencias entre tratamientos se evaluaron con la prueba de Duncan y se empleó el programa Statistic (Statística, 2005).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los datos fueron analizados considerando la situación productiva de cada parcela. Se observó que la DAP de todos los suelos muestreados es óptima según lo establecido por USDA (1999) para suelos franco limosos (<1,40g.cm<sup>-3</sup>). La lámina actual no presentó diferencias significativas entre parcelas con distinto riego ni con los sitios testigo. Presentó su menor valor en la parcela Y (sin riego y con cultivos de alta demanda hídrica), seguido por el testigo, tal vez en este último por la ausencia de cultivos demandantes de agua. La mayor lámina se encuentra en la parcela Z, debido al riego complementario y la cobertura total del suelo que disminuye la evaporación. Los suelos se encuentran con niveles de materia orgánica medios a altos, según datos promedio de referencia (Conti, 2000), y acordes con la serie de suelo (4,08% según carta del INTA, 1967). Las parcelas

en producción no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre sí, ni comparados con el testigo. Asimismo, la parcela X presentó baja MO pero buena provisión de agua con un mayor nivel de disturbio (Tabla 2). En cuanto a la respiración edáfica las parcelas W, X y Z presentaron una actividad microbiana moderadamente baja ( $10,64 - 17,92 \mu\text{g de C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$  de suelo  $\text{día}^{-1}$ ), mientras que las situaciones Y, V y testigo presentan una actividad mediana ( $17,92 - 35,84 \mu\text{g de C-CO}_2 \text{ g}^{-1}$  de suelo  $\text{día}^{-1}$ ) según USDA (1999). En éstas últimas, la mayor actividad pudo deberse al menor disturbio o a que presentaban baja perturbación en los últimos 6 meses (Y y V). En la parcela V se registraron valores de respiración significativamente mayores que los registrados en la parcela X. La respiración se diferenció significativamente entre las parcelas X y V, pero no se diferenciaron del resto de las parcelas ni del testigo. El índice de mineralización presentó valores inferiores a 1 en todos los casos excepto en la parcela V. Según Abril (2003), valores menores a uno podrían indicar que la humificación, propia de sistemas conservados, supera a la mineralización, que caracteriza a los sistemas perturbados. El índice de mineralización no muestra diferencias estadísticamente significativas. Los bajos valores de mineralización en la parcela X, menores a todos los suelos bajo producción e inclusive inferiores a los suelos testigo, indican una situación conservada con alta humificación, donde el disturbio provocado por el manejo productivo presentó un nivel de mineralización relativamente bajo, posiblemente relacionado con una escasa actividad microbiana y el bajo nivel de mesofauna. La mesofauna presentó diferencias estadísticamente significativas, la mayor en la parcela Y y menor en la parcela X. En la parcela Y, se mantuvo una cobertura total del suelo a una altura de 80 cm durante, al menos, 4 meses de mayor demanda atmosférica, generando un microclima edáfico de temperaturas y humedad constantes, que se supone, favoreció la supervivencia de la mesofauna. En la parcela X las situaciones productivas presentaron un laboreo del suelo más reciente, lo cual favorece la insolación y desecación del mismo, condicionando su desarrollo.

## CONCLUSIONES

- La lámina actual, la DAP, la mineralización y la MO, no muestran diferencias estadísticamente significativas en ninguna de las parcelas estudiadas ni con el testigo para evaluar calidad edáfica en esta instancia.
- Se debe continuar estudiando ciertos parámetros como la respiración edáfica, ya que mostró diferencias estadísticamente significativas en dos parcelas contiguas (Tabla 2 e Imagen 1).
- La mesofauna mostró diferencias estadísticamente significativas pero relacionada al tipo de cultivo y a la cobertura en el mes mas crítico y de mayor demanda hídrica.

- El manejo del suelo y los cultivos de cobertura, podrían ser decisivos a la hora de establecer medidas de conservación y sustentabilidad en los sistemas de producción agroecológico, puesto que las diferencias estadísticamente significativas encontradas son los parámetros biológicos, que son los más sensibles en la disturbación edáfica, son los únicos que mostraron diferencias estadísticamente significativas.

- Los datos obtenidos en este trabajo sientan las bases para futuros indicadores de la estabilidad y sustentabilidad del agroecosistema estudiado.

**Institución Financidora:** Universidad Nacional de Luján. Departamento de Ciencias Básicas.

## **AGRADECIMIENTOS**

A los productores de la Colonia Agrícola de Abastecimiento Urbano “20 de Abril – Darío Santillán” y a la Unión de Trabajadores por la Tierra por permitirnos realizar este trabajo y recibirnos siempre amablemente, brindarnos su apoyo y compartir la información necesaria para su realización.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Abril A., 2003. ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología Austral*, 13:195-204.

Álvarez R, Steimbach H, 2006, Valor Agronómico de la Materia Orgánica. Cap 2 en: *Materia Orgánica, Valor Agronómico y Dinámica en los Suelos Pampeanos*. Ed. Facultad de Agronomía. Buenos Aires, Argentina

Blake y Hartge, 1986

Conti, M. E., 2000. *Materia orgánica del suelo*. Cap.2. 67-86. En: *Principio de edafología con énfasis en suelos argentinos*. Conti ME (Eds.). Buenos Aires 430 p. Editorial Facultad de agronomía, 2ª edición.

Di Ciocco C, Sandler R, Falco L & Coviella C. 2014. Actividad microbiana de un suelo sometido a distintos usos y su relación con variables físico-químicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de Cuyo (ISI)*. 46(1): 73-85. ISSN impreso 0370-4661.

- FAO, 2000. Manual de prácticas integradas de manejo y conservación de suelos, Boletín de agua y tierras de la FAO N°8, disponible en: <ftp://ftp.fao.org/agl/agll/docs/lw8s.pdf>
- FAO, 2004?, Materia orgánica y actividad biológica, disponible en: [http://www.fao.org/ag/ca/training\\_materials/cd27-spanish/ba/organic\\_matter.pdf](http://www.fao.org/ag/ca/training_materials/cd27-spanish/ba/organic_matter.pdf)
- 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. *Ci Suelo* 27(1):103-114.
- Filip Z K. 2002. International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. *Agr. Ecosyst. Environ.* 88:169-174.
- Froni L. 1999. Procesos microbianos. Ed. de la Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto. Argentina. 322 pp.
- Goldberg S, Cirera I, Parella M, Benítez A, Bulos L, Troncoso A. 1995. Caracterización climática y agroclimática de la Cuenca del Río Luján, Jornada sobre la Cuenca del Río Luján. Resúmenes. Luján.
- INTA, 1967, Descripción de series edafológicas. Disponible en: [http://anterior.inta.gob.ar/suelos/cartas/3560/Lujan/guia\\_unid\\_cartog.htm](http://anterior.inta.gob.ar/suelos/cartas/3560/Lujan/guia_unid_cartog.htm)
- Pascual J. A. 1996. Efectividad de los residuos orgánicos en la mejora de la calidad de suelos áridos: aspectos biológicos y bioquímicos. Tesis Doctoral. Murcia (España). Universidad de Murcia. 428 p.
- Sandler R, Falco L, Di Ciocco C, De Luca R, Coviella C. 2010, Eficiencia del embudo Berlese-Tullgren para extracción de artrópodos edáficos en suelos Argiudoles típicos de la provincia de Buenos Aires. *Revista Ciencia del Suelo* Vol. 28 N°1.
- Statistica. 2005. StatSoft disponible en: <http://www.statsoft.com>
- USDA. 1999. Guía de Calidad y Salud del Suelo, disponible en: [https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE\\_DOCUMENTS/stelprdb1044786.pdf](https://www.nrcs.usda.gov/Internet/FSE_DOCUMENTS/stelprdb1044786.pdf)

**Imagen 1.** Parcelas productivas de los cinco primeros productores de la Colonia Agrícola de Abastecimiento Urbano “20 de Abril – Darío Santillán” Los puntos blancos indican los sitios de muestreo de las muestras testigo Fuente: elaboración grupal sobre imagen satelital de Google Earth del 24 de febrero de 2016.



**Tabla 1.** Caracterización de los sitios de muestreo.  
 Elaboración grupal. Todas las parcelas son de una hectárea.

Parcela/ Productor	Cultivo	Riego	Descripción del sitio
V	Puerro*	Goteo	Suelo descubierto.
	Maíz*	Secano	Suelo con cobertura parcial del cultivo (asociación de maíz y zapallo*).
W	Rúcula*	Goteo	Suelo completamente cubierto por el cultivo.
	Remolacha*	Goteo	Suelo parcialmente cubierto por remolacha, con riego por goteo.
	Pradera		Suelo completamente cubierto por gramón y chamico*
	Morrón*	Goteo	Suelo completamente cubierto por gramón, con plantas de pimientos fructificadas.
X	Acelga*	Goteo	Suelo recién desmalezado con acelga.
	Zapallo	Goteo	Suelo con cobertura total por zapallo y gramón
	Arado		Suelo recientemente laboreado y alomado, sin cobertura.
Y	Cosechado		Suelo recientemente removido por la cosecha de batata*, sin cobertura.
	Zapallo	Secano	Suelo con cobertura total por zapallo y hojarasca en superficie
	Batata	Secano	Suelo con cobertura total por batata, sin hojarasca y presencia de gramón
	Batata	Secano	Suelo con cobertura total por batata, sin hojarasca y presencia de gramón
	Maíz	Secano	Suelo parcialmente cubierto por gramón de poca altura.
Z	Maíz	Goteo	Suelo completamente cubierto por gramón recién cortado con residuo como cobertura, con plantas de maíz senescentes.
	Chaucha*	Goteo	Suelo completamente cubierto por gramón con algunas plantas de chaucha senescentes.
	Amaranto*	Goteo	Suelo completamente cubierto por gramón, con algunas plantas amaranto senescente.
	Tomate*	Goteo	Suelo completamente cubierto por gramón con plantas de tomate senescente.
Testigo	Pradera		Suelo completamente cubierto por gramón* de poca altura.
	Pradera		Suelo completamente cubierto por gramón, de poca altura.
	Pradera		Suelo completamente cubierto por gramón, carqueja* y arbustivas sin identificar.
	Pradera		Suelo parcialmente cubierto por gramón, de poca altura.
	Monte		Suelo con cobertura total de acacia negra, ligustrina y gramón
	Monte		Suelo con cobertura total de acacia negra* y gramón.
	Monte		Suelo con cobertura total de acacia negro, ligustrina y gramón.



\*Gramón (*Cynodon dactylon*), carqueja (*Baccharis* sp.), puerro (*Alium porrum*), maíz (*Zea mays*), zapallo (*Cucurbita maxima*), rúcula (*Eruca sativa*), remolacha (*Beta vulgaris*), chamico (*Datura ferox*), morrón (*Capsicum annuum* var. *annuum*), acacia negra (*Gleditsia tricanthos*), acelga (*Beta vulgaris* var. *cicla*), ligustrina (*Ligustro sinense*), batata (*Ipomea batatas*), chaucha (*Phaseolus vulgaris*), amaranto (*Amaranthus* sp.), tomate (*Lycopersicon esculentum*).

**Tabla 2.** Características de los suelos estudiados. DAP: densidad aparente, MO%: porcentaje de materia orgánica. Letras diferentes representan diferencias significativas con  $p < 0.05$

Parcela	DAP [g cm <sup>-3</sup> ]	Lámina actual [mm]	MO (%)	Respiración [μg C-CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> de suelo día <sup>-1</sup> ]	Índice de mineralización [μg de C-CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> suelo día <sup>-1</sup> 1/g kg <sup>-1</sup> ]	Mesofauna [organismos en 60 cm <sup>-3</sup> suelo]
V	1,16±0,04 a	23,29±13,41 a	4,16±0,62 a	23,85±2,05 a	1,02±0,24 a	3,50±2,50 ab
W	1,12±0,04 a	26,63±2,15 a	4,15±0,18 a	17,32±2,93 ab	0,62±0,12 a	2,00±1,35 ab
X	1,30±0,14 a	25,12±6,35 a	3,72±0,13 a	12,16±3,06 b	0,56±0,17 a	0,67±0,33 a
Y	1,17±0,07 a	16,13±1,37 a	4,18±0,42 a	19,82±3,52 ab	0,84±0,10 a	5,20±1,53 b
Z	1,15±0,08 a	29,04±3,27 a	4,36±0,25 a	16,10±0,90 ab	0,87±0,06 a	1,25±0,75 ab
Testigo	1,20±0,06 a	20,21±3,56 a	4,39±0,10 a	17,94±2,09 ab	0,65±0,08 a	3,29±0,61 ab

## ***EISENIA FETIDA* (ANNELIDA: OLIGOCHAETA, LUMBRICIDAE): BIOINDICADOR DEL EFECTO TÓXICO DE GLIFOSATO**

Salvio, C. (1); Rafael, S. (1); Clemente, N.L. (1); Manetti, P.L. (1)  
1 Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata – Unidad Integrada  
Balcarce. Ruta 226 Km 73,5, Balcarce (7620). 02266 43-0456, interno 702.  
salvio.carla@inta.gob.ar

### **RESUMEN**

Las lombrices, organismos benéficos que integran la macrofauna edáfica, representan el 92 % de la biomasa animal de los suelos y son considerados indicadores de la salud del suelo. Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue evaluar los efectos letales y subletales del herbicida Glifosato sobre *Eisenia fetida* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae). La unidad experimental consistió en un recipiente (11,5 cm de diámetro y 11 cm de altura) con 750 g de suelo (proveniente de una pastura sin aplicación de agroquímicos por más de 30 años) mezclado con la dosis del herbicida y 10 individuos de *E. fetida* (300-600 mg). Se utilizó el herbicida Glifosato (concentrado soluble, 48% de ingrediente activo (i.a.)) a las siguientes dosis: 0, 720 (dosis de aplicación recomendada), 1440, 2880, 4320 y 5760 g de i.a. ha<sup>-1</sup>. El diseño fue completamente aleatorizado con 4 repeticiones y el bioensayo se llevó a cabo en condiciones controladas a 20±2 °C y con un fotoperiodo de 14L:10O. Se evaluaron el número de individuos vivos y/o muertos, la biomasa en peso húmedo (mg) a los 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación (DDA) y el número de cocones y de juveniles a los 56 DDA. Las variables se sometieron a análisis de la varianza ( $\alpha = 0,05$ ). Se observó que las diferentes dosis de Glifosato no afectaron la supervivencia de *E. fetida*. Con respecto al cambio de peso de *E. fetida* no difirió entre los distintos tratamientos a los 7 ( $p = 0,809$ ), 14 ( $p = 0,746$ ), 21 ( $p = 0,535$ ) y 28 DDA ( $p = 0,489$ ). Considerando los parámetros reproductivos tanto en el número de cocones como de juveniles no se detectaron diferencias entre las distintas dosis del herbicida a los 56 DDA ( $p = 0,245$  y  $p = 0,120$ , respectivamente). En consecuencia, Glifosato aplicado a la dosis recomendada como a dosis superiores no causaron efectos letales ni subletales sobre *E. fetida*.

**Palabras clave:** herbicida, lombrices, bioensayo ecotoxicológico

## INTRODUCCIÓN

El uso creciente de los plaguicidas en la agricultura puede traer efectos deletéreos sobre los organismos no blanco y a largo plazo, conducir al desarrollo de daños irreversibles tanto en la estructura como en la función del suelo (García-Torres *et al.*, 2014). Glifosato es uno de los plaguicidas más utilizado en todo el mundo (Casabé *et al.*, 2007). Generalmente, se lo considera como un herbicida de toxicidad baja para peces, aves, mamíferos e invertebrados en comparación con otros agentes de protección de cultivos y es amigable para el medio ambiente debido a su biodegradación y a su adsorción fuerte al suelo (Gómez *et al.*, 2012). Ahora bien, de acuerdo al tipo de formulación, la dosis y la forma de aplicación, Glifosato puede afectar directa o indirectamente a los organismos que viven en el suelo, como son los oligoquetos terrestres (Correia y Moreira, 2010; García-Torres *et al.*, 2014). Los oligoquetos poseen quimiorreceptores en la superficie del cuerpo que les proporcionan una sensibilidad elevada a los químicos que se encuentran en el suelo (Reinecke *et al.*, 2002), y en consecuencia, son considerados como bioindicadores de los factores antropogénicos de estrés (Römke *et al.*, 2005). Dentro de estos organismos, *Eisenia fetida* es la especie más utilizada en los bioensayos de toxicidad porque posee un ciclo de vida corto, fecundidad y sensibilidad elevada a los químicos y facilidad de cría en condiciones de laboratorio (Lowe y Butt, 2007). Es una especie típica compostera característica de suelos arenosos y de ambientes peridomésticos donde se acumula materia orgánica. Desde el punto de vista ecológico es una especie epígea y es considerada como un indicador de alto valor de contaminación orgánica (Momo y Falco, 2010). Por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue determinar los efectos letales y subletales sobre *E. fetida* expuesta a diferentes dosis de aplicación de Glifosato.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los individuos de *E. fetida* se obtuvieron mediante una cría masiva realizada en una cámara de cría a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  y 14L: 10O. Para ello se colocaron individuos adultos (con clitelo) en recipientes de plástico de 30 x 40 cm y 25 cm de altura con tierra húmeda y se alimentaron con restos orgánicos vegetales (cáscaras de frutas, yerba mate y borra de café). Para el bioensayo se seleccionaron individuos adultos clitelados con un rango de peso de 300-600 mg, los cuales se pesaron con una balanza analítica electrónica (precisión = 0,001 g).

La unidad experimental consistió en un recipiente de 11,5 cm de diámetro y 11 cm de altura con 750 g de suelo mezclado con la dosis del herbicida y 10 individuos de *E. fetida* (300-600 mg). El suelo que se utilizó

fue recolectado de una pastura con más de 30 años sin aplicación de plaguicidas (6 % de materia orgánica; 43,4 % de arcilla; 30 % de limo; 26,6 % de arena; pH= 6,2 y conductividad 0,22 mmhos cm<sup>-1</sup>).

Se utilizó el herbicida Glifosato (concentrado soluble, 48% de ingrediente activo (i.a.)) a las siguientes dosis: 0, 720 (dosis de aplicación recomendada), 1440, 2880, 4320 y 5760 g de Glifosato ha<sup>-1</sup>. Para lograr las dosis adecuadas de i.a. por kg de suelo seco, se realizaron diluciones del herbicida en agua destilada, teniendo en cuenta que el peso de suelo de una hectárea a 5 cm y con una densidad aparente de 1,2 Mg m<sup>-3</sup> equivale a 600.000 kg. Los tratamientos se aplicaron asperjando homogéneamente las diluciones sobre el suelo con un pulverizador manual. Para ello, se extendió una capa fina y uniforme del mismo sobre un paño de nylon de 100 x 100 cm, con el cual se realizaron 20 movimientos desde las partes laterales hacia el centro para lograr una incorporación adecuada del herbicida.

El bioensayo se llevó a cabo en condiciones controladas a 20±2 °C y con un fotoperiodo de 14L:10D bajo un diseño completamente aleatorizado con 4 repeticiones.

A los 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación (DDA) se evaluaron el número de individuos vivos y/o muertos y el peso húmedo (mg). Se determinó el cambio de peso (%) de los organismos de *E. fetida* considerando el peso de los individuos en cada fecha de observación en los diferentes tratamientos químicos con respecto al peso en el tratamiento testigo a los 7, 14, 21 y 28 DDA. El bioensayo se extendió hasta los 56 DDA para observar el número de cocones y de juveniles. En cada observación, se controló la humedad del suelo y cuando fue necesario se asperjó con agua destilada.

Las variables se analizaron mediante análisis de la varianza, previa validación del supuesto de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene ( $\alpha=0,05$ ). Los análisis se realizaron con el programa R 3.2.3. (R Development Core Team, 2016).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se observó que las diferentes dosis de Glifosato no afectaron la supervivencia de *E. fetida*. Con respecto al cambio de peso de *E. fetida* no difirió entre los distintos tratamientos a los 7 ( $p= 0,809$ ), 14 ( $p= 0,746$ ), 21 ( $p= 0,535$ ) y 28 DDA ( $p= 0,489$ ) (Figura 1).

A los 7 DDA, se obtuvo un aumento del peso de los individuos comprendidos entre un 2 y un 9 % entre las diferentes dosis de aplicación. Mientras que, en las siguientes fechas de observación se detectaron con la dosis mayores del herbicida disminuciones en el peso de *E. fetida*, comprendidas entre un 3 y un

10 %. Sin embargo, estos cambios en el peso no fueron significativos con respecto al peso del tratamiento testigo.

De manera similar, Buch *et al.* (2013) observaron que dosis de hasta 0,047 g de Glifosato kg<sup>-1</sup> no afectan la biomasa de *E. andrei* a los 7 y 14 días, considerando al herbicida como un compuesto no tóxico para esta especie a las dosis evaluadas. Asimismo, Marcano *et al.* (2010) detectaron que 0,096 y 0,96 g de Glifosato kg<sup>-1</sup> no disminuye la biomasa de *Eisenia* spp. Yasmin y D'Souza (2007) obtuvieron que 1200 g i.a. ha<sup>-1</sup> de Glifosato no produce cambios en la biomasa de *E. fetida*, pero por el contrario, cuando aumenta la dosis cuatro veces se produce una reducción en el peso. De modo similar, Chaij *et al.* (2010) no encuentran efectos sobre la supervivencia, el comportamiento alimenticio ni la ganancia de peso de *Metaphire californica* expuesta a 1200 y 12000 g i.a. ha<sup>-1</sup> de Glifosato. Teniendo en cuenta las mismas dosis de aplicación utilizadas en presente trabajo, Rafael (2014) no observa cambios en la biomasa de *Octolasion cyaneum*. Asimismo, Salvio *et al.* (2015) y Amand de Mendieta (2015) tampoco encuentran cambios en la biomasa de *O. cyaneum* con dosis de Glifosato similares e incluso superiores.

Considerando los parámetros reproductivos de *E. fetida*, tanto el número de cocones como de juveniles no difirieron entre las distintas dosis del herbicida a los 56 DDA,  $p= 0,245$  y  $p= 0,120$ , respectivamente (Figura 2). Como se observa en la Figura 2, el número de cocones estuvo comprendido entre 5 y 10 y con respecto a los juveniles los valores fueron de 3 a 8.

De igual manera, Marcano *et al.* (2010) detectaron que 0,096 y 0,96 g de Glifosato kg<sup>-1</sup> no afecta la producción de cocones y el porcentaje de eclosión de *Eisenia* spp. Incluso observan que el número de individuos emergidos por cocón es mayor con la concentración más alta constituyendo una ventaja adaptativa para la supervivencia de la especie. Yasmin y D'Souza (2007) demostraron que 1200 g i.a. ha<sup>-1</sup> de Glifosato no afecta la reproducción de *E. fetida*. Por otra parte, Casabé *et al.* (2007), en condiciones de laboratorio y de campo, obtienen con 1440 g de Glifosato kg<sup>-1</sup> de suelo una reducción en la viabilidad de los cocones sobre *E. fetida*. En cambio, Correia y Moreira (2010) con dosis diferentes de Glifosato directamente no producen cocones y por ende, juveniles. Los autores explican estos resultados como un efecto producido por la interferencia del herbicida en el proceso de la reproducción de las lombrices. Aunque hay que tener en cuenta que las dosis utilizadas son superiores a las aplicadas en este estudio. Por lo tanto, la relevancia de los resultados de estos estudios es cuestionable, ya que son escenarios poco probables de hallar en condiciones agrícolas.

## CONCLUSIONES

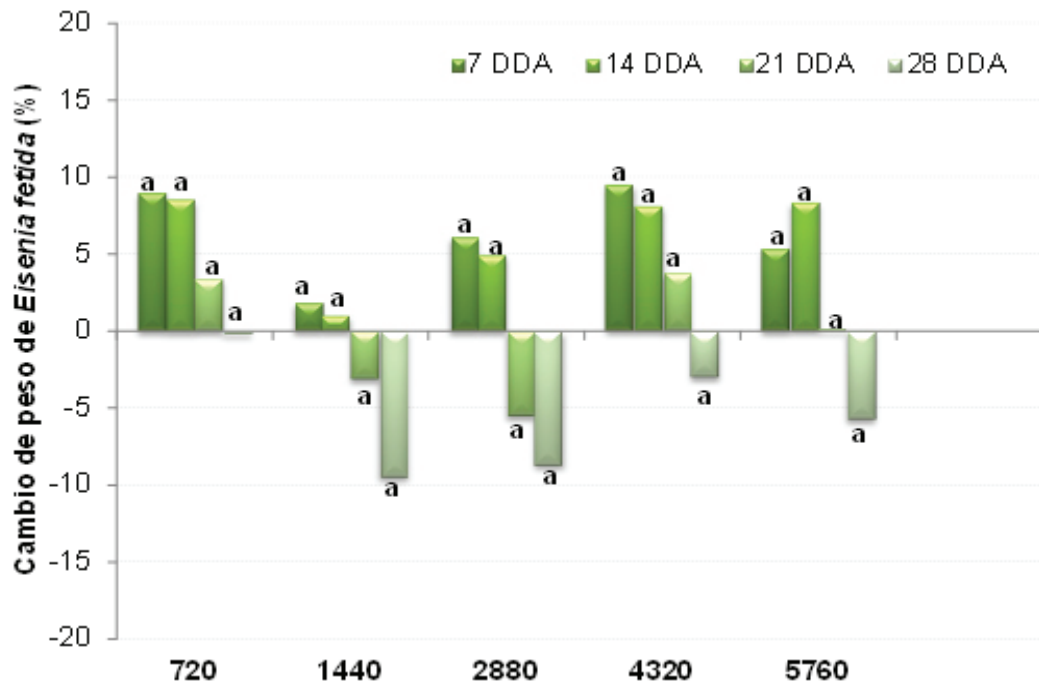
Glifosato aplicado a la dosis recomendada como a una dosis ocho veces superior no afectó la supervivencia de *E. fetida* y tampoco se detectaron cambios en el peso como en los parámetros reproductivos. Por lo tanto, a las dosis utilizadas en este estudio se concluye que Glifosato no causa efectos adversos sobre *E. fetida*.

## BIBLIOGRAFÍA

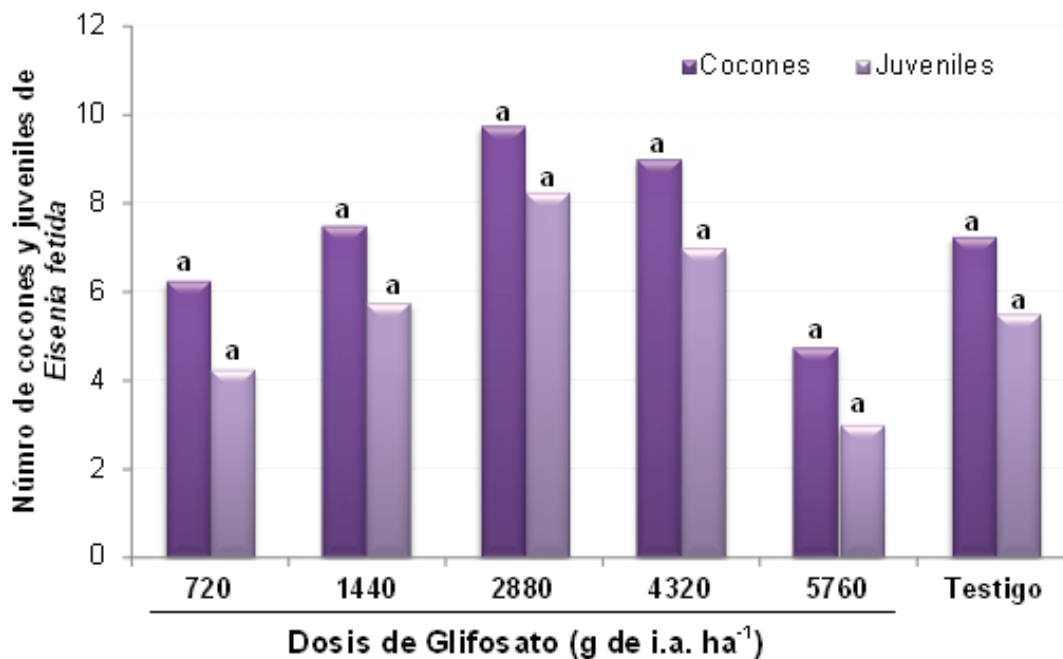
- Amand de Mendieta, J.; Salvio, C.; López, A.N.; Manetti, P. 2015. Microcosmo: efectos de Glifosato y Clorpirifos sobre organismos no blanco. SETAC Latin America 11th Biennial Meeting. Buenos Aires, 7-10 Septiembre 2015. 141p.
- Buch, A.C.; Brown, G.G.; Niva, C.C.; Sautter, K.D.; Sousa, J.P. 2013. Toxicity of three pesticides commonly used in Brazil to *Pontoscolex corethrurus* (Müller, 1857) and *Eisenia andrei* (Bouché, 1972). Appl. Soil Ecol. 69: 32-38.
- Casabé, N.; Piola, L.; Fuchs, J.; Oneto, M.L.; Pamparato, L.; Basack, S.; Jiménez, R.; Massaro, R.; Papa, J.C.; Kesten, E. 2007. Ecotoxicological assessment of the effects of glyphosate and chlorpyrifos in an Argentine soya field. J. Soils Sediments 7 (4): 232-239.
- Chaij, J.; Gimenez, R.; Della Penna, A. 2010. Evaluación de toxicidad del Glifosato sobre una especie de lombriz de tierra. 3° Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental (SETAC). Santa Fe, 12 a 14 de Mayo de 2010. 20-21 p.
- Correia, F.V.; Moreira, J.C. 2010. Effects of Glyphosate and 2,4-D on Earthworms (*Eisenia fetida*) in Laboratory Tests. Bull. Environ. Contam. Toxicol. 85:264-268.
- Garcia-Torres, T.; Giuffre, L.; Romaniuk, R.; Rios, R.P.; Pagano, E.A. 2014. Exposure assessment to glyphosate of two species of annelids. Bull. Environ. Contam. Toxicol. DOI 10.1007/s00128-014-1312-8.
- Gomez, A.M.; Costa, J.L.; Bedmar, F. 2012. Adsorción y desorción de glifosato en un suelo molisol de Argentina. 4° Congreso Argentino de la Sociedad de Toxicología y Química Ambiental SETAC. Buenos Aires, octubre 2012. 134 p.
- Lowe, C.N.; Butt, K.R. 2007. Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: A critical review. Eur. J. Soil Biol. 43: 281-288.

- Marcano, L.; Quiaro, S.; Polo, A.; Marcano, E. 2010. Efectos del herbicida glifosato sobre el crecimiento y la reproducción de la lombriz de tierra *Eisenia* spp. (Annelida: Oligochaeta). 3° Jornada de Ecotoxicología. Cumaná, Venezuela. 18 a 22 octubre de 2010. 40 p.
- Momo, F.R.; Falco, L.B. 2010. Las lombrices de tierra. En: Momo, F.R.; Falco, L.B. (eds.). Biología y ecología de la fauna del suelo. Imago Mundi. Buenos Aires. pp. 141-160.
- R Development Core Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Version R 3.2.3.
- Rafael, S.E. 2014. Comportamiento evasivo de *Octolasion cyaneum* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae) y efectos letales y subletales de su exposición a la acción de plaguicidas. Tesis de grado, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata. 61 p.
- Reinecke, A.J.; Helling, B.; Louw, K.; Fourie, J.; Reinecke, S.A. 2002. The impact of different herbicides and cover crops on soil biological activity in vineyards in the Western Cape, South Africa. *Pedobiologia* 46: 475-484.
- Römke, J.; Jansch, S.; Didden, W. 2005. The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotox. Environ. Safe.* 62: 249-265.
- Salvio, C.; Menone, M.; Rafael, S.; Iturburu, F.G.; Manetti, P.L. 2015. Survival, reproduction, avoidance behavior and oxidative stress biomarkers in the earthworm *Octolasion cyaneum* exposed to Glyphosate. *B. Environ. Contam. Tox.* 96(3): 314-319.
- Yasmin, S.; D'Souza, D. 2007. Effect of pesticides on the reproductive output of *Eisenia fetida*. *B Environ. Contam. Tox.* 79 (5): 529-532.

**Figura 1.** Cambio de peso *Eisenia fetida* (%) con respecto al testigo en los diferentes tratamientos con Glifosato (g i.a. ha<sup>-1</sup>) a los 7, 14, 21 y 28 días después de la aplicación (DDA). Barras con letras iguales en cada fecha de observación indican diferencias no significativas entre los tratamientos ( $\alpha= 0,05$ ).



**Figura 2.** Número de cocones y juveniles de *Eisenia fetida* en los diferentes tratamientos con Glifosato (g i.a. ha<sup>-1</sup>) a los 56 días después de la aplicación. Barras con letras iguales indican diferencias no significativas entre los tratamientos ( $\alpha= 0,05$ ).





## COMPORTAMIENTO EVASIVO DE *EISENIA FETIDA* (ANNELIDA: OLIGOCHAETA, LUMBRICIDAE) EXPUESTA A CLORPIRIFOS

Salvio, C. (1); Rafael, S. (1); Clemente, N.L. (1); Manetti, P.L. (1)

1 Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de Mar del Plata – Unidad Integrada  
Balcarce. Ruta 226 Km 73,5, Balcarce (7620). 02266 43-0456, interno 702.

salvio.carla@inta.gob.ar

### RESUMEN

Los oligoquetos terrestres participan en los servicios ecosistémicos del suelo y son considerados indicadores de la salud del suelo. El uso creciente de plaguicidas puede traer efectos deletéreos sobre los mismos. Por lo tanto, en este trabajo se determinó la evasión y/o atracción de *Eisenia fetida* (Oligochaeta, Lumbricidae) ante la presencia de Clorpirifos. Se realizó un bioensayo de evasión donde la unidad experimental (UE) consistió en un recipiente plástico rectangular de 18 cm de largo x 12 cm de ancho y 12 cm de altura, provisto de una tapa plástica perforada a fin de permitir el intercambio gaseoso y evitar la pérdida excesiva de humedad. Cada UE se dividió con un divisor plástico removible en dos mitades iguales. Se colocó en una mitad del recipiente 750 g de suelo control (sin aplicación) mientras que en la otra mitad se colocó 750 g de suelo con una de las dosis de Clorpirifos (concentrado emulsionable, 48% de ingrediente activo (i.a.)) homogéneamente distribuido. Los tratamientos fueron: 720 (dosis recomendada de aplicación), 1440, 2880, 4320 y 5760 g de i.a. Clorpirifos ha-1. Posteriormente, se removió el divisor y se colocaron 10 individuos clitelados de *E. fetida* entre 300 y 600 mg en el centro del recipiente. El diseño fue completamente aleatorizado con 4 repeticiones y se llevó a cabo en una cámara a  $20 \pm 2$  °C y un fotoperiodo 14L: 10O. Luego de 48 horas se separaron cuidadosamente las dos fracciones de suelo con el divisor y se cuantificaron los individuos presentes en cada lado. Los resultados se expresaron como respuesta neta (RN). En los diferentes tratamientos, una RN positiva (+) indica evasión al plaguicida, mientras que una RN negativa (-) indica atracción y una RN igual a cero no respuesta. A las 48 horas después de la exposición se observó un 100 % de supervivencia de los organismos de *E. fetida*. Con respecto a la RN no se detectaron diferencias entre los distintos tratamientos ( $p = 0,14$ ). Es decir, que a las dosis de Clorpirifos utilizadas no se obtuvo un comportamiento evasivo significativo de *E. fetida*. En general, se observó que los organismos presentaron una cierta atracción al insecticida, siendo los porcentajes mayores de 78% y 73% con 1440 y 2880 g i.a. ha-1, respectivamente. Por lo tanto, las diferentes dosis de aplicación de Clorpirifos no causaron una respuesta evasiva, es decir los organismos no evitaron al insecticida.

**Palabras clave:** lombrices, insecticida, evasión.

## INTRODUCCIÓN

Los oligoquetos terrestres poseen quimiorreceptores en la superficie del cuerpo que les proporcionan una sensibilidad elevada a los químicos que se encuentran en el suelo (Reinecke *et al.*, 2002), y en consecuencia, son considerados bioindicadores de los factores antropogénicos de estrés (Römke *et al.*, 2005). Dentro de estos organismos, *Eisenia fetida* es la especie más utilizada en los bioensayos de toxicidad porque posee un ciclo de vida corto, fecundidad y sensibilidad elevada a los químicos (Lowe y Butt, 2007).

Clorpirifos es uno de los plaguicidas más utilizados en sistemas bajo siembra directa debido a que posee un amplio espectro de acción para el control de plagas agrícolas, hortícolas, forestales y domésticas (Wu *et al.*, 2011). Por lo tanto, es importante conocer los efectos que puede producir este insecticida sobre los oligoquetos terrestres. Una de las herramientas empleadas para una detección temprana de la contaminación de un suelo, mediante el uso de bioindicadores, es el bioensayo de evasión (Hund-Rinke y Wiechering, 2001). Éste se basa en la capacidad que poseen los organismos de elegir y/o evitar el suelo contaminado. La ventaja principal de esta prueba es su duración breve con respecto a otros bioensayos, es decir un tiempo de exposición de solamente dos días (Hund-Rinke y Wiechering, 2001; Hund-Rinke *et al.*, 2003; Amorim *et al.*, 2005). En consecuencia, con su empleo se obtiene una respuesta rápida y de bajo costo (Natal da Luz *et al.*, 2004). A su vez, el bioensayo de evasión proporciona mayor información sobre la dinámica poblacional de la comunidad en el suelo y arroja resultados comparables a los bioensayos agudos tradicionales (Hund-Rinke *et al.*, 2003; García-Santos *et al.*, 2011). De acuerdo a lo expuesto, el objetivo de este trabajo fue determinar la evasión y/o atracción de *E. fetida* ante la presencia de Clorpirifos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los individuos de *E. fetida* se obtuvieron mediante una cría masiva realizada en una cámara de cría a  $20 \pm 2^\circ\text{C}$  y 14L: 10O. Para ello se colocaron individuos adultos (con clitelo) en recipientes de plástico de 30 x 40 cm y 25 cm de altura con tierra húmeda y se alimentaron con restos orgánicos vegetales (cáscaras de frutas, yerba mate y borra de café). Para el bioensayo se seleccionaron individuos adultos clitelados con un rango de peso de 300-600 mg, los cuales se pesaron con una balanza analítica electrónica (precisión = 0,001 g).

La unidad experimental (UE) consistió en un recipiente plástico rectangular de 18 cm de largo x 12 cm de ancho y 12 cm de altura, provisto de una tapa

plástica perforada a fin de permitir el intercambio gaseoso y evitar la pérdida excesiva de humedad. Cada UE se dividió con un divisor plástico removible en dos mitades iguales. Se colocó en una mitad del recipiente 750 g de suelo control (sin aplicación), mientras que en la otra mitad se colocó 750 g de suelo con una de las dosis de Clorpirifos (concentrado emulsionable, 48% de ingrediente activo (i.a.)) homogéneamente distribuido. El suelo que se utilizó fue recolectado de una pastura con más de 30 años sin aplicación de plaguicidas (6 % de materia orgánica; 43,4 % de arcilla; 30 % de limo; 26,6 % de arena; pH= 6,2 y conductividad 0,22 mmhos cm<sup>-1</sup>). Los tratamientos fueron: 720 (dosis recomendada de aplicación), 1440, 2880, 4320 y 5760 g de i.a. Clorpirifos ha<sup>-1</sup> (equivalentes a las siguientes dosis comerciales: 1,5; 3; 6; 9 y 12 litros ha<sup>-1</sup>, respectivamente).

Para lograr cada una de las dosis de i.a. por kg de suelo seco, se realizaron diluciones del insecticida en agua destilada, teniendo en cuenta que el peso de suelo de una hectárea a 5 cm y con una densidad aparente de 1,2 Mg m<sup>-3</sup> equivale a 600.000 kg. Las aplicaciones del insecticida disuelto en agua se realizaron con un pulverizador manual sobre una capa fina y uniforme de suelo de 5 cm de altura sobre un paño de nylon de 50 cm por 50 cm de lado. Luego para lograr una incorporación homogénea del producto al sustrato se realizaron 20 movimientos de las partes laterales del paño hacia el centro.

Posteriormente, se removió el divisor de la UE y se colocaron 10 individuos clitelados de *E. fetida* entre 300 y 600 mg en el centro del recipiente. El ensayo se llevó a cabo en una cámara a 20 ± 2 °C y un fotoperiodo 14L: 10D y tuvo un diseño completamente aleatorizado con 4 repeticiones.

Luego de 48 horas se separaron cuidadosamente las dos fracciones de suelo de cada UE con el divisor y se cuantificaron los individuos presentes en cada lado. Aquellos individuos que fueron seccionados por el divisor plástico, se contabilizaron como medio individuo de cada lado (ISO, 2005). Los resultados se expresaron como respuesta neta (RN) de acuerdo a la fórmula:  $RN (\%) = [(C - T)/N] * 100$  donde C = es el número de individuos observados en el suelo control, T = es el número de individuos observados en el suelo tratado con el insecticida y N = el número total de individuos en cada UE. En los diferentes tratamientos, una RN positiva (+) indica evasión al plaguicida, ya que hay mayor cantidad de individuos en la mitad del recipiente correspondiente al suelo control. Una RN negativa (-) indica atracción y una RN igual a cero no respuesta (ISO, 2005).

La RN se analizó mediante análisis de la varianza previa validación del supuesto de homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Levene ( $\alpha = 0,05$ ). Los análisis se realizaron con el programa R 3.2.3. (R Development Core Team, 2016).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A las 48 horas después de la exposición se observó un 100 % de supervivencia de los organismos de *E. fetida*. Con respecto a la RN no se detectaron diferencias entre los distintos tratamientos ( $p = 0,14$ ) (Figura 1). Es decir, que a las dosis de Clorpirifos utilizadas no se obtuvo un comportamiento evasivo significativo de *E. fetida*.

En general, se observó que los organismos presentaron una cierta atracción al insecticida, siendo los porcentajes mayores de 78% y 73% con 1440 y 2880 g i.a. ha<sup>-1</sup>, respectivamente (Figura 1).

De forma similar a los resultados obtenidos, Piola *et al.* (2009) no observaron una respuesta de evasión de *E. andrei* con 240 y 960 g de Clorpirifos ha<sup>-1</sup>. Resultados similares encontraron Casabé *et al.* (2007) sobre *E. andrei* expuesta a 620 g de Clorpirifos ha<sup>-1</sup>. A su vez, Hodge *et al.* (2000) en condiciones de campo, determinaron que *Aporrectodea caliginosa* no presenta una respuesta de evasión significativa ante la presencia de 800 g de Clorpirifos ha<sup>-1</sup>. De la misma manera, Giménez *et al.* (2004) determinaron que la actividad (medida como desplazamiento en la búsqueda del alimento) de *Lumbricus terrestris* no es afectada con 2400 g i.a. ha<sup>-1</sup> de Clorpirifos. Reinecke y Reinecke (2007), en un estudio a campo, no obtuvieron diferencias significativas en la densidad de las lombrices luego de la aplicación de 270 y 1500 g i.a. ha<sup>-1</sup>. Sin embargo, encontraron una densidad mayor de lombrices en áreas sin cultivar donde la concentración de Clorpirifos es menor. Relacionando estos resultados con los obtenidos en este bioensayo, se encontró que Clorpirifos no produjo evasión con las dosis utilizadas y por lo tanto, los organismos no evitaron al insecticida como se observa en la Figura 1.

Sin embargo, varios estudios han demostrado que *E. fetida* muestra con Clorpirifos una respuesta de evasión con dosis comprendidas entre 0,04 a 0,08 g de i.a. kg<sup>-1</sup> de suelo (equivalente a 24 y 48 x10<sup>3</sup> g de i.a. ha<sup>-1</sup>, respectivamente) (Zhou *et al.*, 2007; García Santos y Keller-Forrer, 2011). En cambio, en la mayoría de las dosis de este bioensayo con *E. fetida*, se observó un efecto contrario, es decir, presentó atracción o no respuesta al insecticida. Estas diferencias pueden deberse a que aquellos autores obtuvieron una respuesta de evasión con dosis de Clorpirifos superiores. Ahora bien, considerando las mismas dosis utilizadas en el presente estudio, Rafael *et al.* (2015) observaron que Clorpirifos no provocó una respuesta evasiva como tampoco un efecto letal sobre *Octolasion cyaneum*.

## CONCLUSIÓN

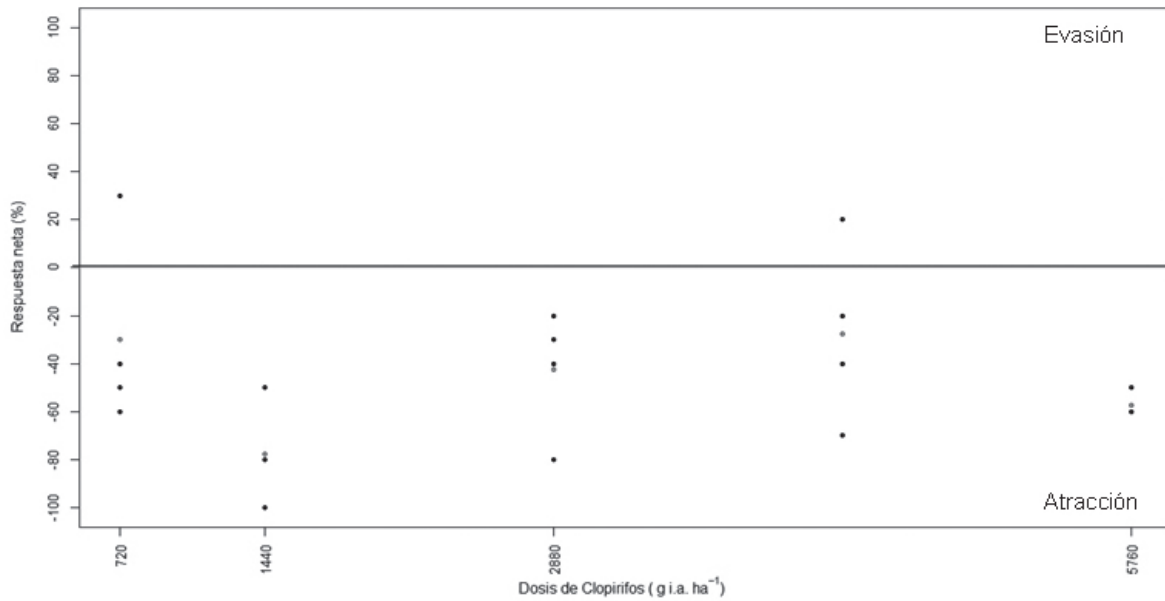
Clorpirifos, tanto a la dosis de aplicación como a dosis superiores, no causó una respuesta evasiva sobre *E. fétida*, es decir los organismos no evitaron al insecticida. En cambio, esta especie presentó atracción con la mayoría de las dosis de aplicación utilizadas del insecticida en este estudio.

## BIBLIOGRAFÍA

- Amorim, M.J.B.; Römke, J.; Soares, A.M.V.M. 2005. Avoidance behaviour of *Enchytraeus albidus*: effects of benomyl, carbendazim, phenmedipham and different soil types. *Chemosphere* 59: 501-510.
- Casabé, N.; Piola, L.; Fuchs, J.; Oneto, M.L.; Pamparato, L.; Basack, S.; Jiménez, R.; Massaro, R.; Papa, J.C.; Kesten, E. 2007. Ecotoxicological assessment of the effects of glyphosate and chlorpyrifos in an Argentine soya field. *J. Soils Sediments* 7 (4): 232-239.
- García-Santos, G.; Keller-Forrer, K. 2011. Avoidance behaviour of *Eisenia fetida* to carbofuran, chlorpyrifos, mancozeb and metamidophos in natural soils from the highlands of Colombia. *Chemosphere* 84: 651-656.
- García-Santos, G.; Scheiben, D.; Binder, C.R. 2011. The weight method: a new screening method for estimating pesticide deposition from knapsack sprayers in developing countries. *Chemosphere* 82 (11): 1571-1577.
- Gimenez, R.; Della Penna, A.; Odello, E. 2004. Efectos tóxicos de los insecticidas clorpirifos y terflurina sobre la lombriz de tierra (*Lumbricus terrestris* L.). *Agr. Tec.* 64 (4): 347- 352.
- Hodge, S.; Webster, K.M.; Booth, L.; Hepplethwaite, V.; O'Halloran, K. 2000. Non-avoidance of organophosphate insecticides by the earthworm *Aporrectodea caliginosa* (Lumbricidae). *Soil Biol. Biochem.* 32: 425-428.
- Hund-Rinke, K.; Wiechering, H. 2001. Earthworm avoidance test for soil assessment. *J. Soils Sediments* 1: 15-20.
- Hund-Rinke, K.; Achazi, R.; Römbke, J.; Warnecke, D. 2003. Avoidance Test with *Eisenia fetida* as indicator for the habitat function of soils: results of a laboratory comparison test. *J. Soils Sediments* 3 (1): 1-6.
- ISO. 2005. Soil Quality-Avoidance Test for Testing the Quality of Soils and Toxicity of Chemicals-Test with earthworms (*Eisenia andrei*). ISO, Geneve, Switzerland. No 17512, ISO, Geneva, Switzerland. s.p.

- Lowe, C.N.; Butt, K.R. 2007. Earthworm culture, maintenance and species selection in chronic ecotoxicological studies: A critical review. *Eur. J. Soil Biol.* 43: 281-288.
- Natal da luz, T.; Ribeiro, R.; Sousa, J.P. 2004. Avoidance tests with *Collembola* and earthworms as early screening tools for site specific assessment of polluted soils. *Environ. Toxicol. Chem.* 24(9): 2188-2193.
- Piola, L.; Fuchs, J.; Oneto, M.L.; Basack, S.; Giménez, R.; Massaro, R.; Papa, J.C.; Kesten, E.; Casabé, N. 2009. Biomarkers for the assessment of chlorpyrifos effects on earthworms and on soil functional parameters. *Pesq. Agropec. Bras.* 44 (8): 874-880.
- R Development Core Team. 2016. R: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Version R 3.2.3.
- Rafael, S.E.; Salvio, C.; Manetti, P.L.; Clemente, N.L.; López, A.N. 2015. Susceptibilidad de *Octolasion cyaneum* (Annelida: Oligochaeta, Lumbricidae) expuesta a clorpirifos. *Ci. Suelo* 33(2): 173-181.
- Reinecke, A.J.; Helling, B.; Louw, K.; Fourie, J.; Reinecke, S.A. 2002. The impact of different herbicides and cover crops on soil biological activity in vineyards in the Western Cape, South Africa. *Pedobiologia* 46: 475-484.
- Reinecke, S.; Reinecke, A. 2007. Biomarker response and biomass change of earthworms exposed to chlorpyrifos in microcosms. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 66: 92-101.
- Römke, J.; Jansch, S.; Didden, W. 2005. The use of earthworms in ecological soil classification and assessment concepts. *Ecotox. Environ. Safe.* 62: 249-265.
- Wu, X.M.; Yu, Y.L.; Li, M.; Long, Y.H.; Fang, H.; Li S.N. 2011. Prediction of bioavailability of chlorpyrifos residues in soil to earthworms. *J Soil Sci Plant Nut.* 11(1): 44-57.
- Zhou, S.; Duan, C.; Fu, H.; Chen, Y.; Wang, X.; Yu, Z. 2007. Toxicity assessment for chlorpyrifos-contaminated soil with three different earthworm test methods. *J. Environ. Sci.* 19: 854-858.

**Figura 1.** Respuesta neta (%) de *Eisenia fetida* luego de las 48 horas con las diferentes dosis de Clorpirifos (g i.a. ha<sup>-1</sup>). Puntos negros: repeticiones. Puntos rojos: promedio.



## CARACTERÍSTICAS DE UNA BIOPELÍCULA BACTERIANA CON ACTIVIDAD PROMOTORA DEL CRECIMIENTO EN *LACTUCA SATIVA* VAR. *CRIMOR*

Sarti, G, Cristóbal Miguez, A.; Efron, D.  
Cátedra de Química General e Inorgánica. Facultad de Agronomía. UBA.  
Avenida San Martín 453. CABA. Buenos Aires, Argentina.

\*Contacto: karibu@agro.uba.ar

### RESUMEN

Las bacterias del género *Bacillus* poseen una reconocida actividad como promotoras del crecimiento vegetal. Dependiendo de las condiciones de cultivo, las células de *B. subtilis* cambian de tener un crecimiento de vida libre como células planctónicas a convertirse en células no móviles para formar una biopelícula. En condiciones de limitación de nutrientes o en respuesta a condiciones ambientales adversas las células de *Bacillus* detienen su normal proceso de división celular para dar inicio a otro proceso altamente organizado que culmina con la producción de una espora muy resistente. Los objetivos de este trabajo fueron: 1-Optimizar las condiciones de cultivo para el desarrollo de una biopelícula robusta y su vinculación con el proceso de esporulación. 2-Evaluar el efecto de la inoculación de semillas de *Lactuca sativa* cuando *Bacillus subtilis* fue aplicado en su estado planctónico y bajo la forma de biopelícula. Las hipótesis de trabajo fueron: 1-Las condiciones de cultivo determinarían la estructura de la biopelícula. 2-La biopelícula actuaría como promotor de crecimiento en plantas de *Lactuca sativa*.

Se utilizó *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* crecida en medio salino suplementado con distintas fuentes carbonadas simples y a distintas velocidades de agitación. Para el ensayo de inoculación de semillas, el crecimiento bacteriano fue en un medio mínimo suplementado con glicerol y ácido L-glutámico sin agitación; para el caso de la biopelícula; y a 150 rpm para el inóculo líquido (estado planctónico). Las semillas de *Lactuca sativa* var. *Crimor* fueron sembradas e inoculadas con un cultivo líquido de la bacteria (en su forma de vida planctónica) mientras que en otras semillas se depositó asépticamente una fina porción de la biopelícula. Se preparó para la siembra una mezcla de tierra y compost en proporción 3:1 (sustrato). Se realizaron tratamientos utilizando ésta mezcla tindalizada (sustrato empobrecido) y sin tindalizar (sustrato fértil). Las fuentes carbonadas más eficaces para la formación de una biopelícula fueron glicerol, glucosa y manitol. Sin embargo con glicerol la biopelícula fue más robusta a los procesos degradativos. La biopelícula solo pudo desarrollarse en condiciones estáticas o cuando la agitación fue de 80rpm. No se detectaron diferencias en el número de esporas liberadas cuando la bacteria creció en forma planctónica o



como biopelícula. *Bacillus* actuó como promotor del crecimiento sobre *Lactuca sativa* var. *Crimor*, resultando efectiva tanto cuando se la aplicó en su estado planctónico como de biopelícula. El efecto promotor del crecimiento vegetal se observó tanto en el suelo fértil como en el suelo empobrecido en nutrientes y microorganismos, aunque fue mayor sobre éste último. Así mismo la biopelícula tuvo mayor efecto benéfico como inoculante que la forma planctónica. Estos resultados sugieren que la estructura de la biopelícula le permitiría a la bacteria adaptarse a las nuevas condiciones ambientales favoreciendo la supervivencia y actividad benéfica de la bacteria sobre la planta.

**Palabras clave:** *Bacillus subtilis*, biopelículas, *Lactuca sativa*

## INTRODUCCIÓN

Las bacterias del género *Bacillus* son Gram positivas, aerobios estrictos en su mayoría, móviles, se encuentran comúnmente en el suelo, son ubicuas y no son consideradas patógenas o toxicogénicas en humanos, plantas o animales (Bergey's 1975). Poseen una reconocida actividad como promotores del crecimiento vegetal y son excelentes productores de antimicrobianos (producen más de dos docenas de antibióticos donde la clase predominante es de naturaleza proteica) (Stein 2005), lo cual ha permitido utilizarlas como un importante agente de control biológico. Por su parte, y dependiendo de las condiciones de cultivo, *B. subtilis* produce una biopelícula en la interfase aire-líquido (Morikawa 2008). Las biopelículas se definen como comunidades de microorganismos que crecen embebidos en una matriz extracelular formada principalmente por exopolisacáridos (EPS) y en menor cantidad proteínas, DNA y productos de lisis bacteriana (Stanley y Lazazerra 2005). Estas estructuras representan una antigua estrategia de supervivencia procariótica, debido a que las mismas proporcionan protección frente a fluctuaciones medioambientales de humedad, temperatura y pH, concentrando nutrientes y facilitando la eliminación de desechos.

Durante el desarrollo de la biopelícula las células de *B. subtilis* cambian de tener un crecimiento de vida libre como células planctónicas, flageladas y móviles a convertirse en células no móviles que crecen en largas cadenas paralelas formando racimos.

Por otra parte, en condiciones de limitación de nutrientes o en respuesta a condiciones ambientales adversas como falta de alimento, desecación, como también debido a un aumento en la densidad de la población microbiana, las células de *Bacillus* detienen su normal proceso de división celular para dar inicio a otro proceso altamente organizado que culmina con la producción de una espora muy resistente (Kuwana y otros, 2007).

Si bien el proceso que regula la esporulación ha sido extensamente estudiado (Sonenshein et al. 2002; Piggot y Hilbert 2004), estos trabajos se orientaron bajo la perspectiva de observación de una simple célula y no, como un proceso que ocurre dentro de una comunidad espacialmente organizada como es una biopelícula. Los objetivos de este trabajo fueron: 1- Optimizar las condiciones de cultivo para el desarrollo de una biopelícula robusta y su vinculación con el proceso de esporulación. 2- Evaluar el efecto de la inoculación de semillas de *Lactuca sativa* cuando *Bacillus subtilis* fue aplicado en su estado planctónico y bajo la forma de biopelícula.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se utilizó *Bacillus subtilis* subsp. *spizizenii* obtenida de la colección de cultivos de la Facultad de Agronomía (UBA). La misma creció en medio salino suplementado con distintas fuentes carbonadas simples y utilizando como fuente nitrogenada el aminoácido L-glutámico. Se estudió el crecimiento de la bacteria en condiciones estáticas, a 80 rpm y 150 rpm a 30°C durante 96h. Los recuentos bacterianos se realizaron a través de diluciones seriadas y siembra en placas con agar nutritivo durante 48h a 30°C. Para el ensayo de inoculación, se utilizó un cultivo líquido de medio mínimo salino, glicerol 1% y ácido glutámico 55mM en el cual creció *B. subtilis subsp. spizizenii*, que corresponde a una concentración bacteriana de  $1.10^8$  UFC mL<sup>-1</sup>, mientras que para el caso de la biopelícula la concentración bacteriana corresponde a  $1.10^{11}$  UFC mL<sup>-1</sup>. El crecimiento bacteriano fue sin agitación para el caso de la biopelícula y a 150 rpm para el inóculo líquido (estado planctónico). Se trabajó con semillas de *Lactuca sativa* var. *Crimor*, desinfectadas en alcohol 70% y lavadas 3 veces con agua destilada estéril. Estas semillas fueron sembradas e inoculadas con el cultivo líquido de la bacteria (en su forma de vida planctónica). En otras semillas se depositó asépticamente una fina porción de la biopelícula antes de la siembra. El sustrato utilizado para la siembra fue una mezcla de tierra fértil y compost (C/N 19, Nitrógeno 0,4% y materia orgánica 12%) en proporción 3:1. Se realizaron tratamientos utilizando ésta mezcla tinalizada (sustrato empobrecido) y sin tinalizar (sustrato fértil). La tinalización del sustrato se realizó en autoclave a 124,2 hPa durante 1h por tres días consecutivos. El ensayo se realizó en invernáculo a una temperatura media de 20°C, durante 30 días. Los tratamientos de inoculación realizados sobre semillas de la especie *Lactuca sativa* var. *Crimor* fueron: a) Semillas inoculadas con la bacteria en su forma planctónica sobre sustrato fértil b) Semillas inoculadas con la bacteria en su forma de biopelícula sobre sustrato fértil c) Semillas inoculadas con la bacteria en su forma planctónica sobre sustrato empobrecido d) Semillas inoculadas

con la bacteria en su forma de biopelícula sobre sustrato empobrecido e) sustrato fértil sin inóculo (tratamiento control). f) sustrato empobrecido sin inóculo (tratamiento control)

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se evaluó en términos de porcentajes aritméticos y desviaciones estándar, 3 repeticiones. Para los ensayos de inoculación de *Lactuca sativa* se utilizó el test de ANOVA, los cálculos fueron realizados con *Infostat Software* (Di Rienzo, 2008).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **EFFECTO DE FUENTES CARBONADAS SOBRE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA:**

Dentro de las fuentes carbonadas simples seleccionadas (a excepción del biodiesel), las más eficaces para la formación de la biopelícula fueron glicerol, glucosa y manitol (Figura 1). Con el uso de fuentes carbonadas como galactosa y fructosa se obtuvo menor cantidad de biopelícula y con xilosa (una pentosa) la bacteria formó la menor cantidad de biopelícula.

### **TIEMPO DE DISGREGACIÓN DE LA BIOPELÍCULA:**

Se evaluó la durabilidad de la biopelícula en el tiempo, utilizando como sustrato glucosa y glicerol (Figura 2). Se seleccionó la glucosa por ser el hidrato de carbono más ampliamente usado para el estudio del crecimiento bacteriano; y por otro lado el glicerol por ser un producto de desecho de la producción de biodiesel, lo que permitiría bajar el costo de la producción de la biopelícula. La biopelícula obtenida utilizando glicerol 1% fue muy resistente a los procesos degradativos debido a que a temperatura ambiente (25°C) no mostró signos de degradación hasta después de 15 días. Para el caso de la biopelícula desarrollada a partir de glucosa 1%, mostró signos de disgregación durante la primer semana y a las dos semanas el 75% de la misma se había desintegrado.

### **EFFECTO DE LA AGITACIÓN SOBRE LA FORMACIÓN DE LA BIOPELÍCULA Y ESPORULACIÓN:**

La biopelícula solo pudo desarrollarse en condiciones estáticas o cuando la agitación fue baja (80rpm) (Figura 3). Paul (2012) quien trabajo con biopelículas desarrolladas a partir de aguas residuales de uso doméstico, también reportó que a bajas condiciones de agitación la biopelícula fue capaz de desarrollarse y mantener su cohesión. En este ensayo, cuando se trabajó a una agitación constante de 150 rpm la biopelícula no logró desarrollarse, pero sí estuvo favorecido el crecimiento bacteriano, siendo el incremento de dos órdenes de magnitud.

Para el caso de las biopelículas, y el proceso de esporulación, existen controversias. Hall-Stoodley (2005) considera a las biopelículas como “nidos” desde los cuales se produce la liberación de células vegetativas al ambiente. Sin embargo, Wijman (2007) sugiere que la esporulación más eficiente tuvo lugar sobre la biopelícula y no en el medio líquido, sugiriendo que la misma actuaría como nido para la formación y liberación de esporas. En este trabajo, *Bacillus subtilis* no mostró actuar como “nido” para la liberación de esporas debido a que no se encontraron diferencias en cuanto al número de esporas detectadas en su forma planctónica y como biopelícula. Estos resultados podrían sugerir que para esta bacteria la biopelícula no actuaría como un inductor para el proceso de esporulación.

### **EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE SEMILLAS DE *LACTUCA SATIVA* VAR. CRIMOR CON *B. SUBTILIS* SUBESP. *SPIZIZENII*:**

#### UTILIZANDO SUSTRATO SIN TINDALIZAR:

Se compararon los parámetros de crecimiento en las plántulas cosechadas a los 30 días cuando el sustrato no fue tindalizado (sustrato fértil) (Figura 4). En este caso no se observaron diferencias significativas respecto del control sobre la parte aérea de las plántulas inoculadas con los dos tratamientos (inóculo planctónico y biopelícula), pero si se observaron diferencias significativas en el crecimiento radicular, siendo la biomasa radicular un 30% mayor que el control en el ensayo donde se aplicó la biopelícula.

#### UTILIZANDO SUSTRATO TINDALIZADO:

Cuando el sustrato fue tindalizado (empobrecido en nutrientes y microorganismos), se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos y el control tanto en la parte aérea como en la radicular (Figura 5). Con respecto a los valores de biomasa aérea, las semillas inoculada con la bacteria en su forma planctónica mostraron un aumento del 40% mientras que al usar la biopelícula el aumento superó el 100% con respecto al control. Con respecto al desarrollo radicular, se observó un aumento del 80% y superior al 100% con respecto al control, cuando fue inoculada en su forma planctónica y como biopelícula respectivamente.

### **CONCLUSIONES**

El glicerol fue la fuente carbonada óptima para que *B. subtilis subsp. spizizenii* desarrolle una biopelícula robusta que no se disgregó fácilmente. Esta bacteria mostró actividad promotora del crecimiento vegetal cuando se inoculó sobre la

especie hortícola *Lactuca sativa* (lechuga) var. *Crimor*. La actividad promotora del crecimiento de *Bacillus subtilis* fue más notoria en suelos empobrecidos. Tanto la forma planctónica como la biopelícula tuvieron un efecto positivo, observándose la actividad benéfica de *Bacillus subsp. spizizenii* sobre el desarrollo de la especie hortícola estudiada.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Bergey's manual of determinative bacteriology. 1975. Eight Edition 529-550.

Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, Gonzalez L, Tablada M, Robledo CW (2008) Infostat Software. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina

Kuwana, R., Takamatsu, H. and Wataba, K. (2007). *Expression, Localization and Modification of Spore Coat Protein in Bacillus subtilis*. Journal Biochemistry, 142 (6), 681-689.

Hall Stoodley. 2005. Biofilm formation and dispersal and the transmission of human pathogens. Trends in Microbiology (13), 7-10

Morikawa, M. (2008). *Beneficial biofilm formation by industrial bacteria Bacillus subtilis and related species*. Journal of Bioscience and Bioengineering, 1 (101), 1-8.

Paul, E., Ochoa, J., Pechaud, Y., Liu, Y. and Line Y. (2012). *Effect of shear stress and growth conditions on detachment and physical properties of biofilms*. Water Research, (46), 5499-5508.

Piggot, P. J., Hilbert, D. W. (2004). *Sporulation of Bacillus subtilis*. Current Opinion Microbiology, (7), 579-586.

Sonenshein, A. L., Hoch, J. A. and Losick, R. (2002). *Bacillus subtilis and its closest relatives: from genes to cells*. ASM Press; Washington DC.

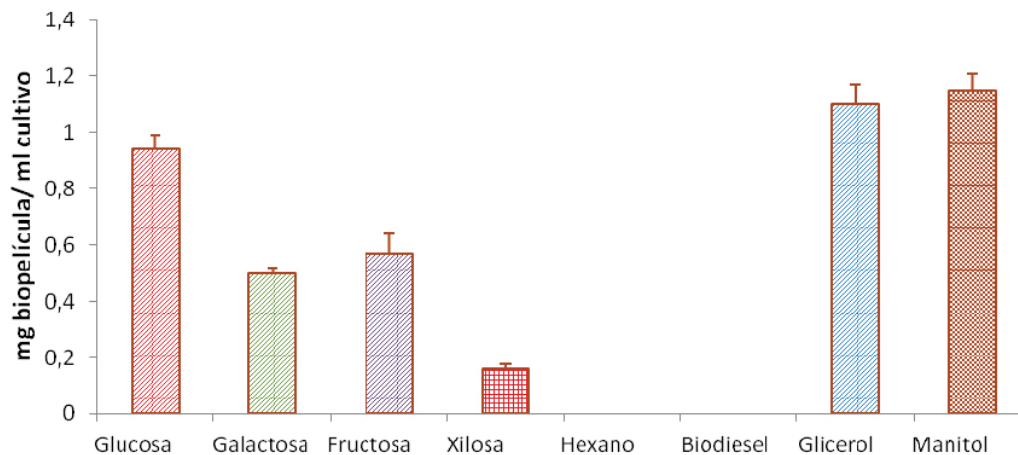
Stanley N, and Lazazzera B. 2005. Defining the genetic differences between wild and domestic strains of *Bacillus subtilis* that affect poly DL glutamic acid production and biofilm formation. Molecular Microbiology 57(4):1143-1158.

Stein T. 2005. *Bacillus subtilis* antibiotics: structures, synthesis and specific microbiology. Molecular microbiology. 56 (4) 845-857.

Wijman, J., Moezelaar, R., Zwietering M., Abee T. 2007. Air-Liquid Interface Biofilms of *Bacillus cereus*: Formation, Sporulation, and Dispersion. Applied and Environmental Microbiology (73), 1481-1488.

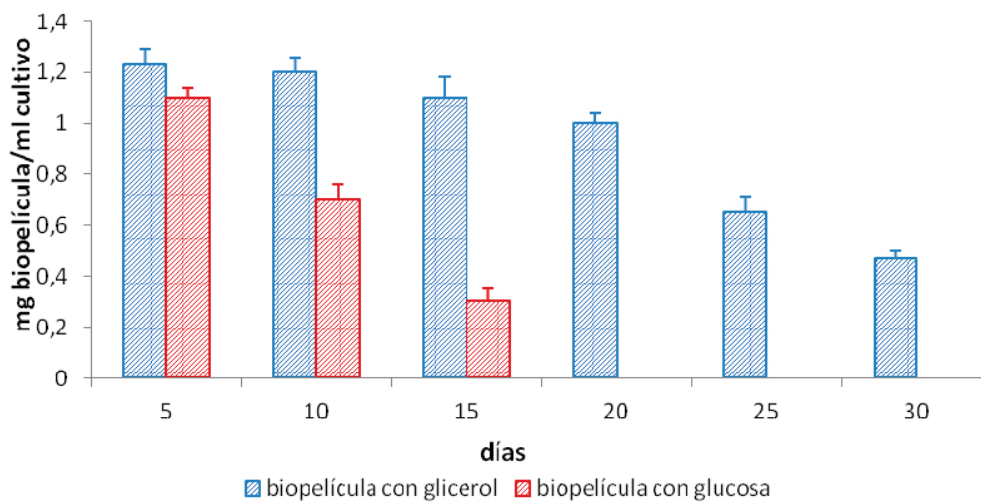
## EFFECTO DE FUENTES CARBONADAS SOBRE LA FORMACIÓN DE BIOPELÍCULA

**Figura 1.** Biopelícula formada por *B. subtilis* subsp. *spizizenii* en medio mínimo salino con ácido L-glutámico 55mM y diferentes fuentes carbonadas en concentración 1%.



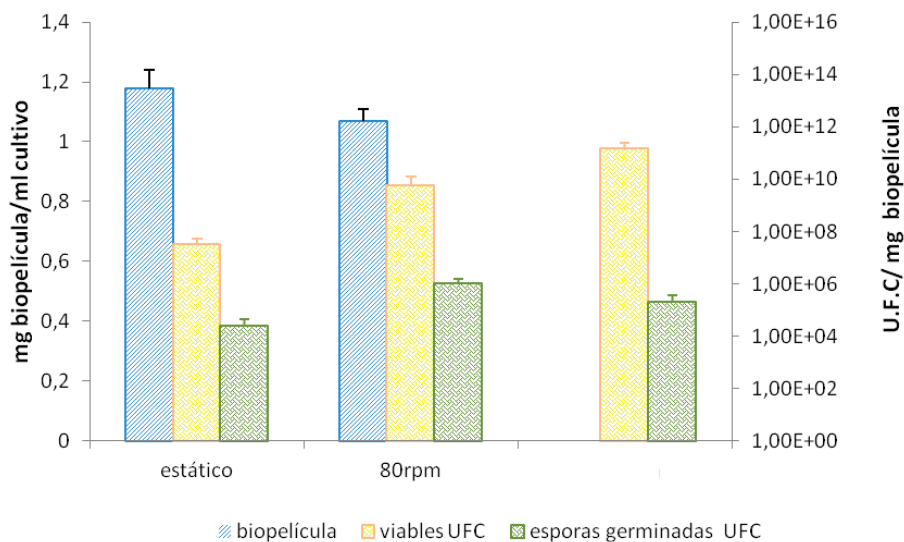
## TIEMPO DE DISGREGACIÓN DE LA BIOPELÍCULA

**Figura 2.** Biopelícula formada por *B. subtilis* en medio mínimo salino ácido L-glutámico 55mM con glicerol 1% o glucosa 1% a 30°C en condiciones estáticas.



### EFFECTO DE LA AGITACIÓN SOBRE LA FORMACIÓN DE LA BIOPELÍCULA Y ESPORULACIÓN

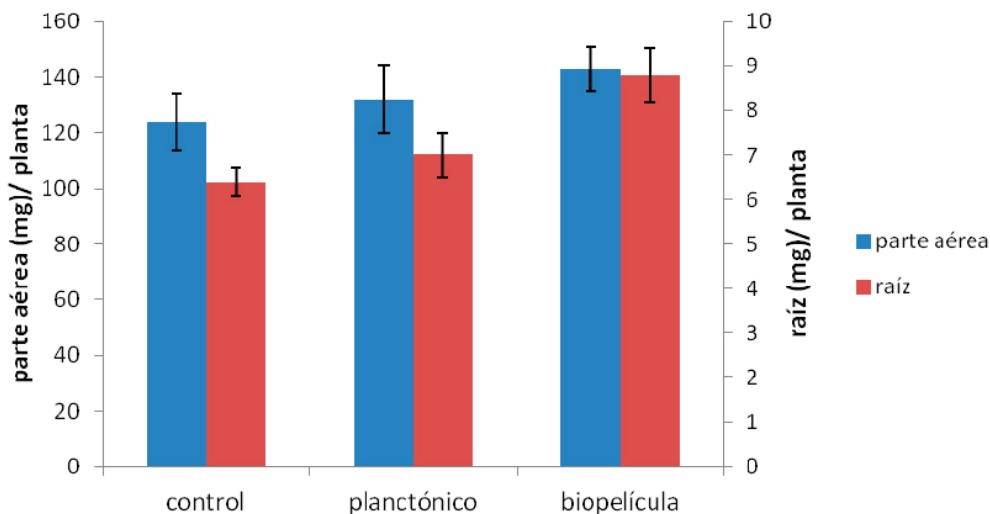
**Figura 3.** Formación de biopelícula, células viables y esporas en la biopelícula formada por *B. subtilis* subsp *spizizenii* en medio mínimo salino glicerol1% ácido L-glutámico 55 mM a las 96h 30°C en condiciones estáticas a 80rpm y 150rpm.



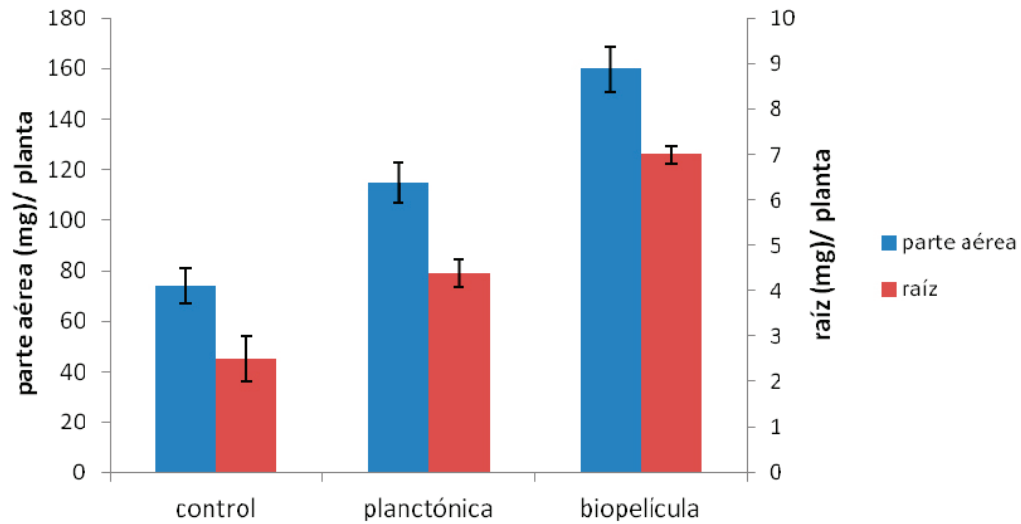
### EFFECTO DE LA INOCULACIÓN DE SEMILLAS DE *LACTUCA SATIVA* VAR. *CRIMOR* CON *B. SUBTILIS* SUBSP. *SPIZIZENII*

**Figura 4.** Crecimiento de parte aérea y raíz de plántulas de *Lactuca sativa* de 20 días inoculadas sus semillas con *B. subtilis* subsp. *spizizenii* en su forma planctónica y biopelícula. El control corresponde a plántulas sin inocular.

Sobre sustrato sin tindalizar



**Figura 5.** Crecimiento de parte aérea y raíz de plántulas de *Lactuca sativa* de 20 días inoculadas sus semillas con *B. subtilis* subsp. *spizizenii* en su forma planctónica y biopelícula. El control corresponde a plántulas sin inocular.





## CARACTERIZACIÓN DE LOS NEMATODOS ASOCIADOS AL ESTADO DEL SUELO EN DOS SISTEMAS, FORESTAL Y AGRÍCOLA EXTENSIVO, DEL SUDESTE BONAERENSE

*Thougnon Islas, Andrea Julieta (1); Carmona, Dora (1);  
Chaves, Eliseo (2); Mondino, Eduardo Ariel (1).  
1 UI EEA INTA Balcarce- FCA UNMDP; 2 NEMAAGRIS, La Plata.  
Autor de correspondencia: thougnonislas.aj@inta.gob.ar*

### RESUMEN

El objetivo de este trabajo fue estudiar la estructura trófica de la nematofauna y el estado del suelo, bajo un sistema de producción forestal de 11 años con *Eucaliptus globulus* (M.Eu) y un sistema de producción agrícola extensivo del Sudeste Bonaerense (Ag.Ex). Se llevó a cabo la caracterización química del suelo y la extracción de nematodos que fueron identificados taxonómicamente a nivel género o familia. Las comunidades de nematodos fueron descritas a través de su abundancia, diversidad (índice de diversidad de Shannon-Wiener  $-H'$ ), y los índices nematológicos: Índice de Madurez (*MI*), Índice Parásitos de Plantas (*PPI*), Índice Canal (*ChI*), Índice de Enriquecimiento (*EI*) e Índice de Estructura (*SI*). El M.Eu presentó un mayor contenido de materia orgánica y menor pH, en comparación con el Ag.Ex. La abundancia media de los nematodos varió entre 206 y 502 nematodos/100 cm<sup>3</sup> de suelo, correspondiendo los mayores valores al M.Eu. En dicho ambiente, se encontraron 27 géneros y 2 familias mientras que en el Ag.Ex se registraron 15 géneros y 4 familias. El M.Eu presentó una mayor diversidad ( $H'$ ), mayor *MI* (indicando un ambiente maduro) y menor *ChI*. El *PPI* se comportó similar en ambos ambientes. Al analizar la interacción entre el *EI* y *SI* sobre la condición de la red alimenticia del suelo se observó una clara separación de los ambientes, siendo clasificado el Ag.Ex como un suelo disturbado y enriquecido con N y el M.Eu como un suelo maduro. El análisis de componentes principales, incluyendo los parámetros nematológicos y las propiedades químicas de los suelos, asoció la presencia de predadores y omnívoros, con los suelos provenientes del M.Eu, con alto contenido de MO, y la presencia de nematodos fungívoros, y en menor medida fitófagos, en el ambiente Ag.Ex con suelos con pH más alcalino y mayor contenido de P-Bray.

**PALABRAS CLAVES:** nematodos, grupos tróficos, ambiente forestal y agrícola extensivo.

## INTRODUCCIÓN

Los nematodos son habitantes ubicuos del sistema suelo debido a su abundancia, diversidad, estrategias adaptativas, funcionalidad de los grupos tróficos y su contribución a la biomasa del suelo (Yeates *et al.*, 2009). Ocupan posiciones en las redes alimenticias en los niveles de consumo primario, secundario y terciario (Sánchez-Moreno *et al.*, 2006), y cualquier perturbación en su hábitat, como las prácticas de manejo agrícola, que influya en su fuente de alimentación o en el ambiente, puede causar cambios en su diversidad (Freckman y Ettema, 1993). Pueden ser utilizados como indicadores ecológicos de la recuperación del suelo después de una perturbación (Neher, 2010; Sánchez-Moreno y Talavera, 2013), al ser clasificados en cinco grupos tróficos: bacteriófagos, fungívoros, fitófagos, omnívoros y predadores (Yeates *et al.*, 1993), a través de los índices nematológicos propuestos por Bongers (1990), Yeates (1994), Ferris y Bongers (2009) y Ferris *et al.* (2001).

Si bien a nivel mundial se han realizado diversos trabajos comparando la nematofauna del suelo en distintos ambientes, y con diferentes prácticas de manejo y cultivos (Neher, 1999; Sánchez-Moreno *et al.*, 2008; Pan *et al.*, 2016), en Argentina esta disciplina presenta un desarrollo incipiente. Se han reportado trabajos en tomate (Salas *et al.*, 2015), manzanos (Azpilicueta *et al.*, 2014), peras (Azpilicueta *et al.*, 2015) y en cultivos extensivos (Mondino, 2010), pero aún no se han reportado estudios de la comparación de la nematofauna en ambientes forestales y agrícolas extensivos. Dado el uso actual de la tierra y en el contexto de la conservación del suelo como el recurso primordial en la producción de cultivos, resulta necesario evaluar los cambios que ocurren en la nematofauna del suelo en sistemas con diferente grado de perturbación, para determinar el impacto de las prácticas agronómicas en la calidad de los suelos del Sudeste Bonaerense. El objetivo de este trabajo fue estudiar la estructura trófica de la nematofauna y el estado del suelo, bajo un sistema de producción forestal de 11 años con *Eucalyptus globulus* y un sistema de producción agrícola extensivo del Sudeste Bonaerense.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en un predio experimental destinado a una Unidad Demostrativa de Producción Agroecológica (UDAB) de la Unidad Integrada EEA Balcarce, INTA - FCA, UNMdP (UIB). Se seleccionaron dos ambientes: un monte de *Eucalyptus globulus* de 11 años de edad (M.Eu), y un lote agrícola extensivo con rastrojo de trigo (Ag.Ex). En febrero de 2017, utilizando el software QGIS, se realizó un muestreo de suelos aleatorio. Se establecieron dos parcelas de muestreo por ambiente, y siguiendo un recorrido en guarda griega

se tomaron 20 submuestras por parcela con un barreno de 5 cm<sup>2</sup> de área y 20 cm de profundidad, las que, en su conjunto, constituyeron una muestra compuesta.

Se llevó a cabo la caracterización química del suelo a través del contenido de nitrógeno como nitrato ( $N-NO_3$ ), materia orgánica (MO), fósforo disponible (*P-Bray*) y pH (relación 1:2,5 en agua).

Se realizó la extracción de nematodos a partir de 100 cm<sup>3</sup> de suelo fresco utilizando la técnica de flotación-centrifugación propuesta por Caveness y Jensen (1955). Se determinó la abundancia de nematodos (n° total de individuos / 100 cm<sup>3</sup> suelo) por observación en lupa binocular y de cada muestra, se tomaron 100 individuos al azar que fueron observados en microscopio óptico (1000X), para la identificación taxonómica hasta el nivel de familia o género, utilizando la bibliografía de referencia (Heyns, 1971; Jairajpuri y Ahmad, 1992; Chaves *et al.*, 1995; y Siddiqi, 2000, entre otros). Los nematodos fueron clasificados en función de sus hábitos alimenticios en cinco grupos tróficos (Yeates *et al.*, 1993), y según su estrategia de vida a través de la escala colonizadores-persistentes (c-p) (Bongers, 1990; y Ferris *et al.*, 2001). Las comunidades de nematodos fueron descritas a través del Índice de diversidad de Shannon-Wiener ( $H'$ ) (Soto, 2016), y los índices nematológicos: Índice de Madurez (MI), Índice Parásitos de Plantas (PPI), Índice Canal (ChI), Índice de Enriquecimiento (EI) e Índice de Estructura (SI) (Bongers, 1990; Yeates, 1994; Ferris y Bongers, 2009; Ferris *et al.*, 2001) utilizando el software online NINJA (Sieriebriennikov *et al.*, 2014).

Para determinar las relaciones entre los parámetros nematológicos y las propiedades químicas de los suelos, se realizó un Análisis de Componentes Principales (ACP) utilizando el software CANOCO versión 4.5.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La caracterización química del suelo mostró que el M.Eu presentó un mayor contenido de MO (Tabla 1), debido a un balance positivo en la deposición/descomposición de residuos orgánicos (Leite *et al.*, 2010), y un menor pH que el Ag.Ex, debido a una inmovilización de bases intercambiables por parte de esta especie forestal (Aweto y Moleele, 2005).

La abundancia media de nematodos varió entre 206-502 nematodos/100 cm<sup>3</sup> de suelo, correspondiendo los mayores valores al M.Eu (Tabla 2). La comunidad de nematodos del M.Eu comprendió 27 géneros y 2 familias, en 5 grupos tróficos; mientras que el Ag.Ex, registró 15 géneros y 4 familias, en 4 grupos tróficos (Tabla 3). En ambos casos, el ecosistema estuvo dominado por fitófagos y bacteriófagos (85% en M.Eu y 80% en Ag.Ex), coincidiendo con lo reportado por Freckman y Caswell (1985).

El *MI* proporciona información sobre el estado de perturbación del ambiente. Valores altos indican sistemas maduros de baja perturbación, y mayor proporción de nematodos especialistas (*k-estrategas*), mientras que bajos valores indican suelos perturbados o enriquecidos, con mayor frecuencia de nematodos oportunistas (*r-estrategas*) (Bongers, 1990). El *MI* fue menor en el ambiente Ag.Ex, indicando un suelo alterado y/o enriquecido (Tabla 2).

El *PPI* es la versión del *MI* para nematodos fitófagos y presenta un comportamiento opuesto (es menor en ecosistemas naturales con menor disponibilidad de nutrientes, y mayor en ambientes agrícolas, perturbados por la fertilización) (Soto, 2016). Si bien se esperaba que el Ag.Ex, que presentaba un menor *MI*, tuviera un mayor *PPI*, esto no ocurrió, ya que el *PPI* se comportó de manera similar para ambos ambientes (Tabla 2). Esto puede deberse a que en el momento del muestreo, el Ag.Ex se encontraba con rastrojo de trigo, sin especies vegetales creciendo activamente.

El *ChI* indica el canal de descomposición predominante del sistema: bacteriano, fúngico o equilibrado. Bajos valores corresponden a una mayor proporción de energía transformada a través del canal de descomposición bacteriana (rápida), mientras que altos valores se obtienen en ambientes leñosos donde domina el canal de descomposición fúngica (lenta) (Soto, 2016). En base a estos conceptos, se esperaba un mayor *ChI* en el M.Eu, sin embargo, presentó menores valores que el Ag.Ex (Tabla 2).

El análisis de la red alimenticia del suelo, permite caracterizar a los ambientes según su *EI* (indicador de fertilidad e incremento de las poblaciones de bacterias por un proceso de enriquecimiento orgánico) y el *SI* (basado en los eslabones más altos de la red, indicando la complejidad de la red trófica y la capacidad de supresión de especies oportunistas y plagas). Al analizar la interacción entre el *EI* y *SI* sobre la condición de la red alimenticia del suelo se observó una clara separación de los ambientes (Figura 1.derecha). El Ag.Ex, fue clasificado como un suelo disturbado, enriquecido con N, con una baja relación C:N, donde la vía de descomposición predominante es la bacteriana, siendo un suelo conductivo (hay pocos niveles superiores de la red trófica, con baja depredación de oportunistas). El M.Eu en cambio, fue clasificado como un suelo maduro, con buena fertilidad y moderada relación C:N, donde la vía de descomposición está en equilibrio entre bacterias y hongos y es un suelo supresivo (hay suficientes depredadores en la red alimenticia y las poblaciones de especies oportunistas son realmente reducidas).

El ACP explicó el 92,5% de la variabilidad total en las dos primeras componentes, y permitió separar los ambientes. El 77,6% de la variabilidad fue explicada por el CP1, estando asociado a la presencia de predadores y omnívoros, que se encuentran principalmente en los suelos provenientes del M.Eu, con alto

contenido de MO, mientras que el Ag.Ex, se asoció con la presencia de nematodos fungívoros, y en menor medida fitófagos, en suelos con pH más alcalino y mayor contenido de P-Bray (Figura 2).

## CONCLUSIONES

Este trabajo es el primer reporte sobre los cambios en la nematofauna en ambientes forestales y agrícolas extensivos del Sudeste Bonaerense. La generación de conocimientos sobre la abundancia de nematodos de suelo y de los índices nematológicos (*MI*, *PPI*, *ChI*, *EI* y *SI*), permitió caracterizar los ambientes estudiados. Si bien los resultados de *PPI* y *ChI*, no fueron coincidentes con los otros índices, a través del *MI* y el análisis de la red alimenticia del suelo, se pudo clasificar al monte de eucaliptus de 11 años de como un ambiente maduro y con buena fertilidad, debido a que no sufre perturbaciones, al menos hasta el fin de su vida útil cuando es explotado para la producción forestal. En cuanto al agrícola extensivo, representó un ambiente disturbado, producto de las sucesivas prácticas agrícolas llevadas a cabo en la producción agropecuaria.

Si bien este trabajo apoya los resultados previos reportados en la literatura y contribuye a un aumento en el conocimiento de la nematofauna y su diversidad en suelos del Sudeste Bonaerense, es necesario ampliar los conocimientos con estudios que incluyan otros ambientes con monitoreos a largo plazo.

## BIBLIOGRAFÍA

- AWETO, A.; MOLEELE, N. 2005. Impact of Eucalyptus camaldulensis plantation on an alluvial soil in south eastern Botswana. *International journal of environmental studies* 62(2): 163-170.
- AZPILICUETA, C.; ARUANI, M.; REEB, P. 2015. Nematodos: indicadores del estado y procesos del suelo en un sistema frutícola. *Memorias del V Congreso Latinoamericano de Agroecología-SOCLA*. La Plata. 1844 p.
- AZPILICUETA, C.V.; ARUANI, M.C.; CHAVES, E.; REEB, P.D. 2014. Soil nematode responses to fertilization with ammonium nitrate after six years of unfertilized apple orchard. *Spanish Journal of Agricultural Research* 12(2): 353-363.
- BONGERS, T. 1990. The maturity index: an ecological measure of environmental disturbance based on nematode species composition. *Oecologia* 83(1): 14-19.
- BONGERS, T. 1999. The maturity index, the evolution of nematode life history traits, adaptive radiation and cp-scaling. *Plant and soil* 212(1): 13-22.

- CAVENESS, F.E.; JENSEN, H.J. 1955. Modification of centrifugal flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 22: 87-89.
- CHAVES, E.J.E.; TORRES, M.M.; MÓNICA, S. 1995. Claves para determinar géneros de nematodos del suelo de la República Argentina. INTA-Estación Experimental Agropecuaria Balcarce-Facultad de Ciencias Agrarias-Universidad Nacional de Mar del Plata. 91 p.
- FERRIS, H.; BONGERS, T. 2009. Indices developed specifically for analysis of nematode assemblages. In: Wilson, M.J.; Kakouli-Duarte, T. (eds) *Nematodes as environmental indicators*, CAB International, UK. pp. 124-145
- FERRIS, H.; BONGERS, T.; DE GOEDE, R. 2001. A framework for soil food web diagnostics: extension of the nematode faunal analysis concept. *Applied Soil Ecology* 18(1): 13-29.
- FRECKMAN, D.W.; CASWELL, E.P. 1985. The ecology of nematodes in agroecosystems. *Annual Review of Phytopathology* 23(1): 275-296.
- FRECKMAN, D.W.; ETTEMA, C.H. 1993. Assessing nematode communities in agroecosystems of varying human intervention. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 45, 239-261.
- HEYNS, J. 1971. A guide to the plant and soil nematodes of South Africa. Balkema, AA. Cape Town. 233 p.
- JAIRAJPURI, M.S.; AHMAD, W. 1992. *Dorylaimida: free-living, predaceous and plant-parasitic nematodes*. Oxford and IBH Publishing Co, India. 457 p.
- LEITE, F.P.; SILVA, I.R.; NOVAIS, R.F.; BARROS, N.F.D.; NEVES, J.C.L. 2010. Alterations of soil chemical properties by eucalyptus cultivation in five regions in the Rio Doce Valley. *Revista Brasileira de Ciência do Solo* 34(3): 821-831.
- MONDINO, E.A. 2010. Comunidad de nematoides do solo, no ecossistema do Pampa Austral da Argentina, sob diferentes sistemas de cultivo. Tese de doutorado. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro. 102 p.
- NEHER, D.A. 1999. Nematode communities in organically and conventionally managed agricultural soils. *Journal of nematology* 31(2): 142-154.
- NEHER, D.A. 2010. Ecology of plant and free-living nematodes in natural and agricultural soil. *Annual Review of Phytopathology* 48: 371-394.

- PAN, F.; LI, N.; ZOU, W.; HAN, X.; MCLAUGHLIN, N.B. 2016. Soil nematode community structure and metabolic footprint in the early pedogenesis of a Mollisol. *European Journal of Soil Biology* 77: 17-25.
- SALAS, A.; ACHINELLY, M.F.; CHAVES, E.; CAMINO, N.B. 2015. Estudio de la diversidad de nematodos asociados al sustrato como indicadores de la calidad del suelo en agroecosistemas. *Memorias del V Congreso Latinoamericano de Agroecología-SOCLA*. La Plata. 1844 p.
- SÁNCHEZ-MORENO, S.; MINOSHIMA, H.; FERRIS, H.; JACKSON, L.E. 2006. Linking soil properties and nematode community composition: effects of soil management on soil food webs. *Nematology* 8(5): 703-715.
- SÁNCHEZ-MORENO, S.; SMUKLER, S.; FERRIS, H.; O'GEEN, A.T.; JACKSON, L.E. 2008. Nematode diversity, food web condition, and chemical and physical properties in different soil habitats of an organic farm. *Biology and Fertility of Soils* 44(5): 727-744.
- SÁNCHEZ-MORENO, S.; TALAVERA, M. 2013. Los nematodos como indicadores ambientales en agroecosistemas. *Revista Ecosistemas* 22(1): 50-55.
- SIDDIQI, M.R. 2000. *Tylenchida: parasites of plants and insects*. CABI. 852 p.
- SIERIEBRIENNIKOV, B.; FERRIS, H.; DE GOEDE, R.G. 2014. NINJA: An automated calculation system for nematode-based biological monitoring. *European Journal of Soil Biology* 61: 90-93.
- SOTO, R.L. 2016. *Nematodes as soil quality indicators in coffee systems*. M.Sc Thesis. Organic Agriculture - Farming System Ecology, Wageningen University. 53 p.
- YEATES, G.; BONGERS, T.; DE GOEDE, R.; FRECKMAN, D.; GEORGIEVA, S. 1993. Feeding habits in soil nematode families and genera-an outline for soil ecologists. *Journal of nematology* 25(3): 315-331.
- YEATES, G.W. 1994. Nematodes as soil indicators: functional and biodiversity aspects. *Biology and Fertility of Soils* 37(4): 199-210.
- YEATES, G.W.; FERRIS, H.; MOENS, T.; VAN DER PUTTEN, W.H. 2009. The role of nematodes in ecosystems. In: Wilson, M.J.; Kakouli-Durate, T. (Eds.), *Nematodes as environmental indicators*, United Kingdom: CABI Publishing. pp. 1-45.

## TABLAS

**Tabla 1.** Análisis químico de los ambientes seleccionados para la colecta de las muestras de suelo. *N-NO<sub>3</sub>*: contenido de nitrógeno como nitrato; *MO*: materia orgánica; *P-Bray*: contenido de fósforo disponible.

	Sitios	
	Agrícola Extensivo (Ag.Ex)	Monte de Eucaliptus (M.Eu)
Propiedades físico-químicas:		
pH	6,18	5,51
P-Bray(ppm)	27,72	14,85
MO (%)	4,56	6,75
N-Nitrato (ppm)	8,55	8,09

**Tabla 2.** Abundancia Total e índices nematológicos de las comunidades de nematodos presentes en cada uno de los ambientes. *H'*: Índice de diversidad de Shannon-Wiener; *MI*: Índice de Madurez; *PPI*: Índice Parásitos de Plantas; *ChI*: Índice Canal; *EI*: Índice de Enriquecimiento; *SI*: Índice de Estructura.

- Valores entre paréntesis corresponden a desvíos estándar.

	Sitios	
	Agrícola Extensivo (Ag.Ex)	Monte de Eucaliptus (M.Eu)
Abundancia Total	206,2 (± 46,2)	502,1 ± 125,7
Índices:		
<i>H'</i>	2,07 (± 0,20)	2,19 (± 0,05)
<i>MI</i>	1,64 (± 0,08)	2,37 (± 0,05)
<i>PPI</i>	2,60 (± 0,03)	2,86 (± 0,04)
<i>ChI</i>	23,39 (± 12,57)	18,33 (± 2,37)
<i>EI</i>	77,42 (± 7,76)	38,65 (± 2,92)
<i>SI</i>	11,39 (± 16,1)	58,46 (± 3,57)

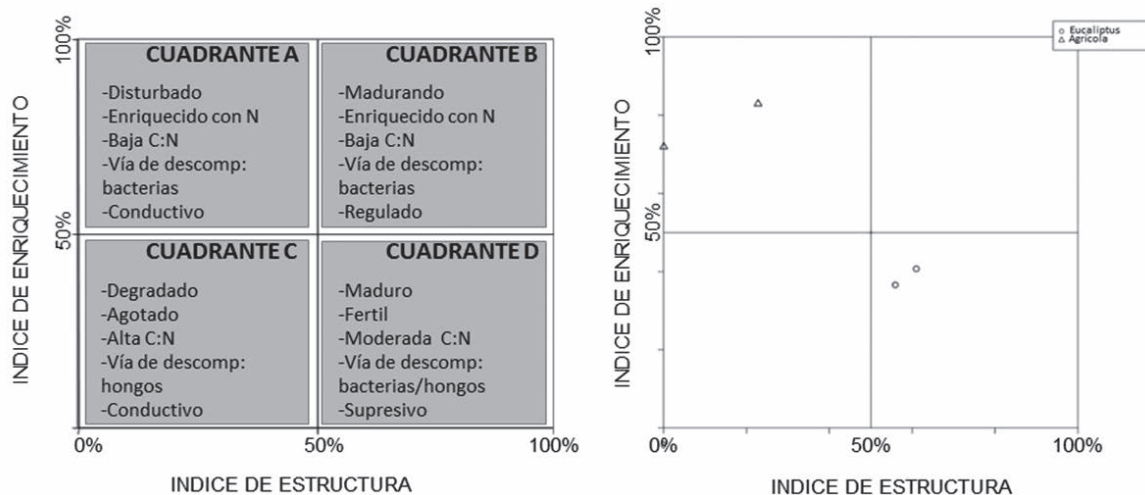


**Tabla 3.** Abundancia relativa y valores de la escala c-p de los nematodos presentes en cada uno de los ambientes analizados.

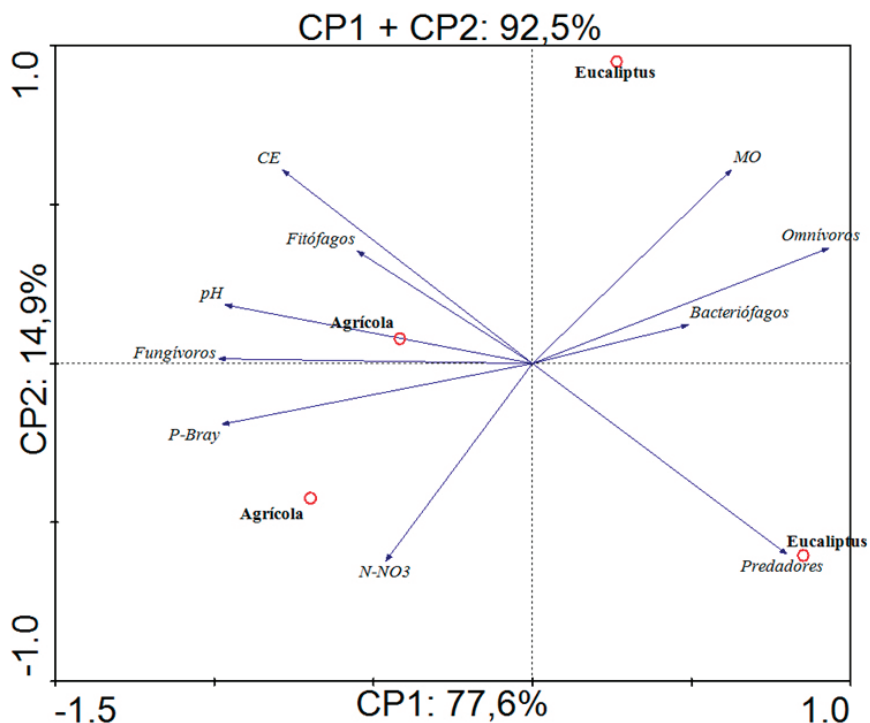
Nematodos	Sitio		Valor c-p
	Agrícola Extensivo (Ag.Ex)	Monte de Eucaliptus (M.Eu)	
Bacteriófagos	0,251	0,313	
Acrobeles	0,000	0,177	2
Acrobelloides	0,030	0,014	2
Anaplectus	0,000	0,009	2
Cephalobus	0,015	0,000	2
Cruzema	0,096	0,005	1
Diplogasteridae	0,005	0,000	1
Eucephalobus	0,015	0,005	2
Mesorhabditis	0,005	0,000	1
Monhystera	0,000	0,005	2
Panagrolaimus	0,035	0,005	1
Plectus	0,000	0,025	2
Prismatolaimus	0,000	0,010	3
Rhabditis	0,050	0,029	1
Tylocephalus	0,000	0,010	2
Wilsonema	0,000	0,019	2
Fitófagos	0,549	0,543	
Coslenchus	0,035	0,005	2
Criconematidae	0,005	0,076	3
Helicotylenchus	0,284	0,356	3
Heteroderidae	0,005	0,000	3
Paratylenchus	0,000	0,005	2
Pratylenchus	0,030	0,024	3
Trichodorus	0,000	0,005	4
Tylenchus	0,190	0,072	2
Fungívoros	0,195	0,053	
Aphelenchoides	0,000	0,005	2
Aphelenchus	0,160	0,010	2
Diphtherophora	0,000	0,019	3
Ditylenchus	0,020	0,005	2
Paraphelenchus	0,010	0,014	2
Tylencholaimellus	0,005	0,000	4
Omnívoros	0,005	0,064	
Aporcelaimellus	0,000	0,005	5
Dorylaimidae	0,005	0,040	4
Eudorylaimus	0,000	0,009	4
Labronema	0,000	0,009	4
Predadores	0,000	0,025	
Coomansus	0,000	0,025	4

Figuras

**Figura 1.** Esquema de interpretación del diagnóstico general de la red alimenticia del suelo, basada en el SI y EI (izquierda). Análisis de la red alimenticia del suelo basada en el SI y EI, para los sitios de estudio (perfil faunal) (derecha).



**Figura 2.** Análisis de componentes principales basado en la estructura trófica de los nematodos y las propiedades físico-químicas del suelo, de los dos sitios estudiados.



## DIVERSIDAD DE HONGOS MICORRÍDICOS ARBUSCULARES NATIVOS DEL CULTIVO DE MAÍZ BAJO DISTINTAS PRÁCTICAS AGRONÓMICAS

Zambrano Soledispa A. (1), Gamarnik M.1, Di Salvo L.P. (1,2,\*), García de Salamone I.E. (1)

1 Cátedra de Microbiología Agrícola, FAUBA.

2 CONICET

\*disalvol@agro.uba.ar

### RESUMEN

El mejoramiento genético del cultivo de maíz en combinación con el uso de fertilizantes químicos ha constituido la estrategia para el aumento de los rendimientos, sin tener en cuenta el efecto de estas prácticas sobre las comunidades microbianas del suelo y la sustentabilidad de la producción. Es ampliamente conocido que las bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), tales como *Azospirillum brasilense*, mejoran el aprovechamiento de los recursos disponibles resultando en un aumento en el crecimiento y en el rendimiento de varios cultivos, entre ellos el maíz. Sin embargo, para mejorar la respuesta a la inoculación, es necesario conocer mejor las interacciones planta-microorganismo que suceden en la rizósfera de los cultivos en condiciones de campo. Para ello, el uso de bioindicadores, como los hongos micorrícicos arbusculares nativos, permite analizar el impacto de las prácticas agronómicas y, así, la sustentabilidad del sistema. Este trabajo tiene como objetivo analizar el efecto de la inoculación con ciertas PGPR y la fertilización nitrogenada sobre la diversidad de esporas de hongos micorrícicos arbusculares nativos presentes en un cultivo de maíz en dos estados ontogénicos diferentes. Para ello, se realizó un ensayo a campo en Pehuajó (prov. Bs. As.), considerando dos factores: inoculación en cinco niveles (un control sin inoculación y cuatro tratamientos inoculados con las cepas de *A. brasilense* 40M, 42M, 40M+42M y un inoculante comercial formulado con *A. brasilense* y *Pseudomonas fluorescens*) y fertilización nitrogenada en tres niveles (0, 90 y 180 kg de urea h<sup>-1</sup>). Se tomaron muestras de suelo rizosférico en V5 y R3. A partir de esas muestras se realizó la extracción de esporas por tamizado húmedo. Éstas se cuantificaron y clasificaron según morfotipos por observación al microscopio con aumento de 40x y 100x. Se analizó la abundancia, la diversidad y se realizó el cálculo del índice de diversidad de Shannon. Los datos se analizaron mediante ANOVA y test de medias, y mediante análisis multivariado con el software Infostat 2011. Se observaron nueve morfotipos diferentes de esporas de hongos micorrícicos arbusculares nativos. La diversidad de estas esporas fue similar en ambos estados ontogénicos del cultivo de maíz. Además, ninguna de las prácticas agronómicas evaluadas produjo cambios en la diversidad de morfologías de esporas. Los resultados

de este trabajo permitirían afirmar que la inoculación con ciertas PGPR y la fertilización nitrogenada constituyen prácticas agronómicas sustentables para el cultivo de maíz.

**Palabras claves:** *Azospirillum brasilense*, PGPR, fertilización nitrogenada

## INTRODUCCIÓN

El maíz (*Zea mays*) es uno de los cereales más importantes en el mundo y en Argentina. Está presente en la dieta humana, como fuente en diversos procesos industriales y en la producción de biocombustibles (Cardona, 2009; FAO, 2001). Dado que en las últimas décadas la población mundial ha ido en aumento se ha requerido que la producción de alimentos también se multiplique satisfaciendo esta demanda, ejerciendo una presión sobre el ambiente por la intensificación agrícola y la incorporación de ambientes naturales al sector agrícola (Andrade, 1998).

Para conocer el grado de sustentabilidad de un agroecosistema es necesario contar con algún tipo de indicadores para poder evaluar los impactos de un estrés en el funcionamiento de un sistema. Los microorganismos del suelo son buenos indicadores. Se sabe que estos cumplen un rol ecológico fundamental en los agroecosistemas y, por lo tanto, pueden garantizar la funcionalidad del mismo en el tiempo de manera sustentable (Altieri, 1999). Entre ellos encontramos las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR, por sus siglas en inglés) y los hongos formadores de micorrizas arbusculares (Barea, 2004). Entre las PGPR se encuentra el género *Azospirillum*, de relevancia agrícola por ser una alternativa ecológica y económica para la producción (Cassán y García de Salamone, 2009; Cassán y Díaz Zorita, 2016). Estos microorganismos estimulan el desarrollo de la planta de manera directa e indirecta por varios mecanismos complejos que interactúan entre sí, con lo cual su uso podría mejorar el rendimiento tanto biológico como comercial del maíz y así la sustentabilidad del agroecosistema (Di Salvo, 2015). Las micorrizas arbusculares son asociaciones mutualistas entre ciertos hongos del suelo, los hongos formadores de micorrizas arbusculares y plantas vasculares (Brundrett, 1991). Esta simbiosis tiene gran importancia para los agroecosistemas. Entre las ventajas de esta simbiosis es la de una mayor absorción de minerales pocos móviles, una mejor captación del agua y protección contra patógenos. Además, generan una mejor agregación de las partículas del suelo, contribuyendo a una mejor estructura del mismo (Gómez y Villate, 2010). Una de las mayores dificultades es la determinación de la taxonomía de estos hongos. Para ello se utiliza la morfología de sus esporas, siendo ésta la metodología usada mayoritariamente. Asimismo, la

densidad de esporas se utiliza como una medida relevante en las diferentes especies de hongos formadores de micorrizas arbusculares en los suelos (Lovera y Cuenca, 2007).

El entendimiento de manera integrada de las diferentes interacciones de los microorganismos del suelo en los distintos cultivos como el de maíz en condiciones de campo es de gran relevancia para garantizar en el tiempo la sustentabilidad de los agroecosistemas.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Para este trabajo se utilizaron muestras de suelo rizosférico de un cultivo de maíz, realizado en un lote agrícola de la localidad de Pehuajó de la provincia de Buenos Aires. El diseño empleado para el ensayo fue factorial por bloques completamente aleatorizados. Los factores evaluados fueron la fertilización nitrogenada y la inoculación con PGPR. La fertilización nitrogenada se evaluó en tres niveles: 0, 90 y 180 kg de urea por hectárea, aplicada en V4 (Ritchie y Hanway, 1982). La inoculación se evaluó en cinco niveles: un tratamiento testigo sin inoculación, y cuatro tratamientos que fueron inoculados, uno con la cepa 40M (GenBank HM002661), otro con la cepa 42M (GenBank HM002662), otro con ambas cepas en simultáneo (40M+42M) y un inoculante comercial formulado con *A. brasilense* y *Pseudomonas fluorescens* (Rhizoflo Premium MaizR, Laboratorios CKC, Argentina). Los inoculantes fueron aplicados sobre la semilla al momento de la siembra.

Se muestreó suelo rizosférico en dos estados ontogénicos del cultivo diferentes, V5 y R3 (Ritchie y Hanway, 1982). A partir de estas muestras se realizaron las extracciones de esporas de hongos micorrícicos arbusculares nativos. Para ello se utilizó la metodología de tamizado húmedo adaptada por Fernandes *et al.* (2016). Una vez extraídas las esporas se procedió a observarlas y a cuantificarlas usando el microscopio con un aumento de 40x. Se clasificaron según diferencias de morfotipos (Lebrón *et al.*, 2012). Además, se realizó el cálculo del índice de diversidad de Shannon. Por último, se realizó el análisis de los resultados obtenidos mediante ANOVA, test de medias y análisis multivariado utilizando el software Infostat versión 2011 (Di Rienzo *et al.*, 2011).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En promedio, se observaron nueve morfotipos diferentes de esporas de hongos micorrícicos arbusculares nativos en las muestras de suelo rizosférico del cultivo de maíz. Cada uno de los morfotipos observados presentó diferente abundancia promedio, siendo cuatro de ellos los más abundantes en todas las

muestras de suelo (Figura 1), independientemente del tratamiento aplicado o del estado ontogénico del cultivo.

Si bien se ha observado previamente que el desarrollo del cultivo de maíz genera modificaciones en el patrón de micorrización del cultivo y en el porcentaje de esporas presentes en las raíces de éste (Di Salvo, 2015), en el presente trabajo se observó que la ontogenia del cultivo no modificó la diversidad de esporas de hongos micorrícicos arbusculares presentes en suelo rizosférico del cultivo de maíz (Figura 2.a). Asimismo, en un trabajo previo se observó que las prácticas agronómicas de fertilización nitrogenada e inoculación con ciertas bacterias PGPR no producen modificaciones en la colonización del cultivo por hongos micorrícicos arbusculares nativos ni en el porcentaje de estructuras características, como tampoco en la diversidad funcional y en el recuento de ciertas comunidades microbianas evaluadas (Di Salvo, 2015). En concordancia, en este trabajo se observó que dichas prácticas tampoco modificaron la diversidad de esporas de estos hongos (Figura 2.b y 2.c, respectivamente).

El índice de diversidad de Shannon es ampliamente utilizado para medir la biodiversidad. En este trabajo, en concordancia con lo observado mediante análisis multivariado y discutidos previamente (Figura 2), no se observaron diferencias significativas en el índice de Shannon entre estados ontogénicos del cultivo, siendo 1,34 el valor promedio observado. Además, las prácticas agronómicas evaluadas tampoco generaron cambios significativos en este índice.

## **CONCLUSIONES**

De acuerdo a lo observado en este trabajo, las prácticas agronómicas de fertilización nitrogenada e inoculación con ciertas bacterias PGPR aplicadas al cultivo de maíz en condiciones de campo no modifican la diversidad de esporas de hongos micorrícicos arbusculares nativos. Considerando que las micorrizas arbusculares son ampliamente consideradas como bioindicadores de calidad de suelos, y teniendo en cuenta los resultados obtenidos en este trabajo, en conjunto con otros bioindicadores previamente estudiados, podría afirmarse que dichas prácticas agronómicas son sustentables para los agroecosistemas de este cultivo.

## **BIBLIOGRAFÍA**

Altieri MA (1999) The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 74:19-31.

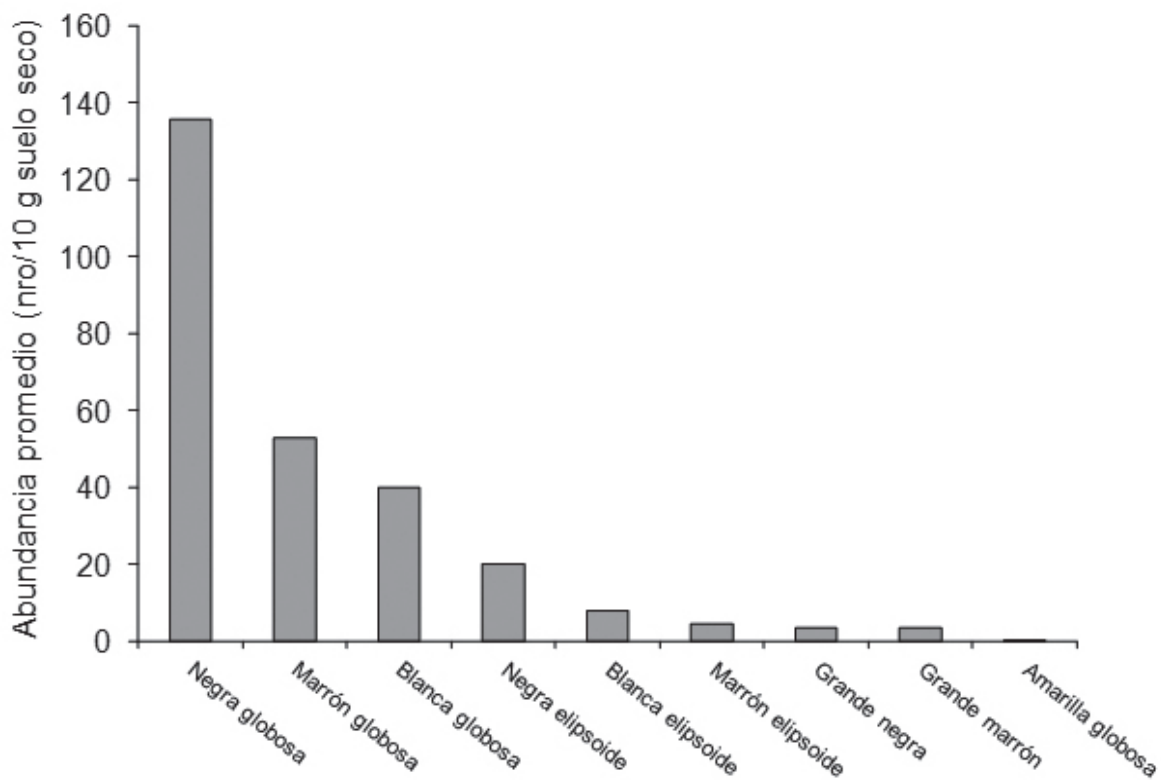
- Andrade FH (1998) ¿Es posible satisfacer la creciente demanda de alimentos de la humanidad? *Interciencia* 23:266-274.
- Barea JM (2004) Impacto de las micorrizas en la calidad del suelo y la productividad vegetal en sistemas agrícolas y espacios naturales. En: Monzón de Asconegui MA, García de Salamone IE, Miyazaki SS (eds.), *Biología del suelo. Transformaciones de la materia orgánica, usos y biodiversidad de los organismos edáficos*. Editorial Facultad de Agronomía, Buenos Aires. Pp. 7-11.
- Brundrett M (1991) Mycorrhizas in natural ecosystems. *Adv. Ecol. Res.* 21:171-313.
- Cardona CA (2009) Perspectivas de la producción de biocombustibles en Colombia: contextos latinoamericano y mundial. *Revista de Ingeniería* 29:109-120.
- Cassán F, Díaz-Zorita M (2016) *Azospirillum* sp. in current agriculture: From the laboratory to the field. *Soil Biol. Biochem.* 103:117-130.
- Cassán FD, Garcia de Salamone IE (2008) *Azospirillum* sp.: Cell physiology, plant interactions and agronomic research in Argentina. Asociación Argentina de Microbiología, Buenos Aires, Argentina. ISBN: 978-987-98475-8-9.
- Di Rienzo JA, Casanoves F, Balzarini MG, González L, Tablada M, Robledo CW (2011) InfoStat versión 2011. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Di Salvo LP (2015) Inoculación de trigo y maíz con cepas experimentales de *Azospirillum brasilense* a campo. Evaluación de parámetros agronómicos y del efecto sobre las comunidades microbianas nativas. Tesis doctoral de la Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica.
- FAO (Food and Agriculture Organization of The United Nations) (2001). El maíz en los trópicos. Recuperado en junio del 2017:  
<http://www.fao.org/docrep/003/x7650s/x7650s02.htm#TopOfPage>
- Fernandes RA, Ferreira DA, Saggin-Junior OJ, Stürmer SL, Paulino HB, Siqueira JO, Carneiro MAC (2016) Occurrence and species richness of mycorrhizal fungi in soil under different land use. *Can. J. Soil Sc.* 96:271-280.
- Gómez MR, Villate AR (2010) Señales de reconocimiento entre plantas y hongos formadores de micorrizas arbusculares. *Corpoica Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 11:53-60.

Lebrón L, Lodge LJ, Bayman P (2012) Differences in arbuscular mycorrhizal fungi among three coffee cultivars in Puerto Rico. *ISRN Agron.* doi: 10.5402/2012/148042

Lovera M, Cuenca G (2007) Diversidad de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y potencial micorrízico del suelo de una sabana natural y una sabana perturbada de la gran sabana, Venezuela. *Interciencia* 32:108-114.

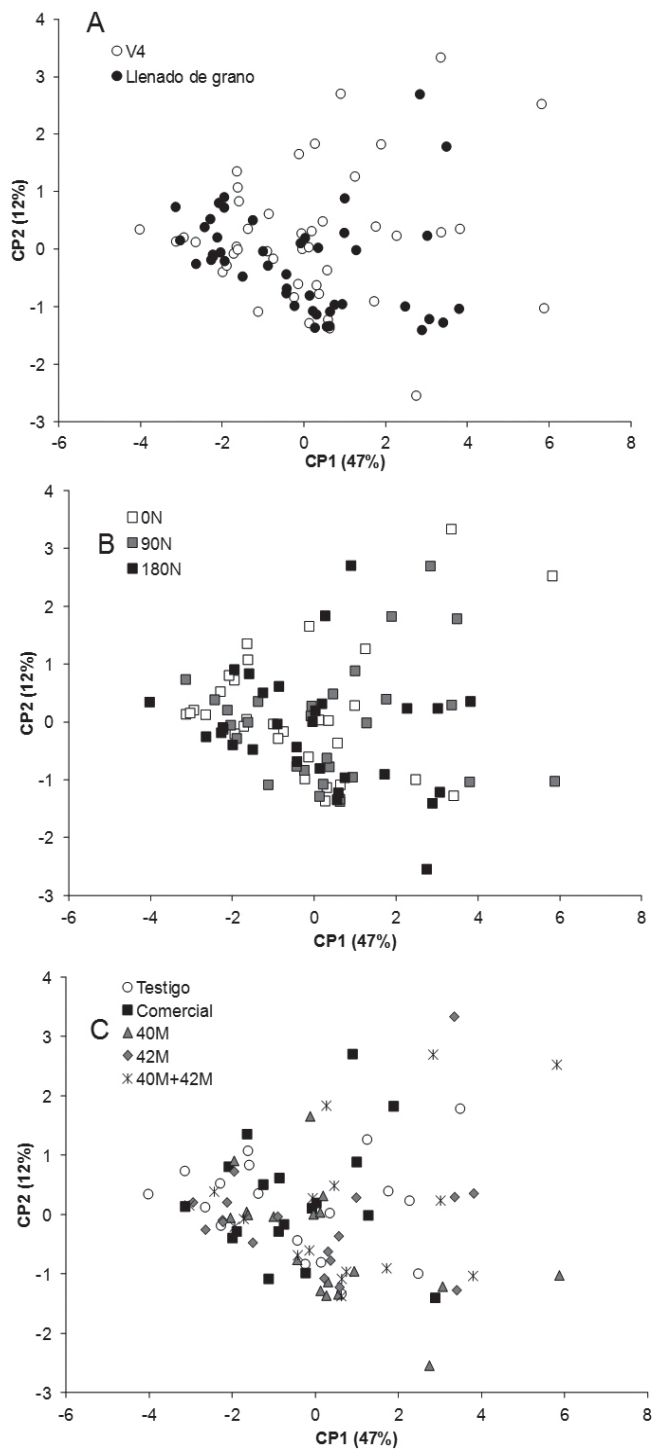
Ritchie SW, Hanway JJ (1982) How a corn plant develops. Iowa State University. Special Report No. 48.

**Figura 1.** Abundancia promedio de los nueve morfotipos de esporas de hongos micorrízicos arbusculares presente en suelo rizosférico del cultivo de maíz en dos estados ontogénicos diferentes.





**Figura 2.** Análisis multivariado de la abundancia de esporas de hongos micorrícicos arbusculares presentes en suelo rizosférico del cultivo de maíz en (a) dos estados ontogénicos diferentes, (b) bajo tres dosis de fertilización nitrogenada, o (c) cinco tratamientos de inoculación diferentes. Entre paréntesis se presenta el porcentaje de varianza total explicada por cada uno de los ejes.



# **ECOLOGÍA DE POBLACIONES Y COMUNIDADES**

## **AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES FÚNGICAS DE SUELO QUE INTEGRAN EL CONSORCIO CON CAPACIDAD PARA DEGRADAR GLIFOSATO EN CONDICIONES *IN VITRO***

*Autor/es: Aluffi Melisa (1), Carranza Cecilia (1), Benito Nicolás (1), Chiacciera Stella (2), Barberis Carla (1), Magnoli Carina (1).*  
*Institución a la que pertenece/n el/los autor/es: 1 Dpto. de Microbiología e Inmunología, 2 Dpto de Química, Facultad de Ciencias Exactas, Fco.- Qcas. y Naturales, Universidad Nacional de Río cuarto.*  
*Dirección del autor de correspondencia: Ruta 36, Km 601, UNRC, Río Cuarto, Córdoba.*

### **RESUMEN**

Para maximizar los rendimientos de los cultivos, la agricultura moderna depende de la utilización de herbicidas para el control de malezas. Los herbicidas, y particularmente el glifosato (GP), constituyen el segmento de mayor consumo del mercado Argentino de Fitosanitarios. El uso extendido del GP amerita una evaluación constante referente a sus potenciales efectos nocivos sobre la salud humana y el ambiente, comprendiendo la posible pérdida de hábitats en agro-ecosistemas, así como su interacción con otros agroquímicos. Debido al impacto del GP en el micro-ecosistema del suelo, es importante identificar métodos para mejorar la tasa de degradación y la remediación biológica en los suelos. El objetivo de este trabajo fue: aislar e identificar especies fúngicas que integran el consorcio microbiano con capacidad de crecer en presencia de GP, en los suelos agrícolas expuestos y no expuestos a pesticidas. Se obtuvieron un total de 16 muestras. Se realizó un enriquecimiento de la microbiota tolerante a glifosato utilizando el medio CZapek- Dox líquido acondicionado con diferentes concentraciones de GP (Roundup-marca comercial) (con o sin carbono, nitrógeno y fósforo, según corresponda) para evaluar el crecimiento en medio con herbicida como fuente de carbono (10 mM) (CZDC), como fuente nitrogenada (1,5 mM) (CZDN) o como fuente de fósforo (1 mM) (CZDP) y una condición control sin GP. A partir del medio de enriquecimiento se realizaron diluciones seriadas y se sembraron en superficie sobre los medios de cultivo CZapek- Dox acondicionados de igual manera que los medios líquidos. Los géneros fúngicos prevalentes fueron *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. y *Penicillium* spp. Los recuentos generales más elevados se observaron en los suelos sin exposición a pesticidas. El análisis de los datos mostró que ciertos géneros fúngicos prevalentes podrían cumplir un rol esencial en el consorcio microbiano con capacidad de degradar el herbicida glifosato.

**Palabras claves:** microbiota, glifosato, suelo

## **INTRODUCCIÓN**

En los últimos años el sector agropecuario latinoamericano ha experimentado importantes transformaciones en sus sistemas productivos, con un notable avance hacia la difusión de sistemas de creciente tecnificación, presentados como “paquetes tecnológicos” que incluyen el uso de materiales transgénicos, la adopción de nuevas estrategias de siembra, elevado requerimiento de productos químicos, uso intensivo de conocimiento y apoyo en tecnologías de la información (Pórfido y Buteler 2014). Para maximizar los rendimientos de los cultivos, la agricultura moderna depende de la utilización de herbicidas para el control de malezas, estos productos permiten sostener una población mundial en continuo crecimiento (Singh y Singh 2014). Los herbicidas, y particularmente el GP, constituyen el segmento de mayor consumo del mercado Argentino de Fitosanitarios, en el transcurso del año 2009 se utilizaron más de 170 millones de litros de GP (~8.5 % del total de GP que se consume a nivel mundial) (CASAFE 2010). El uso masivo y extendido de este herbicida amerita una evaluación constante de corto, mediano y largo plazo, referente a sus potenciales efectos nocivos sobre la salud humana y el ambiente, comprendiendo las interacciones entre organismos, la posible pérdida de hábitats en agro-ecosistemas, así como su interacción con otros agroquímicos (CONICET 2009). Debido al impacto del GP y de los herbicidas que contienen GP en el micro-ecosistema del suelo y en la agricultura, es importante identificar métodos para mejorar la tasa de degradación y la remediación biológica en los suelos (Romero y col., 2011). Diversos autores indican que los hongos pueden utilizar este herbicida como un nutriente y también como un sustrato energético (Krzysko-Lupicka y Orlik, 1997; Krzysko-Lupicka y col., 1997, Castro y col., 2008). Teniendo en cuenta estos antecedentes, se plantea la siguiente hipótesis: Ciertas especies fúngicas presentes en suelos destinados al cultivo de soja y maíz integran el consorcio microbiano con capacidad de tolerar y utilizar el herbicida GP como fuente de carbono, nitrógeno y/o fósforo.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Aislar e identificar especies fúngicas que integran el consorcio microbiano con capacidad de crecer en presencia de glifosato, de los suelos agrícolas expuestos y de suelos no expuestos a pesticidas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### MUESTREO

Se realizaron muestreos en campos cercanos a distintas localidades del sur de la provincia de Córdoba: Coronel Moldes, Serrano y Espinillo, en el período 2016/2017 en lotes destinados al cultivo extensivo de soja y/o maíz y por ende expuestos a diferentes pesticidas.

Los muestreos se realizaron en diferentes períodos del año. En cada lote, las muestras se tomaron desde la parte superior (5 cm de suelo) en intervalos de 5 a 10 metros. Se tomaron también muestras de suelos sin intervención en la zona y por ende no expuestos a pesticidas en forma directa. En el laboratorio las muestras se procesaron inmediatamente y fueron almacenadas a 4 °C para ensayos posteriores.

### HERBICIDA

Se utilizó GP (Roundup-marca comercial). Se prepararon soluciones de trabajo y se adicionaron al medio de cultivo estéril a 45-50 °C para llegar a las concentraciones finales de 1; 1,5 y 10 mM.

### ENRIQUECIMIENTO SELECTIVO DE HONGOS FILAMENTOSOS

Se utilizó el medio Czapek Dox (CZD) (glucosa, 10 g;  $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ , 0,5 g;  $NaNO_3$ , 2 g;  $FeSO_4 \cdot 4H_2O$ , 0,01 g;  $K_2HPO_4$ , 1 g; extracto de levadura, 0,5 g;  $H_2O$  1000 ml). Se inocularon 10 g de cada muestra en un Erlenmeyer de 250 ml conteniendo 50 ml de medio. Los medios ensayados fueron: CZD sin glucosa y adicionado con 10 mM de GP (CZDC), CZD sin nitrato y adicionado con 1,5 mM de GP (CZDN) y CZD sin fosfatos y suplementado con 1 mM de GP; para enriquecer el cultivo en hongos (Krzysko-Lupicka y Sudol, 2008). Se incluyeron también ensayos controles en medio CZD completo sin herbicida. Se agregó cloranfenicol y gentamicina a cada medio para inhibir el desarrollo bacteriano (100 mg/L de cada uno). Se incubó en agitación (120 rpm) a 25°C durante 5 días.

### AISLAMIENTO DE LAS ESPECIES FÚNGICAS

A partir de cada medio de enriquecimiento se realizaron diluciones seriadas (factor 10) y se sembraron en superficie sobre los medios de cultivo: agar CZD adicionado con diferentes concentraciones de GP (con o sin carbono, nitrógeno y fósforo, según corresponda) para probar si se utiliza el herbicida como fuente de carbono (10 mM) (CZDC), como fuente nitrogenada (1,5 mM) (CZDN) o como fuente de fósforo (1 mM) (CZDP). Se incluyeron ensayos controles en medio CZD sin pesticida. Las placas se incubaron a 25 °C durante 7 días. Se determinó la diversidad de hongos presentes en cada medio de cultivo y se subcultivaron las

cepas en agar extracto de malta (AEM) para estudios posteriores, expresando los resultados en unidades formadoras de colonias UFC/g de suelo.

#### IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS CEPAS AISLADAS

La identificación de las diferentes cepas aisladas se realizó mediante la evaluación de caracteres fenotípicos siguiendo los esquemas de identificación propuestos por Pitt y Hocking, (2009), Samson y col. (2010) y Watanabe (2010).

#### RESULTADOS

Los recuentos obtenidos oscilaron entre 5,54 a 8,71  $\log_{10}$  UFC/g. Los recuentos más elevados se observaron en muestras de suelos sin exposición a pesticidas: 8,71 condición control, 8,15 condición CZDN, 7,85 condición CZDP y 6,83  $\log_{10}$  UFC/g condición CZDC ( $P < 0,05$ ) (Figura 1).

En total, se aislaron 13 géneros fúngicos, se aislaron hongos de los géneros: *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. y *Penicillium* spp., *Trichoderma* spp., *Paecilomyces* spp., *Cladosporium* spp., *Verticillium* spp., *Exophiala* spp., *Alternaria* spp., *Phoma* spp., *Phialophora* spp., *Streptothrix* spp.

Los géneros más prevalentes fueron: *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. y *Penicillium* spp., tanto en suelos tratados con pesticidas como en suelos sin tratar ( $P < 0,05$ ). En cuanto a los recuentos de estos géneros, se observó que en las condiciones control, CZDP y CZDC el género que mayor recuento obtuvo fue *Aspergillus* spp. mientras que para la condición CZDN el género *Penicillium* spp. obtuvo mayor recuento. ( $P < 0,05$ ) (Figura 2).

También se aislaron hongos que no pudieron ser identificados mediante las técnicas utilizadas (NI: no identificados) por carecer de caracteres fenotípicos coincidentes con los esquemas de identificación consultados, con recuentos de 7,18; 6,77; 6,64; 6,59  $\log_{10}$  UFC/g para las condiciones control, CZDN, CZDP y CZDC respectivamente. Es importante destacar los recuentos obtenidos ya que estos hongos pueden estar implicados en la degradación del GP.

Sin embargo se observaron diferencias en cuanto a los recuentos y la composición de la microbiota de ambos suelos. El género *Cladosporium* spp. se aisló en el 100% de las muestras de los suelos sin tratar con un recuento medio de 7,72  $\log_{10}$  UFC/g, mientras que en los suelos tratados con pesticidas el recuento medio fue de 6  $\log_{10}$  UFC/g y sólo se aisló en 3 de un total de 13 muestras (23,07%). Los géneros *Alternaria* spp. y *Streptothrix* spp. sólo se encontraron en suelos sin exposición con recuentos medios de 6,87 y 6  $\log_{10}$  UFC/g respectivamente. Los géneros: *Trichoderma*, *Paecilomyces* y *Verticillium* spp. sólo se aislaron de suelos expuestos a pesticidas con recuentos medios de 6,38; 5,39 y 6,3  $\log_{10}$  UFC/g respectivamente.

## DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en este trabajo muestran que los géneros *Fusarium*, *Aspergillus*, *Mucor* y *Penicillium* están presentes y son prevalentes tanto en suelos agrícolas tratados con pesticidas como en suelos sin exposición a los mismos. Otros autores indicaron que los géneros *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. y *Trichoderma* spp fueron predominantes tanto en suelos sin tratamiento con herbicidas como en suelos tratados con herbicidas (Sailaja y Satyaprasad 2006). Otros autores observaron algunas diferencias en cuanto a los géneros fúngicos aislados de suelos agrícolas con manejo convencional con respecto a suelos con manejo ecológico (Carranza y col. 2015, Wuczkowski y col. 2003), estos autores observaron que sólo algunos de los géneros fúngicos aislados en el suelo agrícola sin exposición a pesticidas coincidieron con los aislados en el muestreo de suelo agrícola expuesto a pesticidas. Cabello y Arambarri (2002) evaluaron en la provincia de Buenos Aires, la microbiota cultivable de suelos de bosques sin intervención del hombre y con intervención. Estos autores observaron que los recuentos fúngicos en el suelo sin intervención ( $5,7 \log_{10}$  UFC/g) fueron significativamente mayores que los detectados en los suelos con intervención ( $5,3 \log_{10}$  UFC/g).

## CONCLUSIONES

Especies de los géneros *Fusarium* spp., *Aspergillus* spp., *Mucor* spp. y *Penicillium* spp. e incluso otras especies de géneros menos prevalentes estarían integrando un consorcio microbiano con capacidad para degradar el herbicida GP.

**Institución financiadora:** Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT)- Proyecto PICT- N°: 2014-0943). Secretaría de Ciencia y Técnica Universidad Nacional de Río Cuarto (SECYT- UNRC) (161/16).

## BIBLIOGRAFÍA

- Araújo A., Monteiro R. y Abarkeli R. (2003). Effect of glyphosate on microbial activity of two Brazilian soils. *Chemosphere*, 52:799-804.
- Cabello, M. y Arambarri, A. (2002). Diversity in soil fungi from undisturbed and disturbed *Celtis tala* and *Scutia buxifolia* forests in the eastern Buenos Aires province (Argentina). *Microbiological research*, 157(2):115-125.

- Carranza C., Barberis C. L., Chiacchiera, S.M., Dalcero, A.M. y Magnoli C.E. (2015). Isolation of culturable mycobiota from agricultural soils and determination of tolerance to glyphosate of ontogenic *Aspergillus* section *Flavi* strains. *Journal of Environmental Science and Health, Part B*. Vol. 0, N° 0, 1-9.
- CASAFE (2010) Mercado Argentino de Productos Fitosanitarios (2009). Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes, Buenos Aires.
- Castro J.V. jr, Peralba M.C.R. y Ayub M.A.Z. (2007). Biodegradation of the herbicide glyphosate by filamentous fungi in platform shaker and batch bioreactor. *Journal of Environmental Science and Health Part B*, 42:883-886.
- CONICET. (2009). Comisión Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Evaluación de la información vinculada al glifosato en su incidencia sobre la salud humana y el ambiente. Decreto 21/2009.
- Girvan M.S., Bullimore J., Ball A.S., Pretty J.N., y Osborn A.M. (2004). Responses of active bacterial and fungal communities in soils under winter wheat to different fertilizer and pesticide regimens. *Applied and Environmental Microbiology*, 70 (5):2692-2701.
- Krzysko-Lupicka T. y Orlik A. (1997). The use of glyphosate as the sole source of phosphorus or carbon for the selection of soil-borne fungal strains capable to degrade this herbicide. *Chemosphere*, 34:2601-2605.
- Krzysko-Lupicka T. y Sudol T. (2008). Interactions between glyphosate and autochthonous soil fungi surviving in aqueous solution of glyphosate. *Chemosphere* 71:1386-1391.
- Pitt J.I. y Hocking A.D. (2009). *Fungi and food spoilage*. CSIRO Division of Food Science and Technology Sydney Academic, Press. Australia. Tercera edición.
- Pórfido D.P. y Buteler E. (2014) Los plaguicidas en la República Argentina. En: Serie Temas de Salud Ambiental N° 14. Buenos Aires. Ministerio de Salud de la Nación 2013. Primera edición.
- Romero DM, Ríos de Molina MC y Juárez ÁB (2011). Oxidative stress induced by a commercial glyphosate formulation in a tolerant strain of *Chlorella kessleri*. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 74: 741-747.
- Sailaja K. K. y Satyaprasad. (2006). Degradation of glyphosate in soil and its effect on Fungal population. *Journal of Environ. Science & Engg.* Vol. 47, P. 326-335.



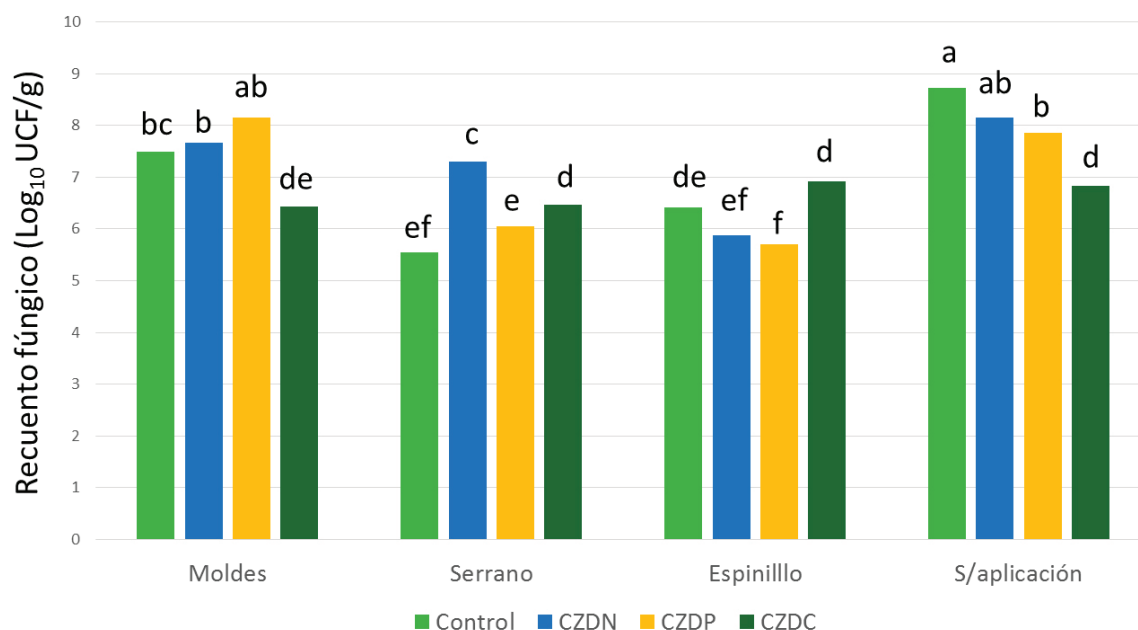
Samson R.A., Houbraken J., Thrane U., Frisvad J.C. y Andersen B. (2010). Food and indoor fungi. Utrecht, The Netherlands, Centraal buree au Voorschimmel cultures-Utrecht.

Singh S. y Singh K. Microbial degradation of herbicides. (2014). Critical reviews in microbiology. 1549-7828 (electronic). DOI: 10.3109/1040841X.2014.929564

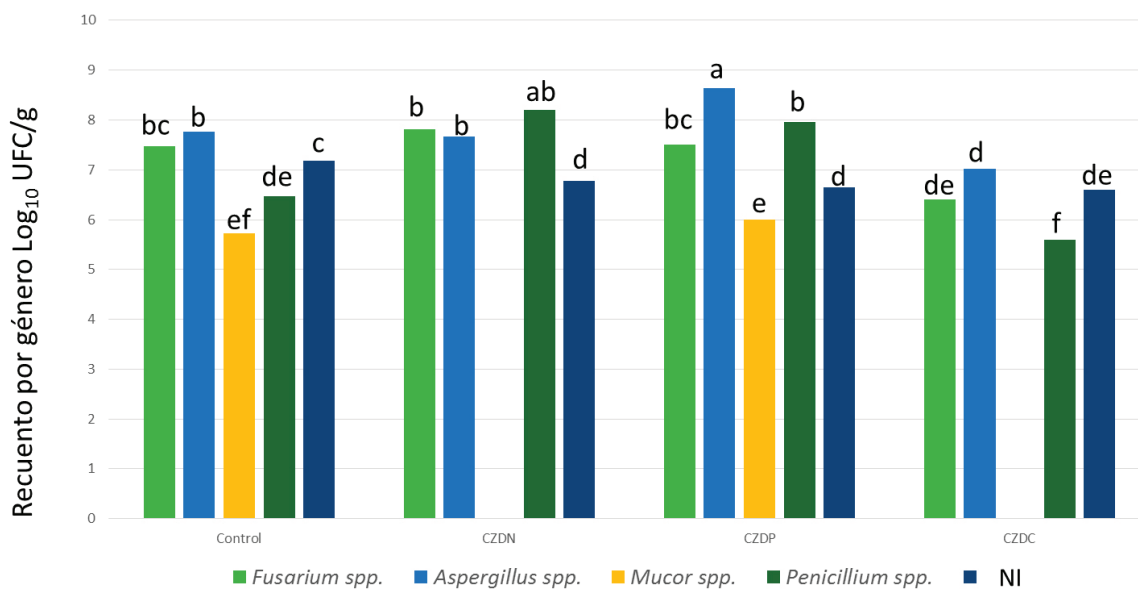
Watanabe T. (2010). Pictorial atlas of soil and seed fungi: morphologies of cultured fungi and key to species, third edition. CRC Press.

Wuczowski M., Druzhinina I., Gherbawy Y., Klug B., Prillinger H., Kubicek C.P. (2003). Species pattern and genetic diversity of Trichoderma in a mid-European, primeval floodplain-forest. Microbiol Res,158 (2):125-33.

**Figura 1.** Recuento total de géneros fúngicos en los medios control (CZD) y suplementados con GP como fuente nitrógeno (CZDN), de fosforo (CZDP) y de carbono (CZDC). a,f letras diferentes indican diferencias estadísticamente significantes según la prueba de Fisher (LSD), ( $P < 0,05$ ).



**Figura 2.** Recuentos de los géneros fúngicos prevalentes en los medios control (CZD) y suplementados con GP como fuente de nitrógeno (CZDN), fosforo (CZDP) y carbono (CZDC), en los suelos analizados. NI: no identificados con la metodología empleada. a,e letras diferentes indican diferencias estadísticamente significantes según la prueba de Fisher (LSD). ( $P < 0,05$ ).



## EVALUACIÓN IN SITU DE TOLERANCIA A GLIFOSATO DE LA MICBIOTA NATIVA AISLADA DE SUELOS DESTINADOS AL CULTIVO DE SOJA Y MAÍZ

*Carranza Cecilia (1), Regnicoli Juan (1), Aluffi Melisa (1), Benito Nicolás (1), Barberis Carla (1), Magnoli Carina (1).*

*1 Dpto. de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Fco.- Qcas. y Naturales, Universidad Nacional de Río cuarto, Ruta 36, Km 601, UNRC, Río Cuarto, Córdoba.*

### RESUMEN

En nuestra región, ciertos pesticidas, tales como glifosato, son de vital importancia durante el desarrollo del cultivo de soja, maíz y maní, incorporándose en forma continua en el medio ambiente del suelo. El metabolismo microbiano es el proceso más importante implicado en la degradación de pesticidas en el suelo. El objetivo fue evaluar la tolerancia a distintas concentraciones de glifosato de la micobiota nativa de suelos. El ensayo se realizó mediante el uso de microcosmos preparados con suelos con antecedentes de prolongada exposición a pesticidas, se dispusieron recipientes plásticos acondicionados a dos capacidades de campo (CC) (30 y 70%). Además, a cada microcosmos se le agregaron diferentes volúmenes de glifosato (10, 20 y 50 mM). A los 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 días se realizó el recuento y aislamiento de la micobiota y de cada género fúngico por el método de diseminación en superficie. Las placas se incubaron a 28°C durante 5 a 7 días. A 70 CC los recuentos fueron menores en los tratamientos con glifosato comparados al control. Por el contrario, a 30 CC los recuentos fueron mayores con el agregado de 10 y 50 mM de glifosato. Respecto al análisis de la micobiota nativa, los géneros fúngicos aislados con mayor frecuencia fueron *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. en ambas CC. En general, los recuentos del género *Trichoderma* spp. fueron mayores a 30 CC que a 70 CC; mientras que lo contrario se observó para el género *Aspergillus* spp. A 70 CC el recuento de *Trichoderma* spp. disminuyó a medida que la concentración de glifosato aumentó. Esto también fue observado para el género *Aspergillus* spp pero a 30 CC. La tolerancia que presentan algunas especies a altas concentraciones del herbicida, plantea la posibilidad que estas cepas fúngicas posean capacidad potencial de degradar glifosato.

**Palabras claves:** glifosato, micobiota nativa, suelos agrícolas.

## INTRODUCCIÓN

En nuestra región, ciertos pesticidas, tales como glifosato, son de vital importancia durante el desarrollo del cultivo de soja, maíz y maní, incorporándose en forma continua en el medio ambiente del suelo destinado al cultivo de estas oleaginosas. Por otra parte, debido al uso generalizado de pesticidas, éstos se detectan actualmente en diversas matrices ambientales como el suelo, agua y aire; y por ende existe una gran preocupación en la población acerca de sus riesgos toxicológicos potenciales sobre animales, humanos y el ambiente en general (Sannino y col; 1999, Antunes y col; 2010).

Las aplicaciones de plaguicidas en las grandes áreas de cultivos se hacen con dos o más productos, al mismo tiempo, con la finalidad de reducir el costo y el tiempo dedicado a esta actividad. Estas mezclas de insecticidas y herbicidas, a menudo, pueden causar efectos antagónicos, aditivos o sinérgicos (Pereyra y col. 2008, Benachour y col. 2008). Sin embargo, los estudios sobre los efectos de la aplicación de herbicidas e insecticidas y sus mezclas sobre los microorganismos del suelo están poco informados. Estudios han demostrado que la aplicación de glifosato produce una disminución sustancial en la abundancia de microorganismos presentes en el suelo (Weaver y col., 2007).

El sur de la Provincia de Córdoba, se encuentra circundado por grandes explotaciones de siembra directa de soja transgénica y maní; con el consecuente uso de pesticidas.

El metabolismo microbiano es probablemente el proceso más importante implicado en la degradación de pesticidas en el suelo y constituye la base de la biorremediación.

Las **hipótesis** planteadas en este trabajo son las siguientes: Las cepas que forman parte de la microbiota predominante en suelos destinados al cultivo de soja y maní; son tolerantes y potenciales biodegradadores bajo condiciones "*in situ*" del pesticida glifosato.

## OBJETIVOS

El objetivo de este trabajo fue evaluar la tolerancia a distintas concentraciones de glifosato de la microbiota nativa de suelos agrícolas en un ensayo en microcosmos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### PREPARACIÓN Y ACONDICIONAMIENTO DE LOS MICROCOSMOS

El ensayo se realizó mediante el uso de microcosmos preparados con suelos con antecedentes de una prolongada exposición a diferentes pesticidas

y destinados al cultivo extensivo de soja y maíz. Se dispusieron recipientes plásticos con 1 kg de suelo acondicionado a dos capacidades de campo (CC) (30 y 70%).

Además, a cada microcosmos acondicionado a su correspondiente CC se le agregaron diferentes volúmenes de la solución de glifosato (1 M) para llegar a las concentraciones finales de glifosato de 10, 20 y 50 mM. A los microcosmos controles se les agregó igual volumen de agua que el de la solución de pesticida correspondiente. Se homogeneizó cuidadosamente el contenido de cada recipiente para permitir una distribución equitativa del pesticida en el suelo. Cada tratamiento se realizó por triplicado.

#### AISLAMIENTO, RECUENTO E IDENTIFICACIÓN DE LA MICROBIOTA DE LOS MICROCOSMOS

A los 0, 10, 20, 30, 40, 50 y 60 días de incubación se realizó el aislamiento de la microbiota de cada microcosmos por el método de diseminación en superficie. Se tomaron 10 g de cada muestra de suelo y se homogeneizaron en un agitador con 90 mL de agua peptonada al 0,1% por 30 minutos. Se realizaron diluciones seriadas factor 10 de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$ , luego se tomaron alícuotas de 0,1 mL de cada dilución y se sembraron por duplicado sobre el medio diclorán rosa de bengala cloranfenicol (DRBC). Las placas se incubaron a 28°C durante 5 a 7 días. Al final del período de incubación, se seleccionaron las placas que contenían entre 10 y 100 colonias y se realizó el recuento de la microbiota general y de cada género fúngico. Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC/g). El recuento fúngico total, de cada género se expresó en  $\text{Log}_{10}$  UFC/g. Se evaluó la evolución en el tiempo de la microbiota nativa.

#### RESULTADOS

Al analizar el recuento fúngico total se observó que los mismos variaron de acuerdo a la condición de CC analizada. A 70 CC los recuentos fueron menores en los tratamientos con glifosato comparados al respectivo control (**figura 1A**). Esta disminución en el recuento fue más significativa con el agregado de 20 mM de pesticida ( $p < 0,0001$ ). Por el contrario, a 30 CC los recuentos fueron mayores con el agregado de 10 y 50 mM de glifosato. Mientras que con 20 mM de pesticida, el recuento observado fue menor con respecto al tratamiento control. En cuanto al recuento en los distintos períodos muestreados (**figura 1B**), se pudo observar que dentro de una misma CC y dosis de glifosato evaluada, los recuentos variaron de acuerdo al período analizado. En general a 70 CC, el recuento disminuyó significativamente a medida que aumentó la concentración de pesticida a los 10, 30, 40, 50 y 60 días ( $p < 0,0001$ ). A los 20 y 40 días los mayores recuentos se observaron a 10 y 50 mM ( $5,1 \text{ Log}_{10}$  UFC/g) y a 50 mM ( $4,3 \text{ Log}_{10}$  UFC/g), respectivamente. A 30 CC, este comportamiento también fue registrado

a los 10, 40 y 60 días donde los mayores recuentos fueron observados con 10 y 50 mM. Mientras que a los 30 y 50 días los valores más altos de recuento se observaron con 20 y 50 mM de glifosato.

Respecto al análisis de la microbiota nativa de los microcosmos al inicio del experimento (día 1), los géneros fúngicos aislados con mayor frecuencia fueron *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp. y *Penicillium* spp. tanto a 70 como a 30 CC. En general, los recuentos del género *Trichoderma* spp. fueron mayores a 30 CC que a 70 CC; mientras que lo contrario se observó para el género *Aspergillus* spp. Las cepas de *Aspergillus* identificadas no correspondieron a la sección *Flavi*. A 70 CC se observó que el recuento de *Trichoderma* spp. disminuyó significativamente a medida que la concentración de glifosato de los microcosmos aumentó. Esto también fue observado para el género *Aspergillus* spp pero a 30 CC. Los mayores recuentos de *Trichoderma* spp. a 30 CC se observaron con el agregado de 10 y 20 mM. Mientras que los mayores recuentos de *Aspergillus* spp. a 70 CC fueron observados en el tratamiento control y con el agregado de 50 mM de glifosato. En general, *Penicillium* spp. tuvo recuentos similares tanto a 70 como a 30 CC. A 70 CC, los valores más altos de recuento se registraron con 20 mM de pesticida. Mientras que a 30 CC, los recuentos de este género disminuyeron a medida que se incrementó la concentración de pesticida en los microcosmos (dato no mostrado).

Al analizar los recuentos de los géneros fúngicos prevalentes a lo largo del tiempo, se encontró que en general, el recuento del género *Trichoderma* spp. varió de acuerdo al período muestreado (**figura 2**). En general, a 70 CC, las especies de este género se aislaron en los tratamientos control en los distintos períodos de muestreo. Sólo en algunos períodos se logró aislar a este género en los tratamientos con glifosato. A los 30, 50 y 60 días se aisló *Trichoderma* spp. de los microcosmos adicionados con 10 mM de glifosato; mientras que a los 20 días se logró aislar especies de este género sólo con 20 mM de pesticida. A 30 CC, en los primeros 40 días en general se aisló este género tanto en el control como en los distintos tratamientos con glifosato, siendo los recuentos en los tratamientos en algunos casos significativamente mayores que el recuento observado en el respectivo control ( $p < 0,0001$ ). A los 50 y 60 días de incubación, se observó que este género se aisló en los microcosmos adicionados con 10 y 20 mM de glifosato.

En cuanto a *Aspergillus* spp., se aislaron especies de este género tanto en los tratamientos control como en los tratamientos con glifosato a ambas CC. Los valores de recuento en los tratamientos control a lo largo del período de incubación variaron entre 3 y 4,7  $\text{Log}_{10}$  UFC/g. Con respecto a los microcosmos adicionados con el pesticida, el recuento de este género fúngico varió de acuerdo al período y condición de CC analizado. A 70 CC, los valores de recuento de *Aspergillus* spp. observados disminuyeron significativamente a medida que

aumentó la concentración de glifosato sólo a los 10 y 60 días de incubación ( $p < 0,0001$ ). Mientras que, en general, en los demás períodos muestreados los recuentos de este género en los microcosmos adicionados con 50 mM de glifosato fueron mayores o iguales al observado en el respectivo control. A los 20 y 50 días, también se registró un aumento significativo en el recuento de las especies pertenecientes al género *Aspergillus* spp. con el agregado de 20 mM de pesticida. En cuanto a la condición de 30 CC, los recuentos también disminuyeron significativamente a medida que aumentó la concentración de glifosato pero a los 20 y 50 días de incubación. A los 10 y 60 días los recuentos más elevados se observaron con 10 mM de pesticida, mientras que a los 30 y 40 días, en general los mayores valores se registraron con 50 mM de glifosato (**figura 3**).

La **figura 4** muestra el recuento del género *Penicillium* spp. a lo largo del período de incubación. Los recuentos de este género mostraron, en general, un comportamiento más uniforme con respecto a los recuentos de los géneros *Trichoderma* spp. y *Aspergillus* spp. A 70 CC se observó que los valores de recuento de las especies del género *Penicillium* spp. disminuyeron significativamente a medida que se incrementó la concentración de glifosato ( $p < 0,0001$ ). Por el contrario a 30 CC, en general los recuentos más altos se registraron en los tratamientos con el pesticida. A los 10, 20 y 50 días los valores más elevados se observaron en el tratamiento con 10 mM de glifosato; mientras que a los 30 y 60 días el mayor recuento se registró en los tratamientos con 50 y 20 mM respectivamente.

Otro género fúngico aislado con frecuencia, aunque menor a los anteriormente descritos, fue *Mucor* spp. En términos generales, los recuentos observados a 30 CC fueron mayores a los registrados a 70 CC, con excepción de los valores obtenidos a los 20 días de incubación. En los tratamientos con concentraciones elevadas de glifosato (50 mM), en la mayoría de los períodos muestreados, fue en donde se observaron los valores más altos de recuento (3 a 4,7 Log<sub>10</sub> UFC/g) comparados con el resto de los tratamientos (3 a 4,3 Log<sub>10</sub> UFC/g). A 70 CC y a los 10 y 30 días de incubación, los recuentos más altos de las especies de *Mucor* spp. aisladas se observaron con 20 y 50 mM de glifosato. Mientras que a los 20 y 40 días, los mayores recuentos se registraron con 10 y 50 mM de pesticida. En los últimos días de incubación (50 y 60 días), este género prácticamente no fue detectado. En cuanto a lo observado a 30 CC, las especies del género *Mucor* spp. se aislaron en todos los períodos muestreados y su comportamiento en los tratamientos ensayados resultó muy variable. Con excepción del día 20 de incubación, en general el recuento resultó significativamente mayor con 50 mM de glifosato con respecto al control y a los demás tratamientos con pesticida ( $p < 0,0001$ ) (**figura 5**).

## CONCLUSIÓN

El comportamiento de la micobiota nativa en presencia de diferentes dosis de glifosato, varió según el género fúngico, pero la tolerancia que presentan algunas de estas especies a altas concentraciones del herbicida en el suelo, plantea la posibilidad que estas cepas fúngicas posean capacidad potencial de degradar el herbicida.

## FONDOS

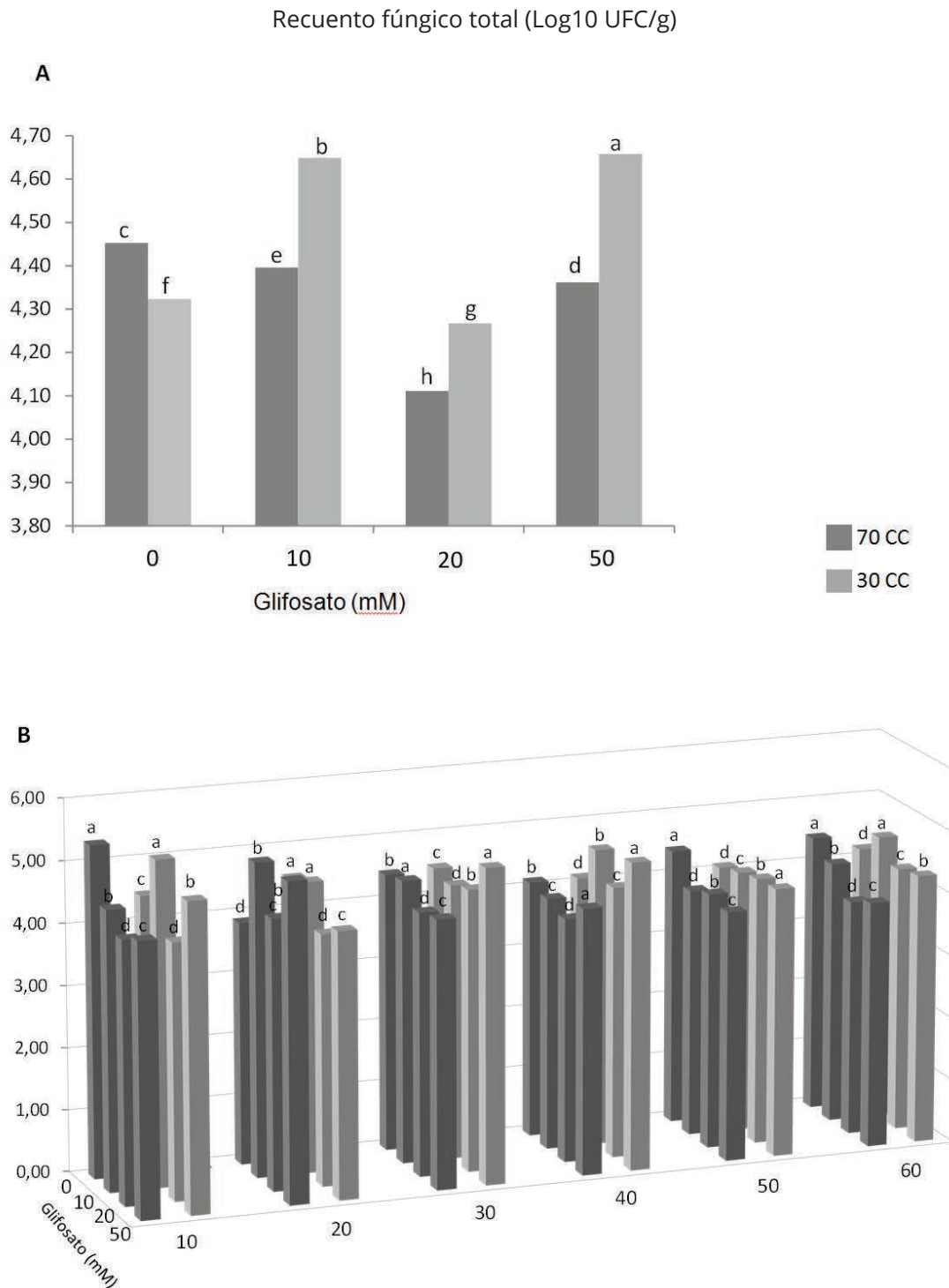
- Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT)-PICT - 0943/14.
- Secretaría de Ciencia y Técnica Universidad Nacional de Río Cuarto (SECyT-UNRC), PPI/Resolución N°161/16.

## BIBLIOGRAFÍA

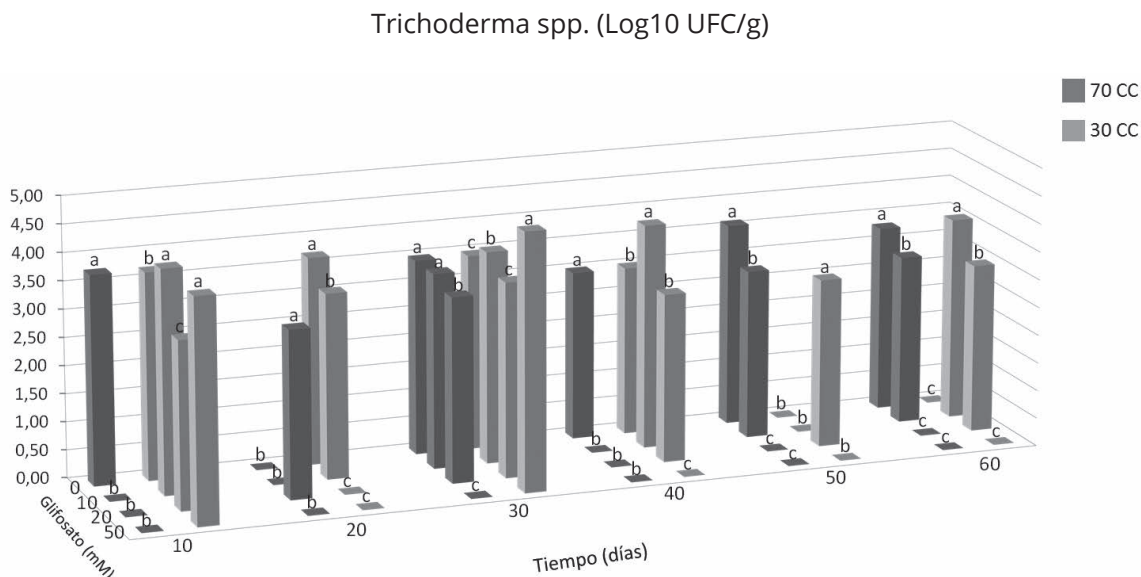
- Antunes S, Pereira J, Cachada A, Duarte A, Gonçalves F, Sousa J, Pereira R. Structural effects of the bioavailable fraction of pesticides in soil: Suitability of elutriate testing. *Journal of Hazardous Materials* (2010) 184: 215–225.
- Benachour, N., Gilles-Eric Séralini. Glyphosate Formulations Induce Apoptosis and Necrosis in Human Umbilical, Embryonic, and Placental Cells. *Chem. Res. Toxicol.* (2008), 22: 97.
- Pereira J.L., Picanço, M.C., Silva, A.A., Santos, E.A., Tomé, H.V.V., Olarte, J.B. Effects of glyphosate and endosulfan on soil microorganisms in soybean crop. *Planta Daninha* (2008), 26. 825-830.
- Sannino F., Filazzola M., Violante A. and Gianfreda L; Fate of herbicides influenced by biotic and abiotic interactions. *Chemosphere* (1999), 39 (2): 333-341.
- Weaver, M.A.. Effects of glyphosate on soil microbial communities and its mineralization in a Mississippi soil. *Pest Manag. Sci.*, (2007), 63(4): 388-393.



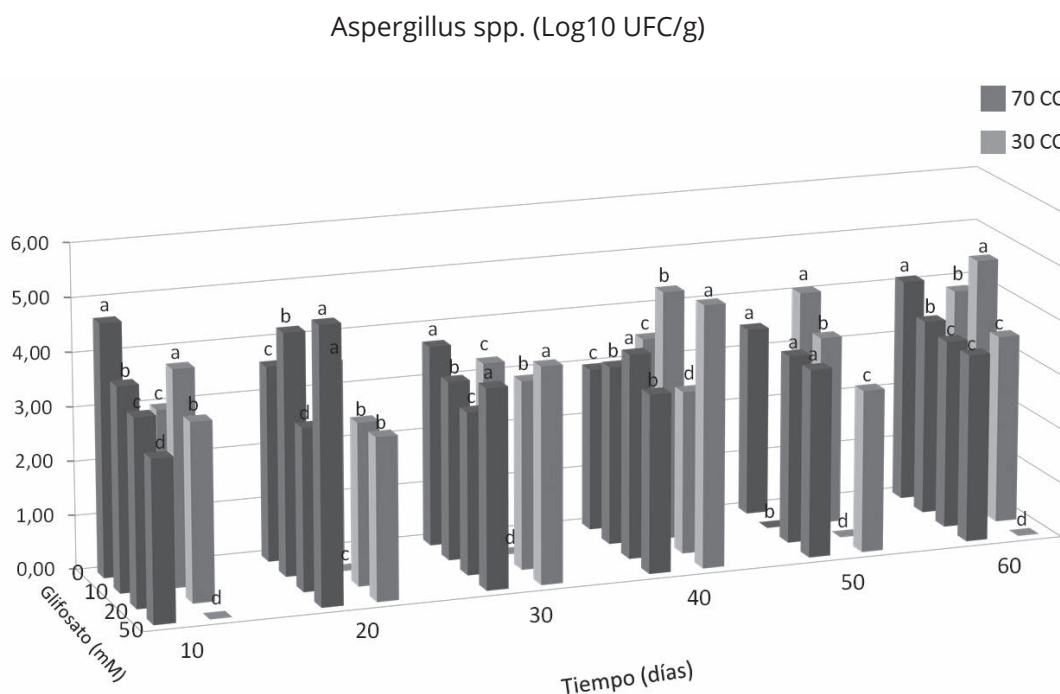
**Figura 1.** Recuento fúngico total (Log10 UFC/g) de microcosmos acondicionados a 70 y 30 CC en los ensayos control y con la adición de diferentes concentraciones de glifosato (10, 20 y 50 mM). El análisis estadístico se realizó comparando los datos de los controles con el correspondiente tratamiento, considerando los valores medios para cada tratamiento (A) y los valores en cada período de muestreo para cada tratamiento (B). Los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ) de acuerdo al test LSD. (E.E  $\pm 0,05$ ).



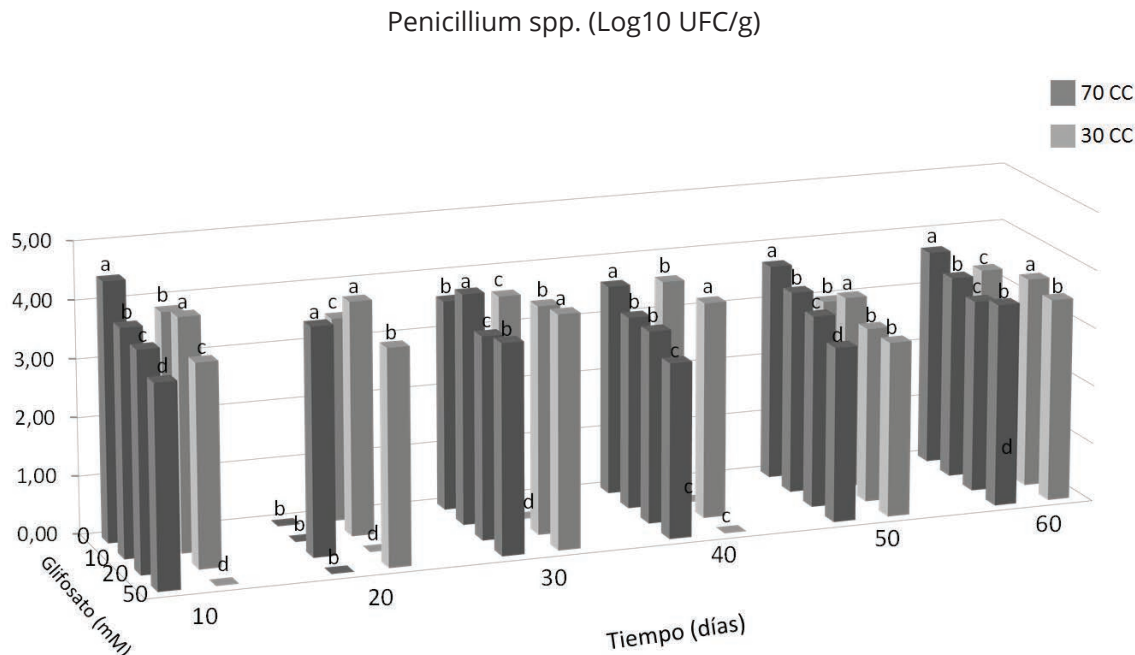
**Figura 2.** Recuento (Log10 UFC/g) de *Trichoderma* spp. aislados de microcosmos acondicionados a 70 y 30 CC y con la adición de diferentes concentraciones de glifosato (10, 20 y 50 mM). El análisis estadístico se realizó comparando los datos de los controles con el correspondiente tratamiento. Los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ) de acuerdo al test LSD ( $E.E \pm 0,25$ ).



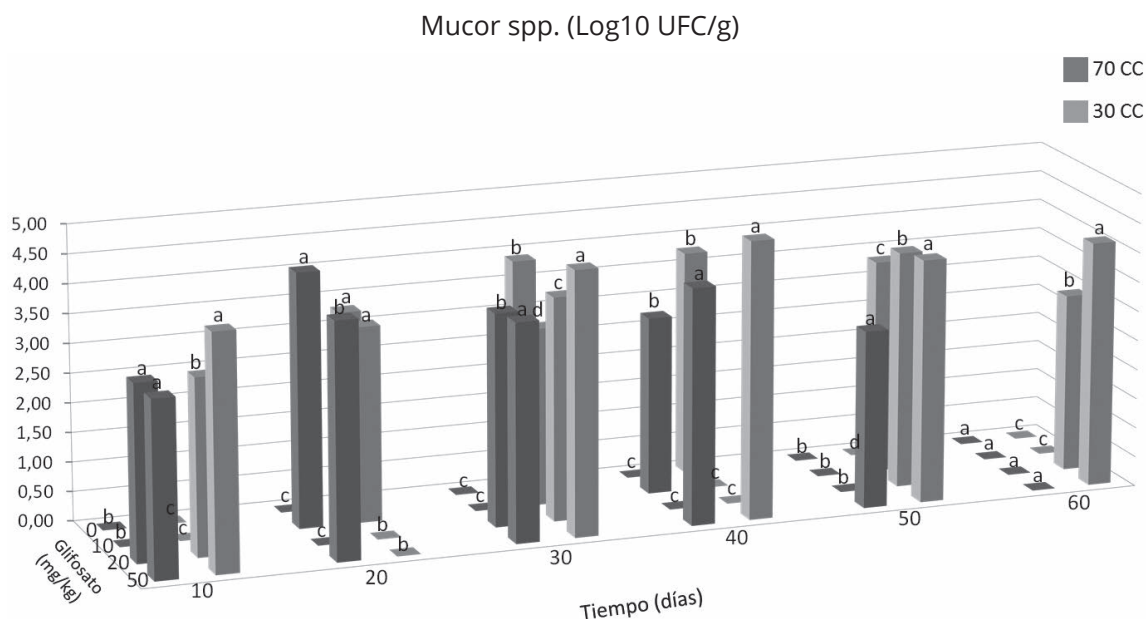
**Figura 3:** Recuento (Log10 UFC/g) de *Aspergillus* spp. aislados de microcosmos acondicionados a 70 y 30 CC con la adición de diferentes concentraciones de glifosato (10, 20 y 50 mM). El análisis estadístico se realizó comparando los datos de los controles con el correspondiente tratamiento. Los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ) de acuerdo al test LSD ( $E.E \pm 0,19$ ).



**Figura 4.** Recuento (Log10 UFC/g) de *Penicillium* spp. aislados de microcosmos acondicionados a 70 y 30 CC con la adición de diferentes concentraciones de glifosato (10, 20 y 50 mM). El análisis estadístico se realizó comparando los datos de los controles con el correspondiente tratamiento. Los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ) de acuerdo al test LSD ( $E.E \pm 0,20$ ).



**Figura 5:** Recuento (Log10 UFC/g) de *Mucor* spp. aislados de microcosmos acondicionados a 70 y 30 CC con la adición de diferentes concentraciones de glifosato (10, 20 y 50 mM). El análisis estadístico se realizó comparando los datos de los controles con el correspondiente tratamiento. Los valores con letras distintas son significativamente diferentes ( $p < 0,0001$ ) de acuerdo al test LSD ( $E.E \pm 0,27$ ).



## IMPACTO DE DIFERENTES SISTEMAS DE LABRANZA, ROTACIONES AGRÍCOLAS Y ENFOQUES PRODUCTIVOS SOBRE LOS COLEOPTEROS CARABIDOS

Carrasco, Natalia (1) y Armando Cicchino (2)

1 Estación Experimental Agropecuaria Integrada de Barrow (INTA-MAA).

2 INBIOTECH, CONICET, Laboratorio de Artrópodos, GENEBSO, FCEyN, UNMdP.

carrasco.natalia@inta.gob.ar

### RESUMEN

Las intervenciones sobre el paisaje y el suelo tienen efectos sobre la densidad, diversidad y actividad poblacional la fauna edáfica. El objeto del presente estudio fue evaluar los efectos de diferentes sistemas de labranza, diferentes rotaciones agrícolas y diferentes enfoques productivos sobre la comunidad de la artropodofauna edáfica epígea y especialmente sobre la carabidofauna en el centrosur bonaerense. Se muestreó con trampas Pitfall en tres sitios: a) ensayo de cinco rotaciones en siembra directa, b) dos módulos con diferentes enfoques productivos: uno agroecológico y el otro con el enfoque de producción predominante, caracterizado por la baja biodiversidad y un uso intensivo de agroquímicos y fertilizantes. c) ensayo de comparación de labranza convencional y directa. Se registró una abundancia total de 4155 individuos para todos los sitios y fechas. En el ensayo de rotaciones en siembra directa, se pudo detectar que la rotación agrícola con cultivos de invierno que la que presentó la comunidad menos equilibrada en base a los indicadores ecológicos, principalmente debido a una alta presencia de colémbolos en términos de abundancia relativa. Los carábidos *Pachymorphus striatulus* y *Loxandrus simplex* se encontraron en casi todas las rotaciones, mientras que *Argutoridius oblitus* solo apareció en la rotación agrícola intensa. En el ensayo de labranzas, en cambio, las comunidades de artrópodos fueron muy similares en sus indicadores ecológicos si bien los coleópteros capturados no fueron tan coincidentes en ambas labranzas. Finalmente, en los módulos comparativos de enfoques productivos se observó una evolución diferencial de la comunidad de coleópteros, mientras que en el enfoque predominante se mantiene casi invariable, presentándose en todos los muestreos casi siempre los mismos taxones; en el módulo agroecológico se registró una tendencia hacia una mayor abundancia y riqueza de taxones de coleópteros a través del tiempo, acompañando el incremento en la biodiversidad del lote en el que se encuentran.

**Palabras clave:** Coleoptera, manejo agronómico

## **INTRODUCCIÓN**

Las intervenciones sobre el paisaje y el suelo tienen efectos sobre la densidad, diversidad y actividad poblacional la fauna edáfica. A su vez, cada organismo responde de manera diferente, mientras algunos son favorecidos por estos cambios, otros no tienen respuesta, o se ven perjudicados (Kladivko, 2001).

Dentro de la artropodofauna epígea se encuentran los Carábidos (Insecta: Coleoptera), una de las familias de insectos más numerosas. Su distribución en los hábitats puede ser influenciada la temperatura, humedad, disponibilidad de alimentos, estructura de la cobertura vegetal. Cumplen diferentes roles funcionales como depredadores de otros insectos (Carmona & Landis, 1999), fitófagos, consumiendo semillas de malezas y cultivos (Roig-Juñent & Lagos, 2004). Asimismo, algunas especies pueden ser utilizadas como indicadoras del impacto ambiental de pesticidas (Çilgi et al., 1996) ó pueden utilizarse como indicadores biológicos (Ribera & Foster, 1997).

Se han realizado estudios del impacto de diferentes sistemas de labranzas (Marasas et al, 1997), diferentes manejos (Carmona et al, 2002) y la caracterización de cultivos experimentales de trigo (Cicchino et al., 2005), sobre agroecosistemas bonaerenses, pero aún son escasos los estudios para el centro sur de la Provincia de Buenos Aires.

Consecuentemente con todo lo anteriormente expuesto, se propone como objetivo del presente estudio evaluar los efectos de diferentes sistemas de labranza, diferentes rotaciones agrícolas y diferentes enfoques productivos sobre la carabidofauna, en el centro sur de la provincia de Buenos Aires.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **ÁREA DE ESTUDIO**

El área de estudio fue el establecimiento de la Estación Experimental Agropecuaria Integrada de Barrow (INTA-MAIBA) (38°22´ S 60°16´ O), ubicada en una zona templada sub-húmeda. La precipitación media anual es de 840 mm. El parque de ocho hectáreas que integra el casco fue forestado desde 1929, con cortinas de Eucaliptos y 42 especies forestales, de las cuales 36 son latifoliadas y 8 coníferas.

Los sitios donde se llevaron a cabo los muestreos pertenecen a diferentes ensayos y lotes ubicados a diferentes distancias del casco, y se describen a continuación:

## ENSAYO DE ROTACIONES EN SIEMBRA DIRECTA

El ensayo se encuentra implantado desde 1998 con el objetivo de evaluar el efecto de distintas secuencias de cultivos sobre la producción y calidad de los mismos, dinámica de la población de malezas, enfermedades, plagas y sobre las propiedades del suelo en siembra directa continua. Se diagramaron cinco secuencias, tres agrícolas : 1.- Sistema Agrícola conservacionista, 3.- Agrícola de invierno y 5.- Agrícola intenso. Las otras dos secuencias son mixtas con pastoreo: 2.- rotación con pasturas y 4.- rotación con verdeos. Se empleó un diseño en bloques aleatorizado, con tres repeticiones, donde las parcelas poseen 450m<sup>2</sup>.

## MÓDULOS CON DIFERENTES ENFOQUES PRODUCTIVOS

En el año 2010, dentro de un lote de producción de la EEAI Barrow se establecieron, dos módulos comparativos, con el fin de investigar los efectos de aplicar dos enfoques productivos. El módulo Agroecología inició una transición hacia un manejo agroecológico con una rotación de cultivos extensivos para un sistema mixto, buscando favorecer la biodiversidad, a través de la rotación de cultivos, la consociación de gramíneas con leguminosas, mezcla de variedades, la presencia de agricultura y ganadería. Asimismo, mejorar la materia orgánica y la biología del suelo; mantener balanceados los nutrientes; manejar en forma integrada las plagas, malezas y enfermedades; disminuir el uso de agroquímicos entre otras.

El otro módulo (Actual) cuenta con el enfoque de producción predominante de toda el área pampeana, caracterizado por la baja biodiversidad y un uso intensivo de agroquímicos y fertilizantes. Cabe aclarar que este módulo es mixto, al igual que el Agroecología, por lo que no es tan intensivo con respecto a uso de insumos como los sistemas puramente agrícolas.

## ENSAYO DE LABRANZAS

En 1997 se inició un ensayo de comparación de labranzas: siembra directa (SD) en comparación con labranza convencional (LC). Se planteó una rotación agrícola que buscara una mínima disminución de la materia orgánica, con ciclos de 5 años, para ser realizada bajo ambas labranzas. El objetivo del mismo fue evaluar el efecto de estos dos sistemas de labranza sobre los parámetros físicos, químicos y biológicos del suelo, así como en la productividad.

### - METODOLOGÍA DEL MUESTREO

Con el fin de capturar coleópteros carábidos, se realizaron muestreos por medio del uso de trampas de caída o Pitfall entre mayo de 2013 y noviembre de 2015.

Cada muestra consistió en un recipiente con capacidad de 1000 ml, en el que se colocaron 200 ml de una solución de formol al 5 %, con unas gotas

de detergente, para actuar como surfactante, disminuyendo la tensión superficial del agua, lo que provoca que la fauna epigea se hunda. Este dispositivo se colocó enterrado en el suelo, quedando la boca del recipiente al ras de la superficie. Las trampas se dejaron 7 días en campo.

En el ensayo de rotaciones en SD, se realizó un muestreo en el mes de mayo de 2016. Se tomaron dos muestras por tratamiento, ubicadas en parcelas separadas.

En los módulos con diferente enfoque productivo, se realizaron recolecciones en 05/2013 (dos recolecciones), 10/2013, 11/2014, 09/2015 y en 11/2015. En el módulo Agroe se tomaron 4, 4, 4, 3, 3 y 4 repeticiones respectivamente para las fechas mencionadas, en dos transectas paralelas cuando eran 4 y en una transecta diagonal cuando eran 3. En el módulo Actual, se tomaron 3, 3, 2, 3, 6 y 3 repeticiones siempre en diagonal, siendo dos paralelas en el muestreo con 6 repeticiones.

En el ensayo de labranzas, se realizó un muestreo en 04/2017, con 3 repeticiones cada uno.

En laboratorio se procedió a la identificación y clasificación hasta nivel de orden, familia, género o especie, según las posibilidades. Los coleópteros fueron determinados hasta nivel de género o especie por el Dr. Armando C. Cicchino.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### SITIO ENSAYO DE ROTACIONES EN SIEMBRA DIRECTA

Se registró una abundancia total de 42 individuos pertenecientes a los coleópteros carábidos.

En la rotación 1 (Agrícola conservacionista), se recolectaron 3 individuos del género *Epithrix* (Chrysomelidae), 1 *Pachymorphus striatulus* (Carabidae), 1 *Loxandrus simplex* y 2 estafilínidos (Staphilinidae). En la rotación 2 (con pasturas) se recolectaron 6 individuos del género *Epithrix* (Chrysomelidae), 1 *Pachymorphus striatulus* (Carabidae), 1 *Loxandrus simplex*, 1 estafilínido (Staphilinidae) y 1 individuo del género *Epicauta* (Meolidae). En la rotación 3 (agrícola de invierno) se recolectaron 2 individuos del género *Epithrix* (Chrysomelidae), 1 *Pachymorphus striatulus* (Carabidae), 1 *Loxandrus simplex* y 1 Coccinelidae. En la rotación 4 (con verdeos) se recolectaron 9 individuos del género *Epithrix* (Chrysomelidae), 4 *Pachymorphus striatulus* (Carabidae), 2 *Loxandrus simplex* y 1 Coccinelidae. En la rotación 5 (Agrícola intenso) se registraron 2 *Epithrix* (Chrysomelidae), 1 *Pachymorphus striatulus* (Carabidae), y 1 *Argutoridius bonariensis* (Carabidae).

## SITIO MÓDULO AGROECOLÓGICO Y DOMINANTE

- 9-15/05/2013. Fueron colectados 15 coleópteros, 10 en Agroec, perteneciendo al género *Epithrix* (Carabidae) excepto por un gorgojo (Curculionidae) (Tabla 2). En Domin se colectaron 2 estafilínidos (Staphilinidae) y 3 *Epithrix* (Chrysomelidae).

- 16-22/05/2013. Sólo un coleóptero fue colectado en Agroec, *Pachymorphus striatulus* (Carabidae) (Tabla 2). En Domin se hallaron 15 individuos del género *Epithrix* (Chrysomelidae), 1 *Pachymorphus striatulus* (Carabidae), un coccinélido (Coccinellidae) y 1 coleóptero (Coleoptera).

- Octubre 2013. Sólo un coleóptero fue colectado en Domin, perteneciente a la familia Carabidae (Tabla 2). En Agroec cayeron 38 coleópteros. La más numerosa fue la especie *Scarites anthracinus* (Carabidae), con 19 ejemplares. Se hallaron 4 *Scotobius muricatus* (Tenebrionidae) y 4 del género *Epithrix* (Chrysomelidae), 2 *Loxandrus simplex* (Carabidae), 2 *Notiobia cupripennis* (Carabidae), 2 individuos de la familia Scarabaeidae, 1 *Argutoridius oblitus* (Carabidae), 1 individuo del género *Bothynus*, 2 coccinélidos (Coccinellidae) y un estafilínido (Staphilinidae).

- Noviembre 2014. El coleóptero más abundante fue *Scarites anthracinus* (Carabidae), con 20 individuos en Domin y 10 en Agroec (Tabla 2). En ambos módulos también se hallaron individuos de *Elateridae sp.* (Dascilloidea), coccinélidos (Coccinellidae), Scarabaeidae, y estafilínidos (Staphilinidae). Solo en Domin cayeron *Argutoridius oblitus* (Carabidae), *Loxandrus simplex* (Carabidae) e individuos del género *Epithrix* (Chrysomelidae). En cambio en Agroec exclusivamente se hallaron *Scotobius muricatus* (Tenebrionidae) y *Selenophorus punctulatus* (Carabidae). Finalmente hay 18 individuos clasificados solo hasta orden Coleoptera en Agroec, y 2 en Domin.

- Septiembre 2015. Se hallaron 13 coleópteros, 5 se colectaron en Domin, correspondiendo a 1 Coccinellidae y 4 Carabidae de 2 mm (Tabla 2). En Agroec, 5 pertenecían al género *Epithrix* (Chrysomelidae), 2 Staphilinidae y un Carabidae de 2 mm.

- Noviembre 2015. Se colectaron 47 coleópteros en total, 16 en Domin y 31 en Agroec. En ambos cayeron individuos del género *Epithrix* (Chrysomelidae), *Scarites anthracinus* (Carabidae) y (Staphilinidae) (Tabla 2). Sólo en Domin se colectaron *Argutoridius oblitus* (Carabidae), *Pachymorphus striatulus* (Carabidae) y un saltaperico (Elateridae). En Agroec se colectó *Selenophorus anceps*, individuos del género *Bothynus* (Scarabaeidae) e individuos de las familias Meloidae, Scarabaeidae, Staphilinidae y Tenebrionidae.

## SITIO ENSAYO DE LABRANZAS

Se registró una abundancia total de 77 individuos pertenecientes a los coleópteros carábidos, de los cuales, 26 individuos fueron recolectados en el tratamiento bajo labranza convencional y 51 bajo siembra directa.



Asimismo, en LC se hallaron 20 individuos de *Pachymorphus striatulus* (Carabidae), 1 Staphilinidae, 1 gorgojo (Curculioidea), 1 *Anisostichus octopunctatus*, 1 *Heterogomphus laticollis*, 1 individuo del género *Epithrix* (Chrysomelidae) y 1 individuo de la familia Meloidae. En cambio en SD se detectaron 2 *Metius carnifex* (Carabidae), 1 *Loxandrus simplex* (Carabidae), 42 *Pachymorphus striatulus* (Carabidae), 5 Staphilinidae y 1 gorgojo (Curculioidea).

## CONCLUSIONES

En el ensayo de rotaciones en siembra directa, la rotación con verdeos pastoreados (4) es la que presentó mayor abundancia de coleópteros, perteneciendo más del 50% a los *Epithrix*, y un 25% a *Pachymorphus striatulus*. Asimismo la otra rotación mixta (rotación 2, con pasturas) fue la segunda con mayor abundancia de coleópteros, destacándose la presencia de *Epithrix*. Se puede concluir entonces que las rotaciones mixtas favorecieron a los coleópteros, en mayor medida que las rotaciones agrícolas puras, con diferentes intensidades en sus rotaciones.

En el ensayo comparativo de labranzas, la especie dominante fue *Pachymorphus striatulus* tanto en SD como en LC, aunque en SD la abundancia fue del doble de LC.

Finalmente en el módulo Agroecología en comparación con el Dominio, se observa una evolución diferencial a través del tiempo de la comunidad de coleópteros, mientras que en Dominio se mantiene casi invariable, presentándose en todos los muestreos casi siempre los mismos taxones. En cambio en Agroecología se registró una tendencia hacia una mayor abundancia y riqueza de taxones de coleópteros a través del tiempo, acompañando el incremento en la biodiversidad del lote en el que se encuentran.

**Institución financiadora:** INTA

## BIBLIOGRAFÍA

- Cicchino A. 2004. Carabidocenosis del talar de Nahuel Rucá, Partido de Mar Chiquita, Buenos Aires. En: Jornadas por la Conservación de los Talares Bonaerenses. Buenos Aires, Argentina.
- Çilgi, T.; Wratten, S.D.; Robertson, J.L.; Turner, D.E.; Holland, J.M.; Frampton, G.K. 1996. Residual toxicities of three insecticides to four species (Coleoptera: Carabidae) of arthropod predator. *The Canadian Entomologist* 128: 1115-1124.

- Carmona D y D.A. Landis. 1999. Influence of refuge habitats and cover crops on seasonal activity-density of ground beetles (Coleoptera: Carabidae) in field crops. *Environ. Entomol.*, 28 (1999), pp. 1145-1153
- Carmona, D; Am Vincini; Pl Manetti; An López & Ha Castillo. 2002. Densidad activa estacional de insectos plaga y predadores edáficos en agroecosistemas con siembra directa y agricultura convencional. Pp. 245 en: Resúmenes V Congreso Argentino de Entomología. Buenos Aires, Argentina.
- Roig Juñent, S y Lagos, S. 2004. Catálogo de insectos fitófagos de la Argentina y sus plantas asociadas. pp. 15 - 16
- Kladivko, E.J. 2001. Tillage systems and soil ecology. *Soil Till. Res.* 61 (1): 61-76.
- Lavelle, P.; Bignell, D.; Lepage, M.; Wolters, V.; Roger, P.; Ineson, P.; Heal, O.W.; Dhillion, S. 1997. Soil function in a changing World: the role of invertebrate ecosystem engineers. *Eur. J. Soil Biol.* 33:159-193.
- MARASAS, M. E., S. J. SARANDÓN & A. C. CICCHINO. 1997. Efecto de la labranza convencional y siembra directa sobre la coleopterofauna edáfica en un cultivo de trigo, en la Pcia. de Bs.As. *Ciencia del Suelo* 15(2): 59-63.
- RIBERA, I.; FOSTER, G. 1997. El uso de artrópodos como indicadores biológicos. *Boletín Sociedad Entomológica Aragonesa* 20: 265-276
- SAS Institute. 2001.

**Tabla 1.** Taxones presentes en las cinco rotaciones del ensayo de rotaciones en siembra directa y taxones presentes bajo siembra directa y labranza convencional en el ensayo de labranzas.

Clase	Orden	Suborden	Familia	Genero	sp	Ensayo de rotaciones en SD					Ensayo LC vs SD	
						1	2	3	4	5	LC	SD
Insecta	Coleoptera	Polyphaga	Staphylinidae			x	x				x	x
insecta	coleoptera	infraorden: cucujiformia	Chrysomelidae	Epithrix		x	x	x	x	x	x	
Insecta	Coleoptera	Adephaga	Carabidae	Loxandrus	Loxandrus simplex	x	x	x	x			x
Insecta	Coleoptera	Adephaga	Carabidae	Pachymorphus	Pachymorphus striatulus	x	x	x	x	x		x
Insecta	Coleoptera	Polyphaga	Meloidae	Epicauta			x					x
Insecta	Coleoptera	Polyphaga	Coccinellidae					x	x			
Insecta	Coleoptera	Adephaga	Carabidae	Pachymorphus	Pachymorphus striatulus						x	x
Insecta	Coleoptera	Adephaga	Carabidae	Anisostichus	Anisostichus octopunctatus							x
Insecta	Coleoptera		Scarabaeidae	Heterogomphus	Heterogomphus laticollis							x
Insecta	Coleoptera		Curculionidae		gorgojo						x	x
Insecta	Coleoptera		Carabidae	Metius	Metius carnifex							x

**Tabla 1.** Taxones presentes en el módulo agroecológico (Agroe) y con manejo predominante (Domin), para cada una de las seis fechas de muestreo.

clase	orden	suborden	familia	género	especie	nombre vulgar	9-	16-	oct-13	nov-14	sep-15	nov-15	Agroe	Agroe	Agroe	Agroe	Agroe	Agroe
							Domin	Agroe										
Insecta	Coleoptera		Staphilinidae			estafilínido	x				x	x	x			x	x	x
insecta	coleoptera		Chrysomelidae	Epithrix		pulga saltona	x	x	x		x	x			x	x		x
Insecta	Coleoptera		Curculionidae	Entiminae	Entiminae sp.	gorgojo		x										
Insecta	Coleoptera	Coleoptera	Carabidae	Pachymorphus	Pachymorphus striatulus	carabido			x	x								x
Insecta	Coleoptera	Polyphaga	Coccinellidae						x		x	x	x					
insecta	coleoptera								x		x	x	x	x				x
insecta	Coleoptera	Adephaga	Carabidae	Argutoridius	Argutoridius oblitus						x	x						x
Insecta	Coleoptera	Adephaga	Carabidae	Loxandrus	Loxandrus simplex						x	x						
Insecta	Coleoptera	Adephaga	Carabidae	Notiobia	Notiobia cupripennis						x							
insecta	Coleoptera	Adephaga	Carabidae	Scarites	Scarites anthracinus						x	x	x					x
Insecta	Coleoptera	Polyphaga	Tenebrionidae	Scotobius	Scotobius muricatus						x		x					
Insecta	Coleoptera		Scarabaeidae	Bothynus		escarabajo rubio					x							x
insecta	coleoptera		Scarabaeidae								x	x	x					x
Insecta	Coleoptera		Dascilloidea	Elateridae	Elateridae sp.	gusano alambra, saltaperico						x	x					x
Insecta	Coleoptera		Carabidae	Selenophorus	Selenophorus punctulatus								x					x
Insecta	Coleoptera	Coleoptera	Carabidae	Anisostichus	Anisostichus octopunctatus													x
Insecta	Coleoptera		Meloidae															x
Insecta	Coleoptera		Tenebrionidae															x

---

## **EFFECTO SOBRE LA ARTOPODOFAUNA EPIGEA DE DOS DIFERENTES ENFOQUES PRODUCTIVOS: AGROECOLÓGICO Y PREDOMINANTE**

*Natalia Carrasco (1),  
1 Estación Experimental Agropecuaria Integrada de Barrow (INTA-MAA).  
carrasco.natalia@inta.gob.ar*

### **RESUMEN**

La magnitud de los efectos del manejo del agroecosistema sobre la fauna edáfica dependerá del tipo de producción, sistema de labranza, diversidad y rotación de cultivos, de los insumos utilizados. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos de dos diferentes enfoques productivos, sobre la comunidad de artrópodos epígeos. El sitio de estudio consta de dos módulos: uno con un enfoque agroecológico, y el otro con el enfoque de producción predominante de la zona, caracterizado por la uniformidad de los cultivos en términos de biodiversidad y un uso intensivo de fertilizantes y plaguicidas. Se muestreó con trampas Pitfall en seis fechas, entre mayo de 2013 y noviembre de 2015. Se registró una abundancia total de 2498 individuos pertenecientes a las Clases Crustácea, Arachnida, Diplopoda, Clitellata, e Insecta. Se pudo observar una mayor riqueza de especies y abundancia de la artropodofauna epígea en el módulo en donde se lleva adelante la transición agroecológica, probablemente en consecuencia al efecto de las diferentes prácticas que allí se implementan que apuntan hacia un incremento de la biodiversidad en tiempo y espacio, una disminución del uso de insumos externos, especialmente de biocidas como los agroquímicos, una constante cobertura del suelo para mantener las adecuadas condiciones de temperatura y humedad, la presencia de la ganadería, entre otras. Estos mejores valores no se reflejaron en los índices de Dominancia, Equitatividad y Diversidad específica, ya que fue mayor el efecto desestabilizador de la predominancia de alguna especie por sobre el resto en lo que respecta a abundancia relativa, probablemente debido al estado transicional del enfoque productivo.

**Palabras clave:** agroecología, artropodofauna edáfica, índices ecológicos

## INTRODUCCIÓN

Las propiedades físicas y químicas del suelo se han usado tradicionalmente como indicadores de su calidad. Sin embargo, la disminución de la calidad del suelo con la consiguiente pérdida de capacidad productiva por pérdida de la estructura y fertilidad del suelo está íntimamente relacionada con la disminución de las poblaciones de invertebrados que ocupan diferentes nichos ecológicos (Brussaard *et al.*, 1997). La magnitud de los efectos sobre la fauna edáfica dependerá de las características del sistema agropecuario, como el tipo de producción (agricultura o mixto), del sistema de labranza (convencional o directa), de la diversidad y rotación de cultivos, de los insumos utilizados, entre otros (Aquino *et al.*, 2008). Estas particularidades hacen de la fauna edáfica un potencial indicador biológico (Lavelle *et al.*, 2006).

El enfoque productivo de la agroecología surge como la convergencia entre la ecología y la agronomía (Dalsgaard *et al.*, 2003). Mientras que el objetivo de la agricultura productivista o tradicional es mejorar solo un elemento del agroecosistema, el objetivo de la agroecología es mejorar la estructura del sistema agrícola y hacer que cada parte de la misma funcione adecuadamente (Liang, 1998), fortaleciendo los ciclos biológicos (Marasas *et al.*, 2012) a partir del fortalecimiento de las interacciones y los sinergismos entre los componentes biológicos que impulsan los mecanismos que permitirán al sistema generar su propia fertilidad del suelo, productividad y protección de los cultivos (Altieri, 1995). Entender cómo los ecosistemas son alterados por la intensificación agrícola y desarrollar nuevas estrategias que adopten las ventajas de las interacciones ecológicas y las incorporen en los sistemas agrícolas son retos cruciales para salvaguardar la productividad de la agricultura en el futuro (Robertson, 1998).

Consecuentemente con todo lo anteriormente expuesto, se propuso como objetivo de este estudio, evaluar los efectos de dos diferentes enfoques productivos, sobre la comunidad de artrópodos epígeos en el centro sur de la provincia de Buenos Aires.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Dentro de la EEAI Barrow, centro sur bonaerense, se establecieron dos módulos: uno bajo un enfoque agroecológico (Agroe), y el otro con el enfoque de producción predominante (Domin) de la zona, caracterizado por la uniformidad de los cultivos en términos de biodiversidad y un uso intensivo de fertilizantes y plaguicidas.

Cultivos en los módulos Agroe y Domin presentes en el momento de los muestreos:

Módulo Agroec. Los cultivos antecedentes al primer momento de muestreo (mayo 2013), fueron avena vicia (2011), interseembra de sorgo con soja (2011/12) y trigo candeal (dos variedades, con trébol rojo (2012/13). 2013: Avena vicia para pastoreo y como abono verde. No se usaron fertilizantes ni agroquímicos. 2013/14: Sorgo y diferentes variedades de maíz para pastoreo. No se usaron fertilizantes ni agroquímicos. 2014/15: Pastura perenne de festuca, alfalfa y trébol rojo con trigo candeal. Se realizó una aplicación de Bromoxinil y MCPA para malezas. Se sembraron dos variedades de trigo candeal rodeadas de corredores biológicos de pastura y vegetación espontánea.

Módulo Domin. Los cultivos antecedentes al primer momento de muestreo (mayo 2013), fueron avena (2011), soja (2011/12) y trigo candeal (2012/13) se sembró Trigo sobre barbecho químico con glifosato. Se fertilizó con DAP y urea. Se aplicó Metsulfurón + Dicamba para malezas. 2013: Avena para silaje. Fertilización: DAP y urea. 2013/14: Soja de segunda. Debido a la sequía el cultivo nunca emergió, por lo cual, quedó en barbecho. 2014/15: Trigo candeal. Barbecho químico con dos aplicaciones de glifosato y una de 2,4-D. En macollaje se fertilizó con urea, y se aplicó Metsulfurón, 2,4-D, Banvel y Axial.

#### **METODOLOGÍA DEL MUESTREO:**

Con el fin de capturar la diversidad de la artropodofauna epigea, se realizaron seis muestreos por medio del uso de trampas de caída o Pitfall en: octubre 2013, noviembre 2014, septiembre 2015, noviembre 2015, y dos muestreos en mayo 2017. Las trampas se dejaron 7 días. En laboratorio se identificaron y clasificación hasta nivel de orden, familia, género o especie, según las posibilidades. Los insectos del orden Coleoptera fueron determinados hasta nivel de género o especie por el Dr. Cicchino (CONICET).

Con base en la estructura total de la riqueza de especies/taxón y el registro de individuos de cada una, se estimaron los siguientes índices ecológicos (Magurran, 1988):

- Abundancia: número total de individuos hallados;
- Riqueza específica (S): número de especies/taxón;
- Dominancia (D), según índice de Simpson:  $D = \sum [n_i (n_i - 1) / N (N - 1)]$ . Donde:  $n_i$  = número de individuos/especie  $i$  y  $N$  = número total.
- Diversidad específica ( $H'$ ): índice de Shannon and Weiner,  $H' = - \sum [(n_i / N) * \ln (n_i / N)]$
- Equitatividad (E):  $E = H' / \ln S$

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se registró una abundancia total de 2498 individuos para todas las fechas y sitios analizados. Para la primera fecha de mayo de 2013 se colectaron 286 individuos, para la segunda fecha, 144. En octubre de 2013, 567 individuos, en noviembre de 2014, 269, en septiembre de 2015, 508 y en noviembre de 2015, 724 individuos.

Los individuos de todos los muestreos en su totalidad, pertenecieron a las Clases Crustácea, Arachnida, Diplopoda, Clitellata e Insecta.

La riqueza específica fue mayor en Agroecología en cuatro muestreos y menor en los dos restantes (Tabla 1). Asimismo, este índice tendió a incrementarse a través del tiempo, con valores iniciales de 3.25 y 4.25, y valores finales de 17.67 y 13.20 para Dominancia y Agroecología respectivamente.

La abundancia, fue generalmente mayor en Agroecología, con una marcada diferencia en cuatro de las seis fechas con valores que hasta sextuplican los de Dominancia.

Los valores de Dominancia, Diversidad específica y Equitatividad nos muestran en conjunto que en general la comunidad de artrópodos de Dominancia pareciera estar más equilibrada (Tabla 1). En todos los casos esto fue debido a que en alguna de las trampas de caída de Agroecología, en cada una de las fechas de muestreo, hubo una especie que presentó una marcada abundancia en relación al resto. En 9-15/05/2013 fueron los diplópodos que presentaron en una de las muestras, 200 individuos de un total de 206 colectados. En la segunda fecha de mayo de 2013 no hubo un pico de abundancia. En octubre 2013, una muestra presentó 144 individuos de una especie de Crustacea, de un total de 148 colectados. En noviembre de 2014 no hubo un pico de abundancia. En septiembre de 2015 cayeron en la trampa Pitfall 182 ácaros en una muestra de 215 individuos. En noviembre de 2015 una muestra presentó 210 ácaros, de un total de 299 individuos.

### 9-15 mayo 2013

El 73.3% de la abundancia en Dominancia, correspondió a la clase Diplopoda. Luego, en orden de abundancia le siguen arañas del género *Lycosa*, estafilínidos (Staphilinidae) y pulgones (Aphididae), con porcentajes menores al 10%.

Los artrópodos más abundantes también fueron los milpiés (Diplopoda) en Agroecología, con un 64.4%. El resto de los taxones presentaron abundancias relativas muy bajas.

En este muestreo inicial la composición de ambos lotes presentó una marcada abundancia de diplópodos, especialmente en el módulo Dominancia. En cambio la abundancia total fue cinco veces mayor en Agroecología, donde estaba sembrado recientemente un cultivo de avena vicia.



16-22 mayo 2013

Los artrópodos más abundantes fueron los milpiés (Diplópoda) en Domin (61.3%). Le siguen en abundancia con 13.5% y 6.3% coleópteros del género *Epithrix* y ácaros (Acari) respectivamente.

En Agroe, casi el 40% de la abundancia correspondió a ácaros (Acari), un 33.3% a los milpiés (Diplópoda) y el 9.1% a arañas del género *Lycosa*.

En esta fecha de muestreo las abundancias totales fueron similares, continuando una marcada abundancia de diplópodos en Domin, mientras que ya no en Agroe que presentó una comunidad con menor Dominancia.

Octubre 2013

En Domin, el 53.5% de los artrópodos pertenecieron a la especie *Armadillidium vulgare* (Crustacea). Luego le siguieron las arañas (Araneae), las arañas del género *Lycosa* y los pulgones (Aphididae) con 14.0%, 11.6% y 7.0% respectivamente.

Los artrópodos más abundantes fueron los *Armadillidium vulgare* (Crustacea) en Agroe, con una abundancia del 51.3%. Luego le siguieron los milpiés (Diplópoda), los ácaros (Acari) y las arañas (Araneae) con 11.8%, 9.0% y 7.8% respectivamente.

Ambos módulos presentaron la mitad de la abundancia representada por individuos de *Armadillidium vulgare*. Asimismo el módulo Domin presentó la presencia de pulgones que atacaban el cultivo de avena, mientras que éstos fueron escasos en el módulo Agroe. La abundancia fue mucho mayor en Agroe, con un promedio de 131 individuos por cada tampa de caída, versus 22 individuos en Domin.

Noviembre 2014

En Domin, 23.6% de los individuos correspondió a estafilínidos (Staphilinidae), 18.9% a *Scarites anthracinus* (Carabidae) y 17% a *Dichroplus* sp. (Acrididae).

En cambio en Agroe 21.5% de los individuos pertenecieron a *Armadillidium vulgare*, 15.2% a ácaros (Acari), 8.9% a *Nysus simulans* (Lygaeidae), conocida como "chinche diminuta" y en la misma proporción *Dichroplus* sp (Acrididae), siguiéndole la presencia de arañas del género *Lycosa* en 7.6%.

Si bien ambos módulos tenían el mismo cultivo (trigo) y presentaron valores similares de índices ecológicos y abundancia, las especies detectadas fueron diferentes.

### Septiembre 2015

En Domin, 38.1% de la abundancia correspondió a milpiés (Diplopoda), 24.5% a ácaros (Acari) y 10.8% a pulgones (Aphididae).

En Agroe, 62.3% correspondió a ácaros (Acari), 21.7% a pulgones (Aphididae) y 6.8% a dípteros (Diptera).

El desbalance en los índices ecológicos presentados en Agroe, así como en su mayor abundancia de individuos (Tabla 1) fue fundamentalmente debida a la alta presencia de ácaros registrada.

### Noviembre 2015

Domin presentó 43.7% de ácaros (Acari) y 14.8% de pulgones (Aphididae).

Agroe también presentó una alta presencia de ácaros (Acari) (57.9%). Los pulgones (Aphididae) fueron el 7.9%.

Ambas comunidades no presentaron diferencias marcadas en la composición así como en los índices ecológicos, si bien la abundancia fue cerca del doble en Agroe.

## CONCLUSIÓN

Se pudo observar una mayor riqueza de especies y abundancia de la arthropodofauna epígea en el módulo en donde se lleva adelante la transición agroecológica, probablemente en consecuencia al efecto de las diferentes prácticas que allí se implementan que apuntan hacia un incremento de la biodiversidad en tiempo y espacio, una disminución del uso de insumos externos, especialmente de biocidas como los agroquímicos, una constante cobertura del suelo para mantener las adecuadas condiciones de temperatura y humedad, la presencia de la ganadería, entre otras. Estos mejores valores no se reflejaron en los índices de Dominancia, Equitatividad y Diversidad específica, ya que fue mayor el efecto desestabilizador de la predominancia de alguna especie por sobre el resto en lo que respecta a abundancia relativa, probablemente debido al estado transicional del enfoque productivo, resultando necesario continuar con estos muestreos en el futuro.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Altieri, M.A. 1995. Agroecology: the science of sustainable agriculture. Editorial Westview Press, Estados Unidos. 203 pp.

- Aquino, A. M., M.E. Fernandes & M.V. Alves. 2008. Diversidade da macrofauna edáfica no Brasil. En: Moreira, F., J.O. Siqueira & L. Brussaard (eds.), Biodiversidade do solo em ecossistemas brasileiros. Eitorial UFLA, Brasil. Pp 143-170.
- Brussaard, L., V. Behan-Pelletier, D. Bignell, V. Brown, W. Didden, P. Folgarait, C. Fragoso, D. Freckman, V. Gupta, T Hattori, D. Hawksworth, C. Klopatek, P. Lavelle, D. Malloch, J. Rusek, B. Söderström, J. Tiedje & R. Virginia. 1997. Biodiversity and ecosystem functioning in soil. 26: 563-570.
- Dalgaard, T; N.J. Hutchings & J.R. Porter. 2003. Agroecology, scaling and interdisciplinarity. Agriculture Ecosystems & Environment 100: 39-51.
- Lavelle, P., T. Decaëns, M. Aubert, S. Barot, M. Blouin, F. Bureau, P. Margarie, P. Mora y J-P. Rossi. 2006. Soil invertebrates and ecosystem services. Eur. J. Soil Biol. 42: 3-15.
- Liang W. 1998. Farming systems as an approach to agroecological engeneering. Ecological engeneering 11: 27-35.
- Magurran, A. 1988. Ecological diversity and its measurement. Princeton University Press. Princeton, New Jersey. Pp. 179.
- Marasas, M; G. Cap, L. de Luca, M. Pérez & R. Pérez. 2012. El camino de la transición agroecológica. Editorial Ediciones INTA. 90 pp.
- Robertson G.P. 1998. Agricultural ecology. Editorial Academic Press, Estados Unidos. 88 pp

**Tabla 1.** Valores de los índices ecológicos para las seis fechas de muestreo, en el módulo agroecológico (Agroe) y de manejo predominante (Domin)

Fecha	Módulo	Riqueza específica	Abundancia/ muestra	Dominancia	Equitatividad	Diversidad específica
9-15 /05/2013	Domin	3,25	11,25	0,35	0,73	0,86
	Agroe	4,25	60,25	0,55	0,52	0,75
16-22 /05/2013	Domin	7,50	27,75	0,20	0,65	1,31
	Agroe	6,00	16,50	0,23	0,38	0,67
oct-13	Domin	6,50	21,50	0,32	0,35	0,66
	Agroe	13,00	131,00	0,44	0,55	1,40
nov-14	Domin	12,33	37,00	0,18	0,58	1,47
	Agroe	16,33	52,67	0,17	0,57	1,59
sep-15	Domin	9,50	23,17	0,32	0,64	1,44
	Agroe	12,67	123,00	0,52	0,42	1,07
nov-15	Domin	17,67	61,00	0,59	0,68	1,94
	Agroe	13,20	144,80	0,30	0,63	1,62

## **EFFECTO DE LOS CAMBIOS EN LA VEGETACIÓN ASOCIADOS A LA INTENSIDAD DE USO DEL SUELO SOBRE LOS ENSAMBLES DE INVERTEBRADOS DE LA BROZA EN EL CHACO ÁRIDO**

*Chiappero, M. Fernanda (1,\*); Moreno, M. Laura (1); Pérez- Harguindeguy, Natalia (1)  
1 Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV).*

*\*Instituto multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV). Av. Vélez Sarfield 299 Piso: 2 C.c. 495.  
E-mail: ferchiappero95@gmail.com*

### **RESUMEN**

La capa de broza depositada en el suelo alberga numerosos invertebrados que toman parte en diferentes procesos ecosistémicos. Por ejemplo, son una parte fundamental del proceso de descomposición de la broza, del reciclado de nutrientes y, a través de ellos, del sostenimiento de la productividad primaria. Debido a que estos organismos dependen de la broza que producen las plantas, tanto para su hábitat como para su alimentación, las comunidades de invertebrados se pueden ver afectadas por cambios en las comunidades vegetales. El objetivo principal de este trabajo es analizar de qué modo cambios en la vegetación, asociados al uso de la tierra, modifican la riqueza, abundancia y diversidad taxonómica *per se*, así como la diversidad y abundancia de gremios funcionales, de invertebrados que residen en la broza en el Chaco Árido de Córdoba. Se espera que en aquellos sitios con mayor intensidad de uso, al disminuir cantidad de broza, se reduzca la diversidad de hábitats y, en consecuencia, se reduzcan la abundancia y la riqueza de invertebrados. Se seleccionaron dos fisonomías contrastantes en cuanto a la intensidad de uso de la tierra: bosque (con uso nulo o muy leve para ganadería) y arbustal abierto (con tala intensa y uso ganadero intenso), donde se establecieron 4 y 3 parcelas, respectivamente. Dentro de cada parcela, se recolectó la broza depositada en 10 cuadratas de 0,50m<sup>2</sup> de las cuales se extrajeron los invertebrados a través del método de Berlesse-Tulgren. Se determinó la calidad (C/N y pH) y parámetros físicos de la broza (cantidad, profundidad, humedad, diversidad de hábitats) y la humedad del suelo. Las variables de cantidad y profundidad de la broza, como así también la humedad del suelo, fueron menores en el arbustal abierto en comparación con el bosque conservado, mientras que la humedad de la broza mostró el patrón opuesto. La relación C/N fue mayor en el arbustal abierto, mientras que el pH mostró una tendencia opuesta. En cuanto al ensamble de fauna asociada a la broza, la abundancia y la diversidad fueron mayores en el bosque en comparación con el arbustal abierto, aunque la riqueza no difirió entre fisonomías. La abundancia y riqueza de invertebrados se explicaron mejor

por la profundidad de la broza, mientras que la cantidad de broza, explicó las variaciones en la diversidad. Por su parte, la abundancia de detritívoros se asoció negativamente con el índice C/N del leño. Se concluye que los atributos de los ensambles de invertebrados en el Chaco Árido, estarían determinados principalmente por las características del hábitat. Asimismo, debido a que los detritívoros consumen principalmente microorganismos que crecen en la broza, estarían afectados por variaciones en la calidad de misma. Los cambios en la estructura de los ensambles de invertebrados aquí reportados posiblemente tengan implicancias en el funcionamiento del ecosistema.

**Palabras claves:** *Fauna de la broza; intensidad de uso de la tierra; ecosistemas áridos de Córdoba.*

## INTRODUCCIÓN

Los ensambles de invertebrados que residen en el suelo y en la broza están constituidos por un gran número de especies y se consideran entre los más diversos de los ecosistemas terrestres (Anderson 1975). Estos organismos son clave en el funcionamiento ecosistémico, ya que modifican la estructura física del suelo, lo que a su vez permite regular la porosidad, aireación y almacenamiento de agua (Bardgett 2005; Lavelle et al., 2006). De la misma manera, participan en el reciclado de nutrientes (Swift et al., 1979) y regulan la descomposición, a través de su efecto sobre la trituración de la broza y su interacción con la microflora descomponedora (Coleman & Crossley 1996).

A escala local, la estructura de las comunidades de plantas, mediante la cantidad y calidad de broza que producen, puede afectar los ensambles de fauna que habitan este sub-sistema (Wardle 2002; Wardle 2006) ya que la broza es tanto el recurso alimenticio de algunos de ellos (detritívoros) como el hábitat de toda la comunidad de invertebrados. Con respecto a la calidad, se ha sugerido que los detritívoros evitan broza con altos niveles de compuestos fenólicos, mayor relación C/N y menor pH (Gessner et al., 2010; Schneider et al., 2012). En relación al hábitat, algunos trabajos en sistemas boscosos (Anderson 1978; Hansen 2000) observaron que una mayor complejidad estructural de la broza, alberga una mayor diversidad de ácaros oribátidos. Este resultado podría deberse a una mayor partición del recurso por parte de las especies coexistentes y, por lo tanto, una menor intensidad de competición entre las mismas en hábitats más heterogéneos. Igualmente, una mayor acumulación de materia orgánica muerta, favorecería la persistencia y actividad de mesofauna susceptible a la desecación, por ejemplo ácaros y colémbolos (Tian et al., 1993). En este mismo sentido,

la amortiguación microambiental que la broza ejerce con respecto a las fluctuaciones locales puede ser relevante en sistemas con condiciones muy cambiantes como son los sistemas áridos (Doblas- Miranda et al., 2009a).

En particular, en el bosque chaqueño, la intensificación de tala y ganadería ocasionan una disminución de gran magnitud en la cantidad de broza que llega al suelo (Conti et al., 2014) y una disminución de menor magnitud en la calidad de la misma (Carranza et al., 2012; Cuchiatti 2015). Trabajos acerca de los ensambles de invertebrados, mostraron que la riqueza, abundancia y diversidad de insectos epigeos no difirió significativamente en sitios con distinta intensidad de uso de la tierra (Molina et al., 1999). Sin embargo, se observó una menor abundancia de detritívoros donde la intensidad de uso fue más alta. Por su parte Malin-Vilar (2011) encontró una dominancia de mesofauna detritívora asociada a la broza en todas las fisonomías del Chaco Árido resultantes de cambios en el uso de la tierra y, mayor riqueza de morfoespecies hacia los sitios más conservados.

Es por ello, que bajo el contexto actual de cambio ambiental global, principalmente dado por cambios en el uso de la tierra (MEA 2005) y los efectos que estos pueden tener sobre la identidad y abundancia de especies o tipos funcionales de plantas (Grime et al., 1997; Wright et al., 2004) es necesario entender los impactos de estos cambios en la estructura de los ensambles de invertebrados y los procesos ecosistémicos en los cuales intervienen (Wardle 2002; Bardgett 2005).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### ÁREA DE ESTUDIO

Este estudio se realizó en el extremo oeste de la Provincia de Córdoba, Dto. Pocho, en los alrededores de la localidad de Chancaní. La región corresponde a la Provincia Fitogeográfica Chaqueña que se caracteriza por poseer bosques y matorrales xerófilos en los cuales el único estrato continuo es el arbustivo (Cabido et al., 1992). La región presenta una marcada estacionalidad (clima de tipo monzónico), con una estación húmeda y cálida (octubre-marzo) y otra seca y fría (abril-septiembre; Cabido et al., 1992). Como parte de estudios previos en el área, se seleccionaron dos fisonomías de vegetación contrastantes en relación a los usos de la tierra: bosque conservado estratificado ("bosque primario") con baja intensidad de desmonte y carga ganadera, y arbustal xerófilo abierto dominado por *Larrea divaricata* ("jarillal"), con alta intensidad de desmonte y alta carga ganadera. En el bosque se establecieron 4 parcelas y en el arbustal abierto 3, cada una de 100 m<sup>2</sup>.

## RECOLECCIÓN DE BROZA

Dentro de cada parcela, se realizó una transecta Norte-Sur en la cual se establecieron 10 puntos cada 5 m, en los cuales se recolectó toda la broza depositada en una cuadrata 0,5 m<sup>2</sup>. Este material se agrupó cada dos puntos resultando en 5 submuestras compuestas sobre las que se realizaron las siguientes estimaciones (previo a la recolección de la broza, se midió la profundidad de la broza en cada una de las cuatro esquinas de cada cuadrata y en el centro de la misma):

**Complejidad del microhábitat:** se estimó a partir de la riqueza y abundancia absoluta de diferentes componentes de la broza (Anderson 1978). Para ello, luego de la extracción de invertebrados, el contenido de las submuestras fue tamizado, con un tamiz de 2mm y se separaron los siguientes componentes: *hojas dicotiledóneas intactas, fragmentos de hojas dicotiledóneas, herbáceas no dicotiledóneas, leño < 2 cm, leño > 2 cm, ramas < 5 cm, ramas > 5 cm, semillas y frutos*. Una vez separados, dichos componentes fueron secados en estufa a 60°C durante 48 hs y a continuación se determinó el peso seco (g) de cada uno de ellos.

**Cantidad:** La cantidad de broza en cada submuestra fue obtenida a través de la sumatoria del peso seco (g) de todos los componentes allí presentes.

**Calidad:** Se determinó la relación C/N y el pH en el componente leñoso y foliar de la broza. Para ello, se seleccionaron tres submuestras (de las 5 de cada parcela) a partir de las cuales se hizo una única muestra compuesta de leño y una única muestra de hojas, para cada una de las parcelas. Para la medición de C y N se empleó un analizador elemental, Perkin Elmer 2400 serie II. El pH se determinó siguiendo el protocolo propuesto por Cornelissen y colaboradores (2006).

**Humedad:** La estimación del contenido relativo de humedad se realizó a través del método gravimétrico, tanto en broza como en suelo. Para ello, dentro de cada fisonomía se estableció una transecta paralela a la mencionada anteriormente y se obtuvieron también 5 submuestras compuestas. En el centro de cada cuadrata se tomó una submuestra de los primeros 5cm mediante un cilindro de 10 cm de diámetro que se colocó en envases herméticos y se conservó a 4°C hasta su análisis. En el laboratorio, las submuestras se tamizaron utilizando un tamiz de 2mm y luego se pesaron para obtener su peso fresco (inicial). Después se secaron a estufa a 60°C y 105°C, para broza y suelo respectivamente, por 48 hs para obtener el peso seco (final). El porcentaje relativo de humedad se obtuvo por diferencia entre el peso inicial y final.



## EXTRACCIÓN DE INVERTEBRADOS

Los invertebrados fueron extraídos de la broza recolectada, utilizando el método Berlesse-Tullgren por 5 días (Crossley et al., 1999), utilizando etanol al 70% para su conservación. Posteriormente, los invertebrados fueron clasificados taxonómicamente. Formicidae se identificó hasta a nivel de especie/morfoespecie, Aranae (excepto Salticidae) y Pseudoscorpionida se llegó a nivel de género, y los restantes insectos hasta familia. Gastropoda se identificó hasta Clase y Acari hasta Suborden. Luego los individuos fueron asignados a gremios tróficos, según predominara en cada grupo taxonómico. Ambas clasificaciones, taxonómica y funcional, se realizaron empleando la bibliografía disponible (Triplehorn & Johnson 2005, Momo & Falco 2009).

## ANÁLISIS DE DATOS

Los organismos herbívoros encontrados en la broza (Coccidae, Thripidae y miembros de Hemiptera), debido a que son más bien ocasionales, no fueron tenidos en cuenta en este estudio. En los análisis de abundancia se consideraron los estadios inmaduros, aunque fueron excluidos de los análisis de riqueza y diversidad (índice de Shannon), tanto taxonómica como funcional. Para determinar la complejidad de la broza, se usó el índice de Shannon.

Tanto los atributos de la broza (cantidad, profundidad, complejidad y humedad), del suelo (humedad) y las variables de los ensambles de invertebrados (abundancia, riqueza y diversidad) entre las distintas fisonomías de vegetación se compararon a través de modelos lineales generales y mixtos (Pinheiro & Bates, 2000). La parcela fue incluida como efecto aleatorio para contemplar la falta de independencia entre las parcelas de la misma fisonomía. Para modelar las varianzas heterogéneas, se utilizó la estructura VarIdent en el caso de que fuera necesario (Zuur et al., 2009). Cuando fue requerido, se evaluaron las interacciones entre los efectos fijos. También se emplearon los mismos modelos anteriormente descritos a fin de analizar la asociación entre la comunidad de invertebrados de la broza (abundancia, riqueza y diversidad) y los atributos de la broza (cantidad, profundidad, complejidad y humedad) y del suelo (humedad). Las demás asociaciones entre variables fueron analizadas a través de correlaciones de Pearson. Se empleó el software estadístico R (R 2.12.0 R Core Development Team 2010).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tanto la cantidad como la profundidad de la broza, como así también la humedad del suelo y la complejidad de hábitat fueron menores en el arbustal abierto en relación al bosque conservado (**Tabla 1**). Por su parte, la humedad

en la broza fue mayor en el arbustal abierto (**Tabla 1**). Nuestros resultados concuerdan con lo encontrado en estudios previos en el área (Conti et al., 2014; Cuchiatti 2015) en cuanto a que, cambios en la estructura de la vegetación han resultado en una disminución en la biomasa vegetal muerta que llega al suelo, en un mayor porcentaje de suelo desnudo y en un menor contenido de agua en el mismo. Llama la atención que el contenido de agua en la broza haya seguido el patrón opuesto, pero esto podría deberse a que en el arbustal abierto, las herbáceas no dicotiledóneas tuvieron una mayor abundancia relativa (**Fig. 1**) y sus tejidos acumulan más humedad que los tejidos leñosos. Particularmente, en el bosque, la proporción de material leñoso (ramas, leño propiamente dicho y frutos, los cuales fueron principalmente lignificados) fue un 10% más alta que en el arbustal abierto. Respecto a la calidad de la broza, la relación C/N fue mayor en el arbustal abierto respecto al bosque (**Tabla 1**), e independientemente de la fisonomía, mayor en el leño en comparación con las hojas ( $F=19,57$ ;  $p=0,001$ ). El pH mostró un patrón opuesto, siendo menor hacia los sitios más intensamente usados (**Tabla 1**) y con valores más altos en las hojas en comparación con el leño ( $F=5,13$ ;  $p=0,047$ ). Los cambios observados en la calidad fueron de magnitud comparable a aquellos reportados por Cuchiatti (2015) para el C/N, aunque no se contaba con información sobre el pH de la broza en el área de estudio, el cual se asoció negativamente con el índice C/N ( $r=-0,59$ ;  $p=0,03$ ).

Se recolectaron un total de 1394 Individuos de invertebrados de los cuales el 89% fueron ácaros. Dentro de esta unidad taxonómica de clasificación, el suborden Prostigmata fue el más numeroso (40%) seguido por Mesostigmata (27%) y luego Oribatida (33%). La Clase Insecta sólo representó el 9% del total y, dentro de ella, el 50% de los individuos pertenecieron a la familia Liposcelididae y un 30% fueron larvas de holometábolos. La abundancia y la diversidad disminuyeron en el arbustal abierto en comparación con el bosque, mientras que la riqueza no mostró diferencias significativas (**Tabla 1**). Las variaciones en los valores de abundancia ( $F=33,42$ ;  $p<0,0001$ ; **Fig. 2a**) como de riqueza de invertebrados ( $F=7,86$ ;  $p=0,009$ ; **Fig. 2b**), estuvieron mejor explicadas por la profundidad de la broza, siendo la asociación entre dichas variables positiva. Por su parte, la diversidad se relacionó positivamente con la cantidad de broza ( $F=6,43$ ;  $p=0,02$ ; **Fig. 3**). Los sitios donde la acumulación de broza fue más alta, albergaron una mayor complejidad estructural, y representaron por lo tanto un hábitat más heterogéneo, posibilitando el desarrollo de un ensamble más diversos de invertebrados (Sayer et al., 2010).

Desde un punto de vista funcional, el gremio de predadores fue el más abundante (72%) comparado con los detritívoros (28%). Aunque puede llamar la atención que la cantidad de predadores parecería superar a la de presas, Santos y Withford (1981) mostraron, en regiones desérticas, un patrón similar al comparar la abundancia de Mesostigmata y Prostigmata (predadores) en

relación a colémbolos y oribátidos (presas). Esto podría deberse a que parte de los predadores, sobre todo los más pequeños, constituyan las presas de otros de mayor tamaño. Puede ocurrir además que parte de los predadores de la broza busquen sus presas en el suelo, tal como se ha visto para Mesostigmata y Prostigmata que se alimentan de nematodos del suelo (Price 1973). Estos resultados resaltan la importancia de considerar las interacciones tróficas en la interface broza-suelo (Doblas-Miranda et al., 2009b). Por su parte, la abundancia de detritívoros, en particular de ácaros oribátidos, se redujo drásticamente (97%) hacia los sitios con alta intensidad de uso. Esto podría implicar que para estos organismos la complejidad del hábitat es importante (Anderson 1978; Hansen 2000), además de que se ha observado que son muy sensibles a las perturbaciones en el hábitat en general (Salamon et al., 2006). Por otro lado, la abundancia de detritívoros se asoció negativamente con la relación C/N del leño ( $r = -0,83$ ;  $p = 0,02$ ). Esto evidencia que no solo las características del hábitat, sino también la calidad del recurso alimenticio regula este gremio trófico en particular (Wardle 2002). Esto se debería que los atributos químicos del sustrato afectan la palatabilidad de los microorganismos, los cuales finalmente serán consumidos por la fauna detritívora (Moçõ et al., 2010).

## **CONCLUSIONES**

A escala local, las características de las comunidades vegetales, principalmente a través de la cantidad y calidad de broza que producen, influyen los ensambles de invertebrados que viven y se alimentan en ese ambiente. En este trabajo, la cantidad de broza, fue el principal determinante de la diversidad de invertebrados de la broza. A su vez, una capa más profunda de broza, al albergar una mayor diversidad de hábitats, explicó mejor las variaciones en el número de individuos presentes. Asimismo la calidad de la broza, también fue importante en determinar la abundancia de organismos detritívoros. Por lo tanto, en el Chaco Árido las características del hábitat como así también del recurso trófico son importantes en estructurar los ensambles de invertebrados asociados a la broza.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Anderson, J.M. (1975). Progress in soil zoology. Proceedings of the 5th International Colloquium on Soil Zoology, vol. 1973. pp. 51e58.
- Anderson, J. M. (1978). *Oecologia*, 32, 341-348.
- Bardgett, R. (2005). Oxford University Press.

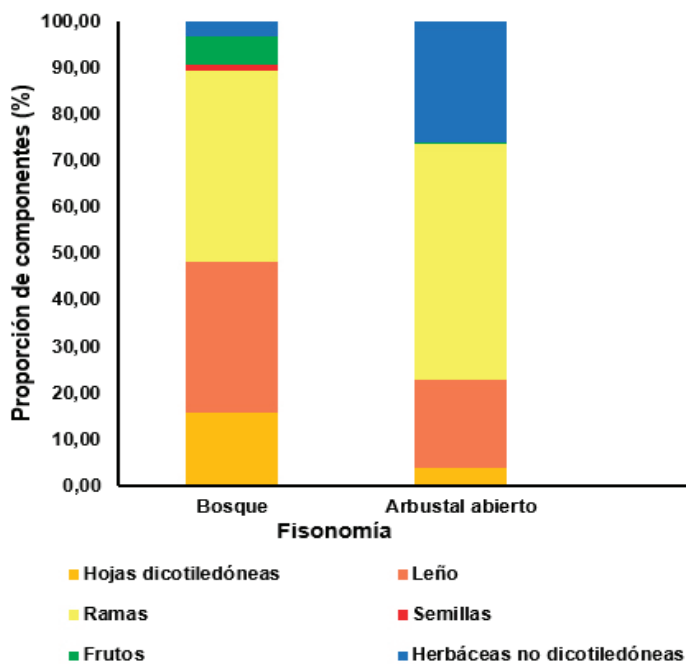
- Cabido, M. et al. (1992). *Documents Phytosociologiques*, 14, 447-456.
- Carranza, C. et al. (2012). *Revista de investigaciones agropecuarias*, 38, 97-107.
- Coleman, D. C., & Crossley, D.A. (1996). Academic Press, New York, USA.
- Conti, G. et al. (2014). *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 197, 68-76.
- Cornelissen, J. H. C., et al. (2006). *Oecologia*, 147(2), 315-326.
- Crossley, D. A., et al. (1999). *Handbook of Soil Science*, CRC Press, Boca Raton, 59-65.
- Cuchietti, A. (2015) Tesis Doctorado en Ciencias Biológicas, FCEfyN-UNC; Córdoba, Argentina.
- Doblas-Miranda, E., et al. (2009a). *Soil Biology and Biochemistry*, 41(12), 2543-2550.
- Doblas-Miranda, E., et al (2009b). *Pedobiologia*, 52(6), 361-373.
- Gessner, M.O. et al. (2010). *Trends Ecol. Evol.* 25, 372-380.
- Grime, J. P. et al. (1997). *Oikos*, 259-281.
- Hansen, R. A. (2000). *Ecology*, 81(4), 1120-1132.
- Lavelle, P., et al. (2006). *European Journal of Soil Biology*, 42, S3-S15.
- Malin-Vilar, T.G. (2011). Tesina de Grado en Ciencias Biológicas, FCEfyN-UNC; Córdoba, Argentina.
- MEA 2005. *Ecosystem and human well-being: A framework for assessment*. Island Press Washington, DC.
- Moço, M. K. S. et al. (2010). *Applied soil ecology*, 46, 347-354.
- Molina S. et al. (1999). *Journal of Arid Environment* 42, 29-42.
- Momo, F. R., & Falco, L. B. (2009). *Biología y ecología de la fauna del suelo* (No. 631.46 B615bi). Universidad Nacional de General Sarmiento.
- Pinheiro, J. C., & Bates, D. M. (2000). *Mixed-effects models in S and S-Plus*, 3-56.
- Price, D. W. 1973. *Hilgardia* 42:121-147.
- Salamon, J. A., et al. (2006). *Soil Biology and Biochemistry*, 38(2), 209-221.

- Santos, P. F., & Whitford, W. G. (1981). *Ecology*, 62(3), 654-663.
- Sayer, E. J. et al (2010). *Biotropica*, 42, 194-200.
- Schneider, T. et al. (2012). *The ISME journal*, 6, 1749-1762.
- Swift, M. J., et al. (1979). Blackwell Scientific, Oxford, UK.
- Tian, G. et al. (1993). *Soil Biol. Biochem.* 25, 731–737.
- Triplehorn, C. A., & Johnson, N. F. (2005). Thomson Brooks/Cole, Seventh Edition. USA.
- Wardle, D. A. (2002). Princeton University Press.
- Wardle, D. A. (2006). *Ecology letters*, 9, 870-886.
- Wright, I. J. et al. (2004). *Nature*, 428, 821-827.
- Zuur, A., et al. (2009). Springer Science & Business Media.

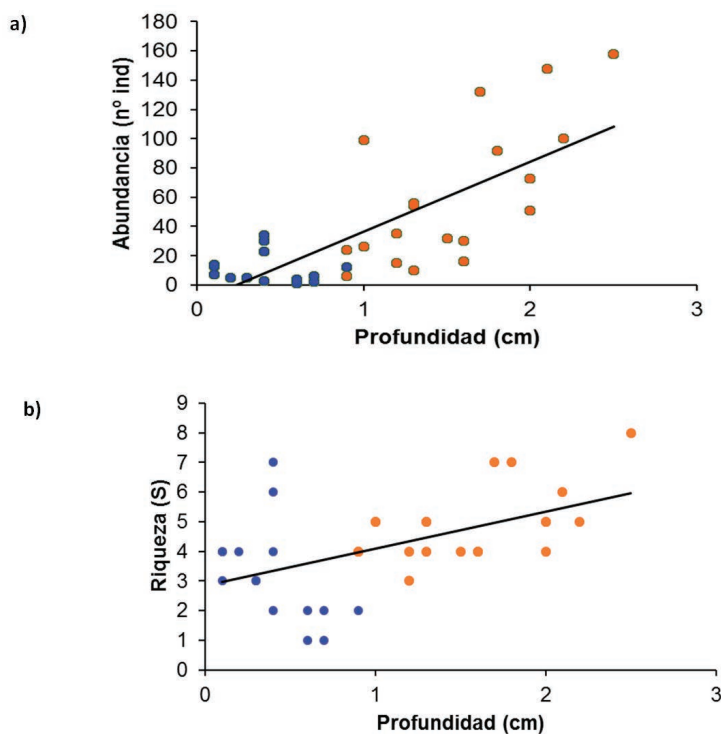
**Tabla 1:** Atributos de la broza/suelo y de los invertebrados asociados a la hojarasca en dos usos contrastantes en el Chaco Árido. Se indican los valores medios y el error estándar de cada variable. Además se indican los valores F y p.

Atributos	Variable	Bosque	Arbustal abierto	F	p
<b>Broza/Suelo</b>	Cantidad (g/m <sup>2</sup> )	768,46 (51,63)	238,86 (59,62)	59,71	<0.0001
	Profundidad (cm)	1,54 (0,16)	0,39 (0,18)	23,24	0,005
	Complejidad (H')	1,75 (0,05)	1,11 (0,06)	35,78	0,002
	Humedad Broza (%)	4,06 (1,32)	11,38 (1,52)	20,22	0,006
	Humedad Suelo (%)	4,92 (0,23)	2,85 (0,27)	21,45	0,006
	C:N	23,71 (1,41)	28,97 (2,99)	6,32	0,03
	pH	5,67 (0,07)	5,46 (0,11)	5,15	0,04
<b>Invertebrados</b>	Abundancia	61,5 (11,86)	10,93 (13,69)	19,96	0,007
	Riqueza	4,9 (0,49)	3,2 (0,56)	4,08	0,09
	Diversidad (H')	1,16 (0,12)	0,83 (0,14)	6,16	0,05

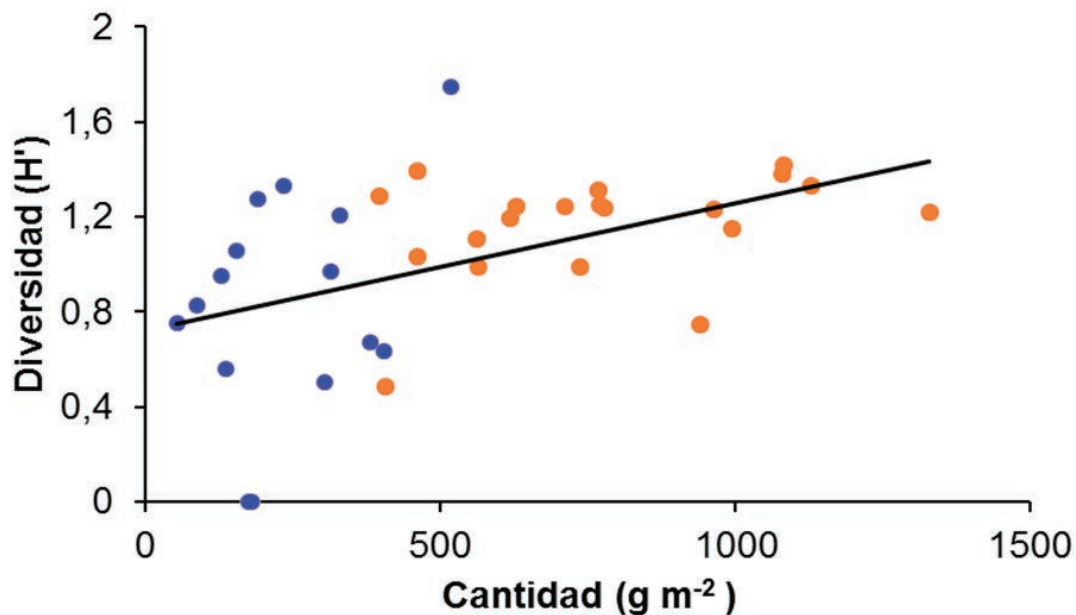
**Figura 1:** Proporción de componentes de la broza en las dos fisonomías del Chaco Árido bajo estudio.



**Figura 2.** Relación entre la abundancia (a) y riqueza (b) de invertebrados de la broza y la profundidad de la misma. Si bien se utilizó un modelo lineal mixto (Ver sección Análisis de Datos), en la figura se incluye una recta ajustada por mínimos cuadrados a fin de ilustrar el sentido de la relación. Los puntos azules corresponden al arbustal abierto y los puntos anaranjados corresponden al bosque conservado.



**Figura 3.** Relación entre la diversidad ( $H'$ ) de invertebrados de la broza y la cantidad de la misma. Si bien se utilizó un modelo lineal mixto (Ver sección Análisis de Datos), en la figura se incluye una recta ajustada por mínimos cuadrados a fin de ilustrar el sentido de la relación. Los puntos azules corresponden al arbustal abierto y los puntos anaranjados corresponden al bosque conservado.



## **EFFECTO DEL CULTIVO DE SOJA TRANSGÉNICA RR SOBRE LA MACROFAUNA DEL SUELO**

*De Falco, Pablo D. (1, \*); Di Ciocco, César A. (3); Penón, Eduardo A. (1); Bedano, José C. (2)*

*1 INEDES - Departamento de Tecnología Universidad Nacional de Luján.*

*2 Departamento de Geología, FCEFQYN, Universidad Nacional de Río Cuarto.*

*3 INEDES - Departamento de Ciencias Básicas Universidad Nacional de Luján*

*\* pdefalco@gmail.com*

### **RESUMEN**

Cerca de la mitad de la superficie agrícola del país es sembrada con soja transgénica resistente a glifosato (RR). Los cultivos transgénicos podrían afectar directa o indirectamente a los organismos del suelo. El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del cultivo de soja transgénica resistente al glifosato sobre la macrofauna edáfica. El ensayo se realizó en la Universidad Nacional de Luján, en parcelas de 10x60 m con un diseño en bloques al azar que además contempló diferentes coberturas invernales. La abundancia total de macrofauna presentó diferencias significativas entre ambas variables genéticas: la soja convencional no transgénica (NT) tuvo mayores abundancias totales que la soja RR. Lumbricina no tuvo diferencias significativas en la abundancia de 0 a 10 centímetros pero sí de 10 a 20 centímetros, donde fueron mayores en el tratamiento NT. Se observaron además diferentes efectos según la interacción entre el tipo de soja y el tratamiento invernal analizado. Se observaron diferencias en la abundancia de Lumbricina a favor del tratamiento NT en parcelas donde durante el invierno tenían cultivo de cobertura de Mostaza+Vicia y en aquellas con barbecho químico de glifosato. En las parcelas donde se implantó soja RR no se encontraron diferencias entre las diferentes coberturas invernales a lo largo de toda la rotación. Para el resto de los grupos de macrofauna las diferencias en la abundancia no fueron significativas. La composición de la macrofauna a nivel de los taxones de alto rango estuvo dominada por Lumbricina y no se observaron importantes diferencias entre las parcelas RR y NT. En Coleoptera se observó una dominancia de Carabidae sobre Curculionidae en parcelas RR y fue inversa en las parcelas NT. Se encontraron indicios del posible efecto de la soja transgénica sobre algunas comunidades del suelo, el cual debe ser estudiado por períodos mayores de tiempo.

**Palabras clave:** macrofauna edáfica, soja transgénica resistente a glifosato.



## INTRODUCCIÓN

En Argentina la mitad de la superficie agrícola, alrededor de 20 millones de hectáreas, se destinan a la producción de soja, de las cuales casi el 100% es sembrada con variedades genéticamente modificadas (GM). Los cultivos GM diseñados para tolerar herbicidas como el glifosato tienen la mayor cuota de mercado (Duke, 2005). Esto ha llevado a buscar una mayor comprensión de su impacto directo e indirecto sobre los ecosistemas naturales y agrícolas. El potencial impacto de las plantas GM en la dinámica de la rizósfera y la comunidad microbiana puede ser positivo o negativo en términos de salud vegetal y sostenibilidad de los ecosistemas. Incluso sólo alteraciones menores en la diversidad de comunidades microbianas podrían afectar la salud del suelo y la función del ecosistema (Dunfield y Germida, 2004). También puede haber impactos indirectos a través de interacciones tróficas, y el ecosistema del suelo puede verse afectado por cambios no deseados en el metabolismo de las plantas GM (Wolmarans y Swart, 2014). De acuerdo con esto, los cultivos GM podrían afectar directamente a los organismos del suelo a través de exudados radiculares (Saxena y Stosky, 2001), o podrían modificar la tasa de descomposición de los residuos vegetales al afectar la calidad de tejido de los mismos (Halpin y Boerjan, 2003) y provocar consecuencias ecológicas en las comunidades de organismos del suelo (Kowalchuk *et al.*, 2003). En los efectos de los cultivos GM, los estudios de los organismos *no objetivo* del suelo son menos comunes. Alterar los ecosistemas mediante el cultivo de soja resistente a los herbicidas podría perturbar poblaciones y comunidades de predadores benéficos, parasitoides, herbívoros y descomponedores de residuos orgánicos (Bitzer *et al.*, 2002). El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del cultivo de soja transgénica resistente al glifosato sobre las comunidades de macrofauna edáfica.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Los ensayos se realizaron en el campo experimental de la Universidad Nacional de Luján, provincia de Buenos Aires, en parcelas experimentales con un diseño de bloques completos al azar, con tres réplicas y con unidades experimentales de 10 x 60 m (600 m<sup>2</sup>). El suelo era un argiudol típico y se utilizaron cultivares comerciales de soja transgénica (RR) y soja convencional no transgénica (NT). El manejo fue similar para ambos cultivares, aplicándose un herbicida total (glifosato) 20 días antes de la siembra con una dosis de 4 litros por ha. Durante el cultivo, cuando fue necesario, se utilizaron herbicidas compatibles como Basagran (bentazon) y Pivot (imazetapir). La labranza fue en siembra directa. El ensayo comprendió además diversos cultivos de cobertura (CC) invernales,

por lo que quedó comprendido por 2 tratamientos, soja transgénica y soja no transgénica; y por 4 sub tratamientos en función de la cobertura invernal (avena con vicia, mostaza con vicia, barbecho químico con glifosato y barbecho de vegetación espontánea denominado natural). Se realizaron 4 muestreos, 2 en los tratamientos invernales (noviembre de 2009 y de 2011) y 2 en los tratamientos estivales (mayo de 2011 y junio de 2013). Las muestras se tomaron según los lineamientos básicos de la metodología clásica del programa TSBF (Anderson e Ingram, 1993). Se extrajeron monolitos de suelo de 25 cm de diámetro por 20 cm de altura, y cada uno se separó en dos capas: 0-10 cm y 10-20 cm, se procesaron manualmente y se identificaron los principales grupos de macrofauna.

Para el análisis de los datos se utilizaron modelos lineales generalizados mixtos (MLGM). En los modelos, se definieron como factores fijos al tipo de soja (RR versus NT), a los tratamientos invernales (CC de avena con vicia (A+V); CC de mostaza con vicia (M+V); glifosato; natural) y a la interacción entre ambos factores. Además, se consideraron como parámetros aleatorios al tiempo y los bloques. Las comparaciones a posteriori se realizaron mediante el test DGC (Di Rienzo *et al.*, 2013).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La abundancia total de macrofauna presentó diferencias significativas en las profundidades analizadas. En ambos casos el tratamiento NT tuvo mayores abundancias totales que el tratamiento RR (Figura 1). Esto difiere a lo observado por otros autores donde no encontraron diferencias significativas entre variedades de soja RR y NT (Imura *et al.*, 2010) o atribuyen las diferencias observadas al control de malezas con glifosato (Jasinski *et al.*, 2003). Por ello, en este trabajo el manejo durante el cultivo fue el mismo para ambas variedades de soja.

En Lumbricina no hubo diferencias significativas de 0 a 10 centímetros (Figura 1). En cambio, se observaron diferencias significativas de 10 a 20 centímetros en la abundancia, a favor del tratamiento NT. Se observaron además diferentes efectos según la interacción entre el tipo de soja y el tratamiento invernal analizado. En la Figura 2, se observan diferencias en la abundancia de Lumbricina a favor del tratamiento NT en parcelas donde durante el invierno tenían CC de M+V y en aquellas con barbecho químico de glifosato. En las parcelas donde se implantó soja RR no se encontraron diferencias en la abundancia de Lumbricina entre las diferentes coberturas invernales a lo largo de toda la rotación. La soja RR no tiene incluido un gen insecticida (como en el caso de Bt), por eso se esperaría que el posible efecto en la comunidad de lombrices sea en etapas más avanzadas de descomposición de los residuos, cuando están en condiciones de ser incorporados a la dieta. Por ello se realizó un análisis de toda la rotación

(incluyendo los barbechos invernales) para contemplar los tiempos de degradación del material y el efecto acumulativo que se pueda generar. La soja RR emana de sus raíces y restos vegetales, mayores cantidades de hidratos de carbono y aminoácidos que la NT (Turrini *et al.*, 2015), lo cual podría modificar la calidad o la preferencia de la dieta y ser el origen de las diferencias observadas, siendo factible la idea de que los cultivos transgénicos afectan a los organismos del suelo (Birch *et al.*, 2007).

Para el resto de los grupos de macrofauna las diferencias no fueron significativas (Figura 1). En el mismo sentido, Imura *et al.* (2010) concluyen que el cultivo de soja RR no tiene efectos directos adversos a corto plazo sobre los artrópodos del suelo. En parte, esto puede deberse a que los organismos del suelo pueden tardar mucho tiempo en responder a un nuevo régimen de cultivo RR (Firbank *et al.*, 2003).

Al analizar la composición de la macrofauna a nivel de los taxones de alto rango no se observaron importantes diferencias entre las parcelas RR y NT (Tabla 1). La composición tuvo mayor proporción de Lumbricina. La representación del resto de los grupos fue similar entre ambos tipos de soja. Las variaciones observadas entre RR y NT estuvieron en función del esquema de rotación y no del carácter transgénico en sí.

A un mayor detalle taxonómico de las familias de Coleoptera, se observó que si bien en las parcelas RR fue mayor la abundancia (Figura 1), no hubo importantes cambios en la composición de la mayoría de las familias de este grupo (Figura 3). Houghton *et al.* (2003) afirman que el manejo de cultivos resistente a herbicidas no tuvo efectos importantes sobre la abundancia en la mayoría de los taxones superiores de artrópodos aéreos y epigeos. Sin embargo en este trabajo se encontró un cambio en la dominancia entre los dos grupos mayoritarios. En la soja RR se observó una dominancia de Carabidae sobre Curculionidae y en la soja NT la dominancia fue inversa.

## CONCLUSIONES

Se encontraron indicios del posible efecto de la soja transgénica sobre algunos organismos del suelo, y se encontró también una interacción entre la variable genética de la soja y la cobertura invernal anterior. La soja RR produjo una disminución en la abundancia total de macrofauna, y un efecto particular en las lombrices. El efecto sobre las lombrices fue más evidente entre los 10 y los 20 cm de profundidad en los tratamientos con antecesor de mostaza con vicia y de glifosato. Se sugiere que el efecto del cultivo RR se produce a través de los exudados radiculares y restos vegetales, y por ello tuvo una respuesta más rápida en las lombrices debido a su hábito trófico geófago. Se concluye que los

efectos de la soja transgénica son dependientes de factores de manejo como el barbecho invernal precedente al cultivo de soja.

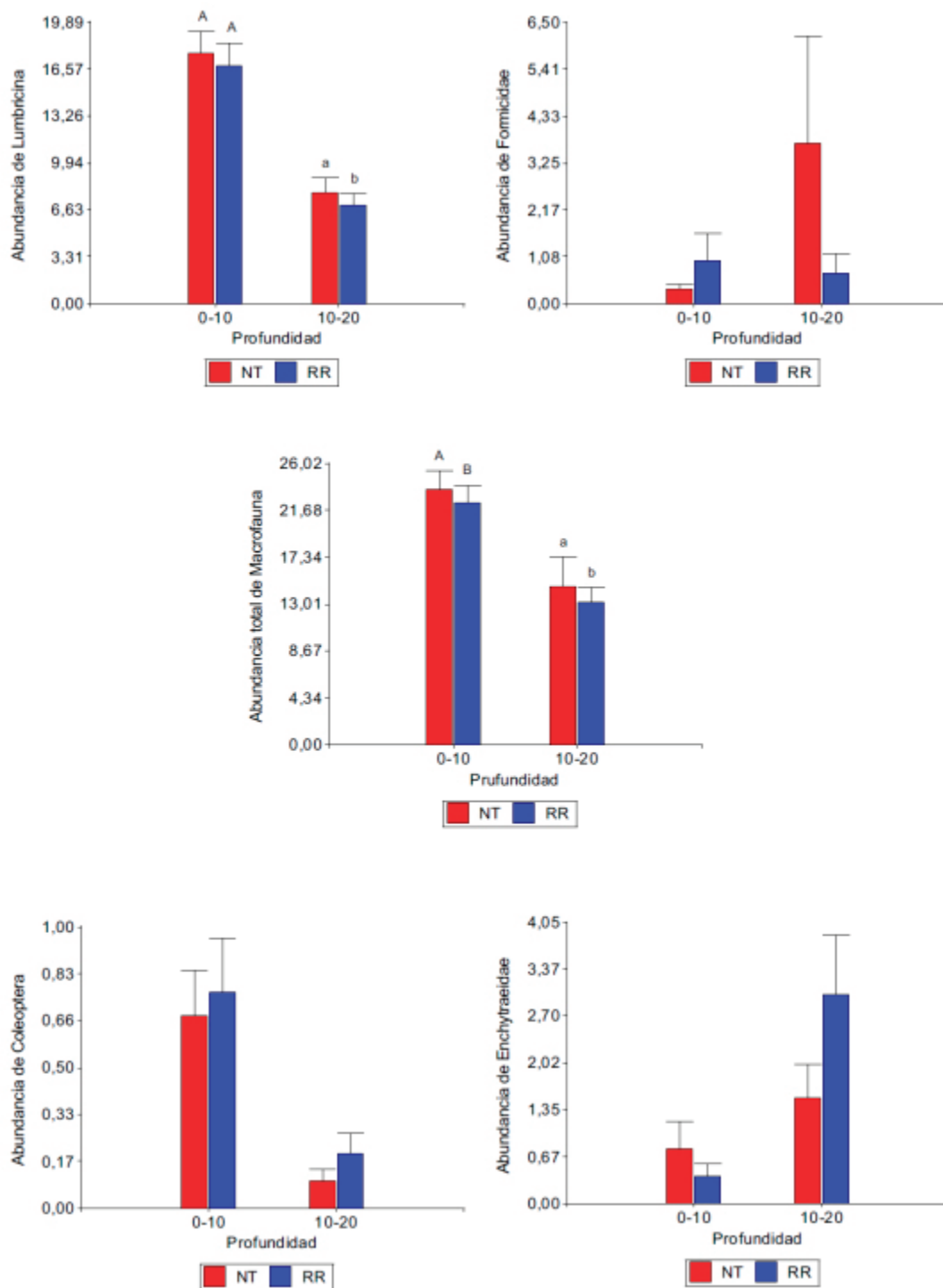
Los resultados obtenidos en este trabajo deben interpretarse en relación al marco temporal de corto plazo analizado versus el mayor tiempo necesario para que los efectos de un cambio genético en las plantas cultivadas se transfieran a la biota del suelo. Esto implica que se analizan efectos que se esperan sean de largo plazo, en un lapso de dos o tres ciclos de cultivo. En este contexto se explica la ausencia de efectos evidentes sobre los organismos examinados. Sin embargo, algunos de los resultados merecen ser destacados como alertas tempranas de cambios, particularmente por los grupos involucrados.

## **BIBLIOGRAFÍA**

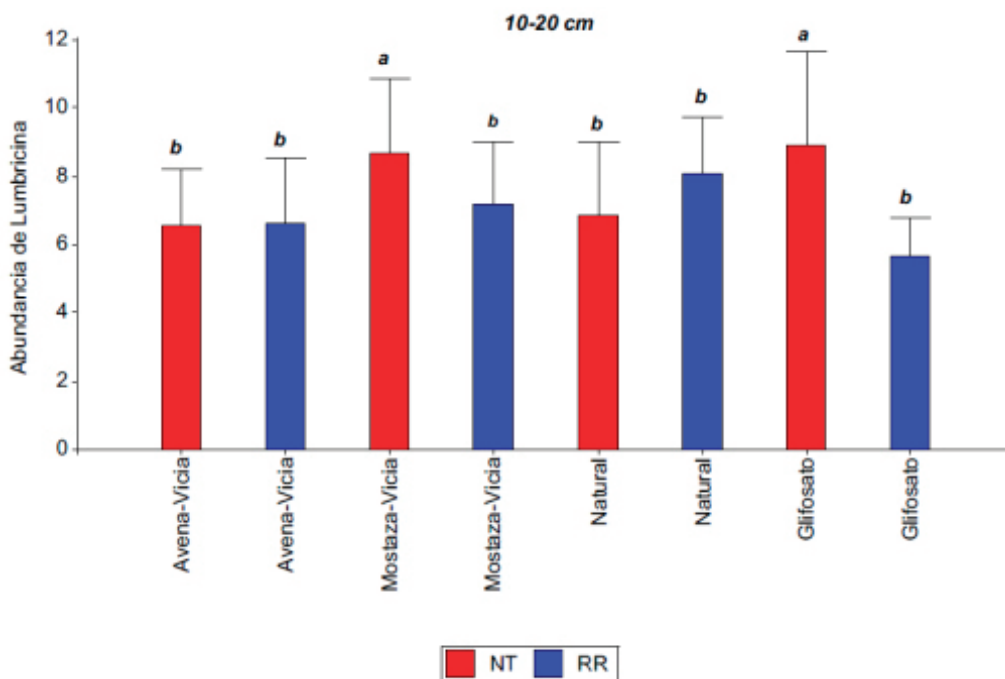
- Anderson, J.M., Ingram, J.S.I. 1993. *Tropical Soil Biology and Fertility: A Handbook of Methods*, Second edition. CAB International. Wallingford, UK
- Birch, A.N.E., Griffiths, B.S., Caul, S., Thompson, J., Heckmann-Krogh, P.H., Cortet, J. 2007. The role laboratory, glasshouse and field scale experiments in understanding the interactions between genetically modified crops and soil ecosystems: a review of the ECOGEN project. *Pedobiologia* 51 (3): 251–260.
- Bitzer, R.J., Buckelew, L.D., Pedigo, L.P. 2002 Effects of transgenic herbicide-resistant Soyabeans Varieties and systems on surfaceactive Springtails (Entognatha: Collembola). *Environmental Entomology*. 31 (3): 449-461.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. 2013. *InfoStat, Versión 2013*. Grupo InfoStat. FCA, UNC, Córdoba, Argentina.
- Duke, S.O. 2005. Taking stock of herbicide-resistant crops ten years after introduction. *Pest Management Science*. 61 (3): 211–218.
- Dunfield, K.E., Germida, J.J. 2004. Impact of genetically modified crops on soil- and plant-associated microbial communities. *Journal of Environmental Quality*. 33 (3): 806–815.
- Firbank, L.G., Heard, M.S., Woiwod, I.P., Hawes, C., Houghton, A.J., Champion, G.T., Scott, R.J., Hill, M.O., Dewar, A.M., Squire, G.R., May, M.J., Brooks, D.R., Bohan, D.A., Daniels, R.E., Osborne, J.L., Roy, D.B., Black, H.I.J., Rothery, P., Perry, J.N. 2003. An introduction to the Farm-Scale Evaluations of genetically modified herbicide-tolerant crops. *Journal of Applied Ecology*. 40 (1): 2–16.
- Halpin, C., Boerjan, W. 2003. Stacking trans- genes in forest trees. *Trends in Plant Science*. 8 (8): 363- 365.

- Haughton, A.J., Champion, G.T., Hawes, C., Heard, M. S., Brooks, D. R., Bohan, D. A., Clark, S.J., Dewar, A.M., Firbank, L.G., Osborne, J.L., Perry, J.N., Rothery, P., Roy, D.B., Scott, R.J., Woiwod, I.P., Birchall, C., Skellern, M.P., Walker, J.H., Baker, P., Browne, E.L., Dewar, A.J., Garner, B.H., Haylock, L.A., Horne, S.L., Mason, N.S., Sands, R.J., Walker, M.J. 2003. Invertebrate responses to the management of genetically modified herbicide-tolerant and conventional spring crops II. Within field epigeal and aerial arthropods. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*. 358 (1439): 1863–1877.
- Imura, O., Shi, K., Limura, K., Takamizo, T. 2010. Assessing the effects of cultivating genetically modified glyphosate-tolerant varieties of soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.) on populations of field arthropods. *Environmental Biosafety Research*. 9 (2): 101–112.
- Jasinski, J.R., Easley, J.B., Young, C.E., Kovach, J., Wilson, H. 2003. Select nontarget arthropod abundance in transgenic and nontransgenic field crops in Ohio. *Environmental Entomology*. 32 (2): 407–413.
- Kowalchuk, G.A., Bruinsma, M., van Veen, J.A. 2003. Assessing responses of soil microorganisms to GM plants. *Trends Ecology and Evolution*. 18 (8): 403-10.
- Saxena, D., Stotzky, G. 2001. *Bacillus thuringiensis* (Bt) toxin released from root exudates and biomass of Bt corn has no apparent effect on earthworms, nematodes, protozoa, bacteria, and fungi in soil. *Soil Biology and Biochemistry*. 33 (9): 1225–1230.
- Turrini, A., Sbrana, C., Giovannetti, M. 2015. Belowground environmental effects of transgenic crops: a soil microbial Perspective. *Research in Microbiology* 166 (3): 121-131.
- Wolmarans, K., Swart, W. 2014. Influence of glyphosate, other herbicides and genetically modified herbicide-resistant crops on soil microbiota: a review. *South African Journal of Plant and Soil*. 31(4): 177–186.

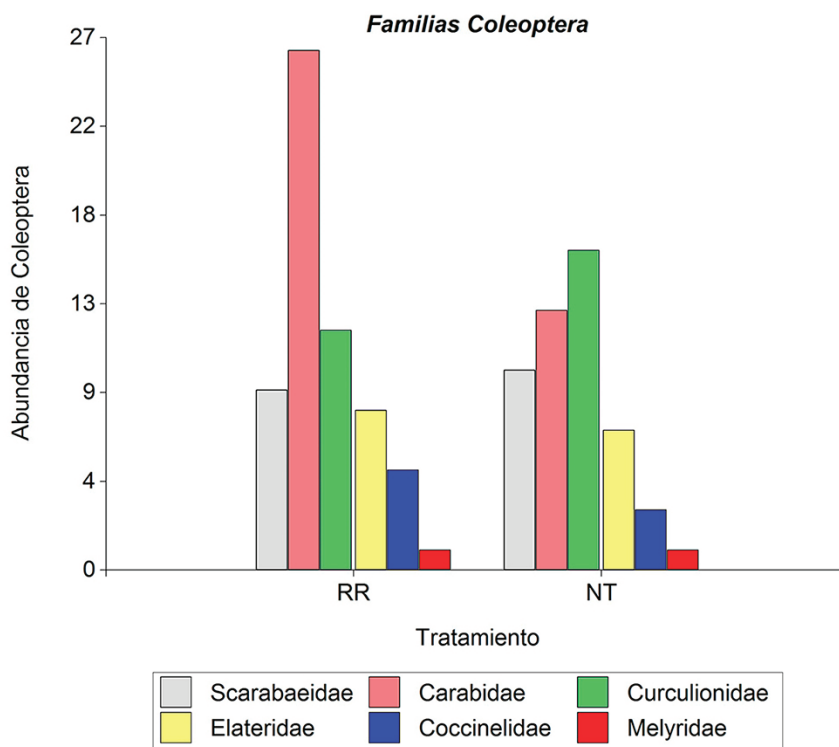
**Figura 1.** Abundancia total y de los grupos más relevantes de macrofauna. Parcelas con soja transgénica (RR) y soja convencional (NT). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 2.** Abundancia de Lumbricina de 10 a 20 cm en parcelas con soja RR y NT, considerando los tratamientos invernales. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 3.** Abundancia de las familias de Coleoptera en parcelas RR y NT, para los cuatro tratamientos invernales juntos.



**Tabla 1.** Composición de grupos taxonómicos de macrofauna en parcelas RR y NT, considerando los tratamientos invernales.

G. taxonóm.	Trat. Natural		Trat. Mostaza - Vicia		Trat. Glifosato		Trat. Avena - Vicia	
	Sub parc RR	Sub parc NT	Sub parc RR	Sub parc NT	Sub parc RR	Sub parc NT	Sub parc RR	Sub parc NT
Lumbricina	462	411	466	528	375	414	413	488
Formicidae	13	4	9	57	42	180	59	51
Arachnida	19	13	21	16	13	11	22	22
Isopoda	11	2	14	0	1	11	13	16
Chilopoda	17	21	27	50	35	27	20	12
Symphyla	0	0	0	0	4	1	0	0
Enchytraeidae	42	18	74	64	32	26	97	58
Nematomorpha	14	12	4	10	12	17	14	10
Hymenoptera	28	4	44	28	7	1	4	30
Hemiptera	1	3	0	3	1	0	0	2
Blattidae	8	16	6	2	7	1	9	7
Gryllidae	2	3	0	3	4	22	0	0
Gryllotalpidae	5	2	2	5	4	6	2	0
Gastropoda	2	1	5	3	0	4	4	1
Coleoptera	23	17	25	17	8	6	13	16



## EVALUACIÓN DE LA CONTRIBUCIÓN DE LOS SIDERÓFOROS ENANTIO-PIOQUELINA Y PIOVERDINA A LA SUPERVIVENCIA DE *PSEUDOMONAS PROTEGENS* EN MICROCOSMOS DE SUELO

Ignacio Drehe, Ester Simonetti y Jimena Ruiz\*

Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales, Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires.

\*jrui@agro.uba.ar

### RESUMEN

La producción de sideróforos permite a los microorganismos competir por el hierro en ambientes en los cuales es limitante, como ocurre en el suelo. *Pseudomonas protegens* sintetiza dos tipos principales de sideróforos: Pioverdina (Pvd) y Enantio-pioquelina (E-Pch).

El objetivo de este trabajo fue comparar la supervivencia de *P. protegens* Pf-5 y de cepas deficientes en la síntesis de Pvd y/o E-Pch en microcosmos de suelo, a fin de evaluar su importancia para la supervivencia en ese ambiente. Los microcosmos consistieron en cajas de Petri conteniendo suelo estéril y no estéril, los cuales se inocularon con las cepas bacterianas. La supervivencia se evaluó mediante la determinación de UFC/g suelo a distintos tiempos. Asimismo, también se comparó la supervivencia de la cepa salvaje con la cepa incapaz de producir tanto Pvd como E-Pch en microcosmos de suelo estéril con el agregado de ácido fusárico (AF: metabolito producido por hongos del género *Fusarium*, que posee la capacidad de quelar hierro), a fin de determinar si existía alguna ventaja para la cepa productora de sideróforos en estas condiciones.

Los resultados obtenidos en suelo estéril mostraron que las cepas capaces de producir Pvd presentaban mayor supervivencia luego de 21 días de permanencia en los microcosmos con respecto a las cepas incapaces de producirla. Este mismo resultado se observó en suelo no estéril, pero a tiempos más cortos. En presencia de AF, la supervivencia de la cepa incapaz de producir Pvd y E-Pch fue marcadamente menor que la de la cepa salvaje. Podemos concluir que la capacidad de producir Pvd incrementa la supervivencia de *P. protegens* en suelo, mientras la capacidad de sintetizar E-Pch no. Este resultado se puede explicar por la baja afinidad de la E-Pch por el hierro, la cual es veinte veces menor que la afinidad de Pvd por este metal.

**Palabras clave:** *P. protegens*, sideróforos, ácido fusárico.

## INTRODUCCION

A pesar de que el hierro es un elemento abundante en la rizósfera, su disponibilidad es limitada, ya que se encuentra principalmente formando óxidos e hidróxidos altamente insolubles [1]. Por este motivo, la síntesis de sideróforos, moléculas que unen y transportan hierro hacia el interior de las células, es un mecanismo que le permite a los microorganismos del suelo competir por el escaso hierro disponible, y además, en el caso de bacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR), limitar la proliferación de fitopatógenos [2].

*Pseudomonas protegens* es una bacteria PGPR conocida por su capacidad de reducción de la aparición de enfermedades generadas por diferentes fitopatógenos del suelo [3, 4]. Esta bacteria produce dos tipos principales de sideróforos: enanto-pioquelina (E-Pch) y pioverdina (Pvd). La constante de afinidad de unión al hierro de la Pvd es veinte veces mayor que la de E-Pch. Sin embargo, bajo condiciones de limitación de hierro leve, la síntesis de E-Pch permite un ahorro energético, dado que la producción de Pvd es energéticamente más costosa [5]. Asimismo, se ha demostrado que la tolerancia de *P. protegens* al ácido fusárico (AF), una micotoxina con capacidad quelante de hierro producida por hongos del género *Fusarium*, está relacionada con la síntesis de sideróforos [6]. La hipótesis de este trabajo es que la producción de los sideróforos E-Pch y Pvd confiere una ventaja adaptativa para la supervivencia de *P. protegens* en suelo. El objetivo fue comparar la supervivencia de la cepa salvaje de *P. protegens* y mutantes deficientes en la síntesis de Pvd y/o E-Pch en microcosmos de suelo estéril, no estéril y en presencia de AF. Este es el primer trabajo en el cual se analiza la contribución de los dos principales sideróforos de *P. protegens* Pf-5 (Pvd y E-Pch) a la supervivencia en suelo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### CEPAS BACTERIANAS Y CONDICIONES DE CRECIMIENTO

Las cepas utilizadas se muestran en la Tabla 1. Las mismas se cultivaron en un agitador orbital a 30°C en medio King B durante toda la noche [7]. Una vez crecidos, los cultivos se centrifugaron a 4000 rpm durante 5 minutos y se lavaron dos veces con buffer fosfato 10 mM estéril ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  8,7 mM;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  1,3 mM). Finalmente se prepararon suspensiones bacterianas con una  $\text{DO}_{600}=0,25$  (aproximadamente  $7,5 \times 10^7$  UFC/ml) en el mismo buffer, con o sin el agregado de AF.

Para la construcción de cepas se realizó la introducción estable del transposon mini-Tn5, que porta resistencia a gentamicina (Gm), en el genoma de las cepas de *P. protegens*. Estas cepas se utilizaron para realizar los experimentos de

supervivencia en suelo no estéril. La introducción del mini-Tn5 se llevó a cabo mediante conjugación triparental utilizando un protocolo previamente descrito [8]. *Escherichia coli* CC118  $\lambda$  pir [9], con el plásmido pBAMD1-2 [8] se utilizó como cepa dadora. Como cepa "helper" se utilizó *E.Coli* HB101 con el plásmido pRK600 [10]. Esta cepa proporciona en *trans* la maquinaria de transferencia. La selección de las transcojugantes se realizó en medio mínimo M9 con citrato de sodio como fuente de carbono conteniendo Gm.

#### CARACTERÍSTICAS DEL SUELO Y DISEÑO DE LOS MICROCOSMOS

Se utilizó suelo de vivero con un pH=6.4, bajo contenido de materia orgánica (3,41%) y 54 ppm de hierro extractable. Los microcosmos de suelo consistieron en placas de Petri de 5 cm de diámetro conteniendo 7 g de suelo seco distribuidos homogéneamente. Se agregó agua destilada estéril, para obtener un porcentaje de humedad de 22% (v/m). En el caso de los microcosmos estériles, el suelo se secó a 50°C durante 3 días y se esterilizó por radiación gamma, con una dosis entre 25 y 40 KGy.

#### RECUESTO DE CÉLULAS VIABLES

El suelo contenido en cada caja de Petri se resuspendió en buffer fosfato 10 mM con el agregado de Tween 80 0,05 % (v/v) y se colocó durante 1 h en un agitador a temperatura ambiente. Se realizaron diluciones seriadas en solución fisiológica con Tween 80 0,05 % (v/v), las cuales se sembraron en agar nutritivo, con los antibióticos correspondientes en caso necesario. Las placas se incubaron a 30°C durante 24 hs. Se realizaron recuentos el día de la inoculación del suelo y a distintos tiempos post-inoculación para obtener el número de UFC/g de suelo seco.

### RESULTADOS Y DISCUSION

#### MICROCOSMOS DE SUELO ESTÉRIL

Se comparó la supervivencia de la cepa salvaje Pf-5 y sus mutantes isogénicas, Pf-21 ( $\Delta pvdF$ ), Pf-4 ( $\Delta pchF$ ) y Pf-21.10 ( $\Delta pvdF$  y  $\Delta pchF$ ) en microcosmos de suelo estéril. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura 1.

Luego de 7 días post-inoculación se observó que el número de UFC/g suelo seco aumentó alrededor de un orden de magnitud para las cepas productoras de Pvd y/o E-Pch. *P. protegens* Pf-21.10 mostró un incremento menor (Figura 1A). Esto puede deberse a que al no producir Pvd y/o E-Pch, la captura del hierro es menos eficiente, y su crecimiento se ve limitado por la disponibilidad de dicho metal. Transcurridos 14 días post-inoculación el

número de UFC/g suelo seco disminuyó en todas las cepas, obteniéndose un número cercano a  $4 \times 10^7$  UFC/g suelo seco para todas las cepas, sin observarse diferencias significativas entre ellas ( $P < 0,05$ ). Sin embargo, luego de 21 días de permanencia en el suelo, las cepas Pf-21 y Pf-21.10 (incapaces de producir Pvd) mostraron una supervivencia menor ( $P < 0,001$ ) en comparación con las cepas productoras de Pvd (Pf-5 y Pf-4) (Figura 1B). Este mismo resultado se observó el día 28 (Figura 1C). Esto puede explicarse teniendo en cuenta que Pvd posee una afinidad por el hierro ( $K_f = 10^{24} \text{ M}^{-1}$ ) mucho mayor que E-Pch ( $K_f = 10^5 \text{ M}^{-1}$ ) [11], y sugiere que a largo plazo, la síntesis de Pvd, el sideróforo con mayor afinidad por el hierro, incrementa la supervivencia de *P. protegens* en el suelo.

#### MICROCOSMOS DE SUELO NO ESTÉRIL

En suelo no estéril, se observó una marcada disminución en el número de UFC /g suelo seco para todas las cepas luego de su inoculación en suelo (Figura 2). En los recuentos realizados a los 7, 10 y 14 días se observaron diferencias significativas (Figuras 2 B, C y D respectivamente) ( $P < 0,05$ ) entre el número de UFC/g de suelo seco entre las cepas productoras y no productoras de Pvd, presentando las últimas valores más bajos de UFC/g suelo seco. Estos resultados muestran que las cepas capaces de sintetizar Pvd presentan una mayor supervivencia en presencia de la comunidad bacteriana del suelo.

#### MICROCOSMOS DE SUELO ESTÉRIL CON EL AGREGADO DE ÁCIDO FUSÁRICO (AF)

Se comparó la supervivencia de la cepa salvaje Pf-5, con la cepa incapaz de producir sideróforos Pf-21.10 ( $\Delta pvdF \Delta pchF$ ) en suelo estéril con distintas concentraciones de AF (Figura 3).

Transcurridos 7 días post-inoculación, no se observaron diferencias entre los distintos tratamientos para ambas cepas. Sin embargo, luego de 28 días se observó que para la cepa Pf-21.10, conforme aumentaba la concentración de AF, menor era el número de UFC/g suelo seco (Figura 3B). Para *P. protegens* Pf-5, la densidad celular no disminuyó al agregar AF (Figura 4A). Estos resultados muestran que la capacidad de producir Pvd permite a *P. protegens* incorporar hierro aún en presencia de AF, con frecuencia presente en su ambiente natural.

#### CONCLUSIONES

La supervivencia de *P. protegens* en suelo disminuye rápidamente en presencia de la comunidad bacteriana endógena, probablemente debido a factores tales como la competencia y la predación.

La capacidad de síntesis de Pvd confiere una ventaja para la supervivencia de *P. protegens* en suelo, en ausencia y presencia de la comunidad bacteriana endógena, no así la de E-Pch.

La capacidad de producción de sideróforos incrementa la supervivencia en presencia de un quelante de hierro en el suelo.

**Institución financiadora:** Subsidio UBACYT 20020130200117BA, Universidad de Buenos Aires.

## BIBLIOGRAFÍA

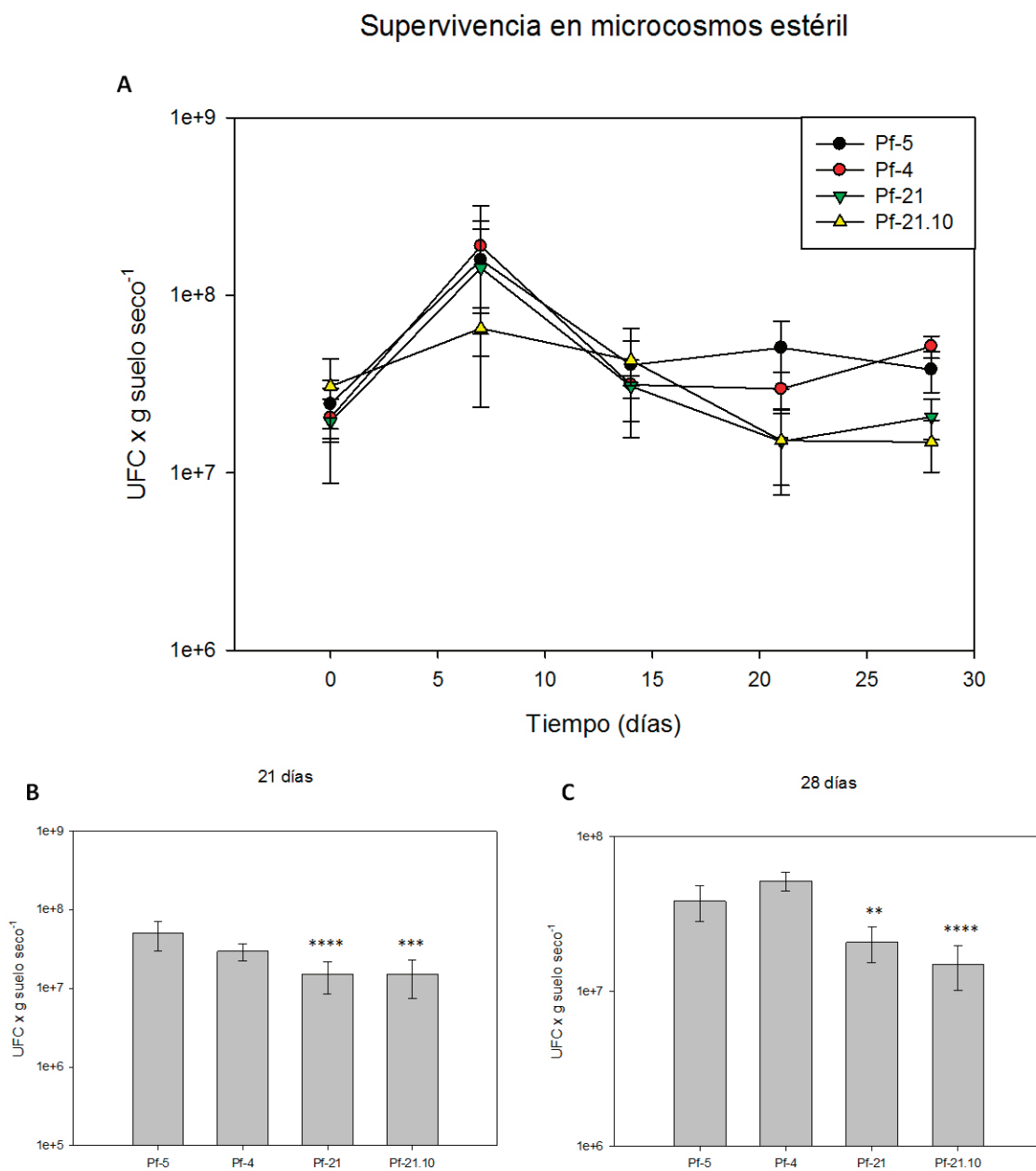
1. Vasil, M.L. and U.A. Ochsner, *The response of Pseudomonas aeruginosa to iron: genetics, biochemistry and virulence*. Mol Microbiol, 1999. **34**(3): p. 399-413.
2. Sullivan, O. and O´Gara, *Trait of Fluorescents Pseudomonas spp. involved in Suppression of Plant Root Pathogens*. Microbiological Review, 1992. **56**: p. 662-676.
3. Suslow, T.V., et al., *Beneficial bacteria enhance plant growth*. CALIFORNIA AGRICULTURE, 1979.
4. Mirleau, P., et al., *Fitness in soil and rhizosphere of Pseudomonas fluorescens C7R12 comparez with a C7R12 mutant affected in pyoverdine synthesis and uptake*. FEMS Microbiology Ecology, 2000. **34**: p. 35-44.
5. Dumas, Z., A. Ross-Gillespie, and R. Kummerli, *Switching between apparently redundant iron-uptake mechanisms benefits bacteria in changeable environments*. Proc Biol Sci, 2013. **280**(1764): p. 20131055.
6. Ruiz, J.A., E.M. Bernar, and K. Jung, *Production of siderophores increases resistance to fusaric acid in Pseudomonas protegens Pf-5*. PLoS One, 2015. **10**(1): p. e0117040.
7. King, E.O., M.K. Ward, and D.E. Raney, *Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin*. J Lab Clin Med, 1954. **44**(2): p. 301-7.
8. Martinez-Garcia, E., et al., *New transposon tools tailored for metabolic engineering of gram-negative microbial cell factories*. Front Bioeng Biotechnol, 2014. **2**: p. 46.

9. Herrero, M., V. de Lorenzo, and K.N. Timmis, *Transposon vectors containing non-antibiotic resistance selection markers for cloning and stable chromosomal insertion of foreign genes in gram-negative bacteria*. J Bacteriol, 1990. **172**(11): p. 6557-67.
10. Boyer, H.W. and D. Roulland-Dussoix, *A complementation analysis of the restriction and modification of DNA in Escherichia coli*. J Mol Biol, 1969. **41**(3): p. 459-72.
11. Poole, K. and G.A. McKay, *Iron acquisition and its control in Pseudomonas aeruginosa: many roads lead to Rome*. Front Biosci, 2003. **8**: p. d661-86.
12. Howell, C.R. and R.D. Stipanovic, *Control of Rhizoctonia solani on Cotton Seedlings with Pseudomonas fluorescens and With an Antibiotic Produced by the Bacterium*. Phytopathology, 1978. **69**: p. 480-482.

**Tabla 1:** Cepas de *P.protegens* utilizadas en este trabajo.

<b>Cepas de <i>P.protegens</i></b>	<b>Genotipo relevante o descripción</b>	<b>Referencia o Fuente</b>
<b>Pf-5</b>	Cepa salvaje	[12]
<b>Pf-4</b>	$\Delta pchF$ , incapaz de producir E-Pch	[6]
<b>Pf-21</b>	$\Delta pvdF$ , incapaz de producir Pvd	[6]
<b>Pf-21.10</b>	$\Delta pvdF \Delta pchF$ , incapaz de producir Pvd y E-Pch	[6]
<b>Pf-5A</b>	Cepa salvaje; Gm <sup>r</sup>	Este trabajo
<b>Pf-4A</b>	$\Delta pchF$ , incapaz de producir E-Pch; Gm <sup>r</sup>	Este trabajo
<b>Pf-21A</b>	$\Delta pvdF$ , incapaz de producir Pvd; Gm <sup>r</sup>	Este trabajo
<b>Pf-21.10A</b>	$\Delta pvdF \Delta pchF$ , incapaz de producir Pvd y E-Pch; Gm <sup>r</sup>	Este trabajo

**Figura 1.** Supervivencia en microcosmos de suelo estéril: A Se muestran los valores de los recuentos obtenidos a distintos tiempos de permanencia en los microcosmos de suelo estéril. Los valores representan el promedio de UFC/g de suelo de tres microcosmos independientes  $\pm$  D.S. B y C: Gráficos de barra donde pueden observarse los recuentos obtenidos a los 21 y 28 días respectivamente. Los datos fueron analizados usando la prueba estadística ANOVA de un factor. Los asteriscos representan diferencias significativas respecto a la cepa Pf-5: \*\* P<0,01; \*\*\* P<0,001 y \*\*\*\*: P<0,0001



**Figura 2.** Supervivencia en microcosmos de suelo no estéril: Se muestran los valores de los recuentos obtenidos a los 7 A), 10 B) y 14 días C) de permanencia en los microcosmos de suelo no estéril. Los valores representan el promedio de UFC/g de suelo de tres microcosmos independientes  $\pm$  D.S. Los datos fueron analizados usando la prueba estadística ANOVA de un factor. Los asteriscos representan diferencias significativas respecto a la cepa Pf-5: \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; y \*\*\*  $P < 0,001$ .

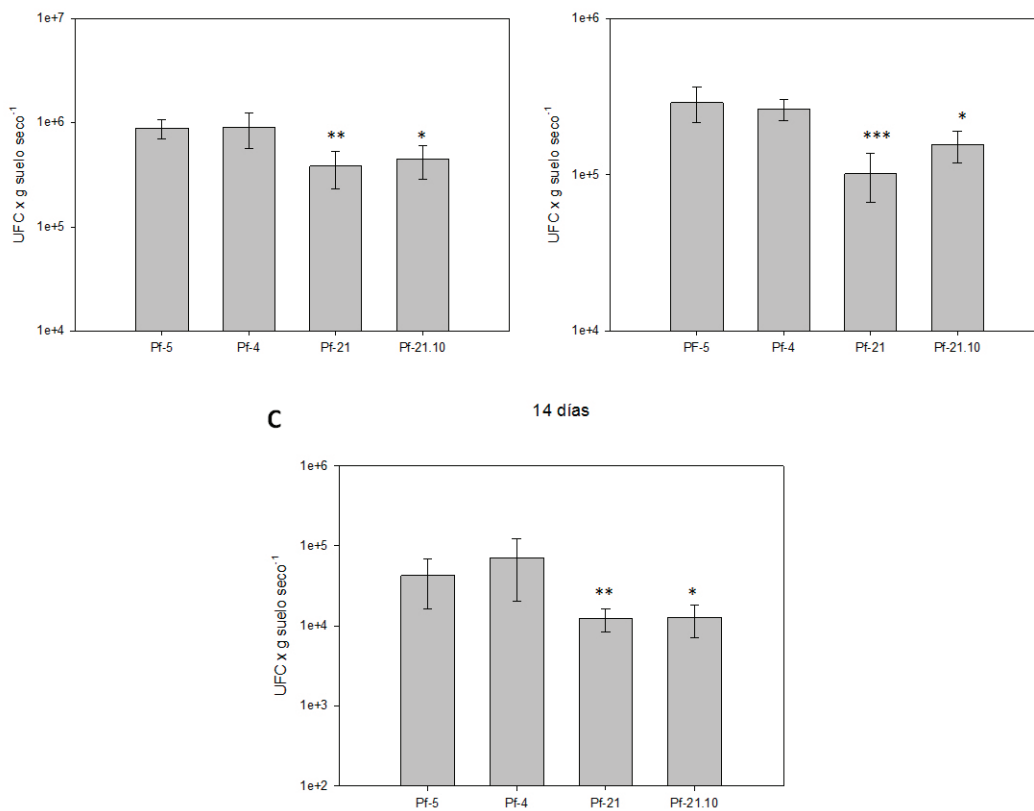
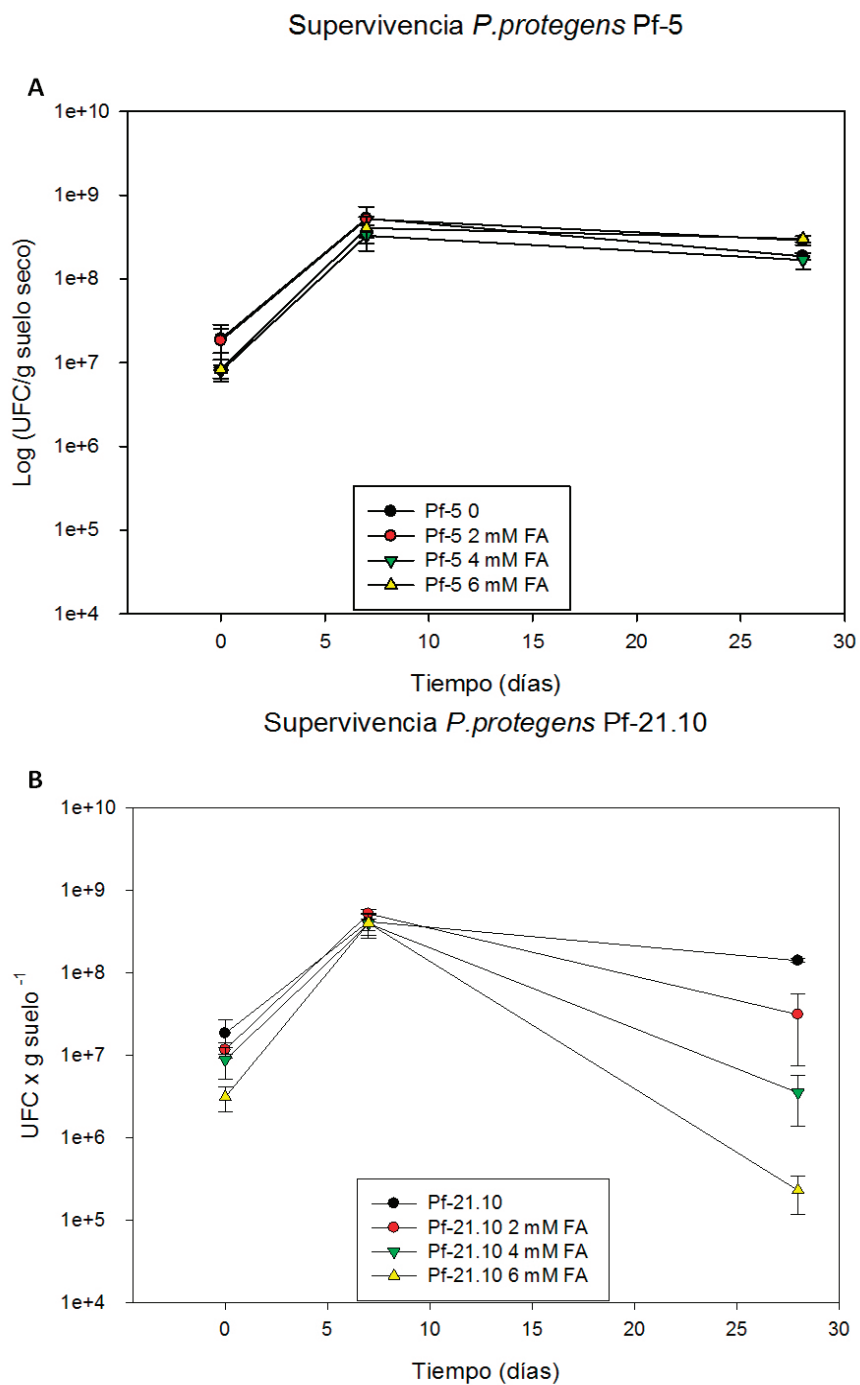




Figura 4. Curva de supervivencia de *Pseudomonas protegens* Pf-5 (WT) (A), y Pf-21.10 ( $\Delta$ pvdF  $\Delta$ pchF) (B) en microcosmos de suelo estéril con ácido fusárico. Se muestran los valores de los recuentos obtenidos a distintos tiempos de permanencia en los microcosmos de suelo estéril con ácido fusárico  $\pm$  D.S. Los valores representan el promedio de UFC/g de suelo de tres microcosmos independientes.



## **CARACTERIZACIÓN DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS PRESENTES EN RIZOSFERA, RAÍCES Y SEMILLAS DE PLANTAS DE SORGO DE ALEPO RESISTENTES Y SUSCEPTIBLES AL GLIFOSATO**

*Escobar Ortega J.S., Piran Balcarce A., Muñoz, M.S., Morello J.P., Scursoni J., García de Salamone IE (\*).  
Universidad de Buenos Aires, Facultad de Agronomía  
\* Avda. San Martín 4453 CABA, (1417).*

### **RESUMEN**

El uso reiterado del glifosato produce resistencia al mismo en malezas como el sorgo de Alepo. Se estudiaron las comunidades microbianas asociadas a semillas y rizosfera+raíces de distintos genotipos de esta maleza, tanto resistentes como susceptibles. Se obtuvieron distintas poblaciones de sorgo de Alepo provenientes de lotes y banquetas de rutas de la Región Pampeana (Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba) y del Noroeste Argentino (Salta). Además, se realizó un ensayo en campo experimental para obtener su progenie y caracterizar la respuesta a la aplicación del herbicida. En semillas y rizosfera+raíces se caracterizaron los perfiles de utilización de fuentes carbono de las comunidades microbianas y se cuantificaron los microorganismos celulolíticos, nitrificadores y degradadores de glifosato. Las semillas de las poblaciones 2, 26, 39, 40, 51 y 99 presentaron una supervivencia mayor al 50%. Las poblaciones 2, 26, 39, 51 y 99 mostraron una resistencia alta (RA) y la población 40 mostró una resistencia baja (RB). La población 72, presentó la más alta susceptibilidad al glifosato (0% supervivencia observada) y los perfiles fisiológicos de sus comunidades microbianas asociadas se diferenciaron ampliamente del resto. Las comunidades microbianas de plantas provenientes de semillas de las poblaciones 32, 44 y 72 se agruparon diferenciándose del resto y tuvieron el índice H de diversidad más elevado. En raíces+rizosfera, las cantidades de celulolíticos no variaron, pero si los nitrificadores con recuentos más elevados en las poblaciones 31, 40 y 72. La población 31 no se diferenció de ninguna población mientras la 40 y la 30 fueron diferentes. Las poblaciones 30, 32, 39, 41 y 44 se diferenciaron de 72. El NMP de degradadores de glifosato de la población 30 (SA) fue significativamente menor al de las poblaciones 32 (SB), 39 (RA), y 40 (RB). Estas observaciones podrían explicar la resistencia generada al herbicida glifosato.

**Palabras clave:** rizosfera, microorganismos, perfiles fisiológicos de uso de fuentes carbonadas, herbicida,

## INTRODUCCIÓN

En los últimos años se han producido grandes cambios en las poblaciones de malezas de la Argentina, y la principal razón es el uso indiscriminado que se hace del herbicida glifosato (Rainero, 2008; Papa, 2008). Los primeros casos registrados de resistencia a este agroquímico en la Argentina fueron biotipos de sorgo de Alepo. El número de casos y su área de distribución fue aumentando llegando hasta la región sojera núcleo (Tuesca *et al.*, 2007).

La mayoría de los microorganismos edáficos viven en la rizosfera que es la capa de suelo que está influenciada por las raíces vegetales y la porción más compleja y activa del mismo (Paul y Clark 1996). Las asociaciones microorganismo-planta pueden ser beneficiosas, dañinas o neutras (García de Salamone *et al.*, 2012) y tienen un rol fundamental en la desintoxicación (López Martínez *et al.*, 2005) y la descomposición de la materia orgánica (León *et al.*, 2008). El crecimiento de diferentes microorganismos fue afectado negativamente por el glifosato (Conde, 2011; Sáenz y Di Marzio 2009; Escobar Ortega 2016; Haney *et al.*, 2000). La actividad y la diversidad de las comunidades microbianas rizosféricas de malezas podría relacionarse con su nivel de tolerancia al herbicida glifosato. Así, las comunidades microbianas presentes tanto en la rizosfera como en las semillas de diversas poblaciones podrían estar relacionadas con la resistencia a este herbicida. Esto podría deberse a la capacidad degradadora del glifosato que tienen algunos microorganismos, siendo la transformación microbiana la principal vía de degradación del herbicida presente en el suelo.

En base a lo expresado hasta aquí, en este trabajo se caracterizaron las comunidades microbianas asociadas tanto a la rizosfera+raíces como dentro de las semillas de distintas poblaciones de sorgo de Alepo del país.

### **Materiales y Métodos**

Se analizaron las catorce poblaciones de sorgo de Alepo traídas de lotes y banquinas de rutas de la Región Pampeana (Buenos Aires, Santa Fe, Córdoba) y del Noroeste Argentino (Salta). Se consideraron tres repeticiones para cada población. Las semillas fueron previamente esterilizadas superficialmente y cada repetición incluyó 3 semillas estériles molidas en un mortero. Se prepararon diluciones decimales sucesivas hasta  $10^{-4}$ . Con ocho de estas poblaciones, que presentaron distintos niveles de susceptibilidad al glifosato se condujo un ensayo en un campo experimental de la Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires (34°35'S, 58°29'W). Se utilizaron tres macetas de cada población sin agregado de glifosato. Para obtener las muestras de raíces+rizosfera se utilizó un barreno en el centro de cada maceta sin dañar los tallos de las plantas, considerando los 15 cm de profundidad de cada maceta. También se obtuvo una muestra de semillas producidas de cada una de las macetas

cuyas raíces+rizosfera fueron analizadas. Las muestras fueron procesadas y se caracterizaron los perfiles de utilización de fuentes carbonadas y se realizaron recuentos de microorganismos celulolíticos, nitrificadores y degradadores de glifosato, según describieron García de Salamone *et al.*, (2010) y Escobar Ortega (2016). Se utilizó el programa estadístico INFOSTAT Profesional 1.1. (Rienzo *et al.*, 2011) para el análisis de los datos obtenidos

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De las semillas recolectadas en sus hábitats naturales, fueron las correspondientes a las poblaciones 2, 26, 39, 40, 51 y 99 las que presentaron una supervivencia mayor al 50% (Tabla 1). Las poblaciones 2, 26, 39, 51 y 99 mostraron una resistencia alta (RA) y la población 40 mostró una resistencia baja (RB). La población 72, presentó la más alta susceptibilidad (SA) al glifosato (0% supervivencia observada) y los perfiles fisiológicos de sus CM asociadas se diferenciaron ampliamente del resto. Las comunidades microbianas de plantas provenientes de semillas de las poblaciones 32, 44 y 72 se agruparon diferenciándose del resto (Figura 1). El índice H de diversidad fue el más elevado en semillas de esta población (Tabla 1). En general las poblaciones más susceptibles tuvieron los valores más elevados del índice H de diversidad. En las muestras de raíces+rizosfera de las ocho poblaciones ensayadas, las cantidades de celulolíticos no variaron, pero lo opuesto ocurrió con los nitrificadores (Tabla 2). Así, las poblaciones 31, 40 y 72 presentaron los valores más elevados de estos microorganismos. La población 31 no se diferenció de ninguna población y la 40 solo se diferenció de la población 30. La población 72 se diferenció de las poblaciones 30, 32, 39, 41 y 44. El glifosato casi no es degradado por la mayoría de las plantas, lo que lleva a que sea un herbicida no selectivo (Duke y Powles, 2008). Sin embargo, pudimos observar que las comunidades microbianas presentes mostraron diferencias significativas en cuanto a la degradación de este herbicida (Tabla 2). La población 30 (SA) mostró un NMP significativamente menor al de las poblaciones 32 (SB), 39 (RA), y 40 (RB). Estas diferencias observadas en las comunidades microbianas asociadas a las distintas poblaciones de la maleza podrían ser una explicación de la resistencia generada por ellas al herbicida glifosato.

En cuanto al análisis discriminante de las comunidades microbianas presentes en las semillas de las 8 poblaciones de sorgo de Alepo provenientes del ensayo en campo experimental también se encontraron diferencias en los perfiles de utilización de fuentes carbonadas entre y dentro de las poblaciones (Figura 2).

Los perfiles de utilización de fuentes carbonadas de las comunidades microbianas presentes en semillas y raíces+rizosfera no son similares, pero ambos permitieron distinguir diferencias entre las poblaciones de sorgo de Alepo.

Esto indica la potencia de la metodología aplicada ya descrita previamente para distinguir las comunidades microbianas cuando se aplican distintos tipos de tratamientos a diversos tipos de muestras ambientales (Di Salvo y García de Salamone 2012).

Este es el primer trabajo que relaciona las características de las comunidades microbianas asociadas a una maleza con el nivel de susceptibilidad a un herbicida mostrando variabilidad genotípica. Dado que se han utilizado métodos de cultivo microbiano, los cambios observados son muy relevantes pues el análisis de una minoría que está en estado cultivable ha sido suficiente para encontrar dichas diferencias. Claramente las plantas durante su crecimiento seleccionan las comunidades microbianas que permanecen en las semillas. Esto parece que tiene influencia o relación con la susceptibilidad al herbicida glifosato que tienen las plantas de sorgo de Alepo.

## **CONCLUSIONES**

Se lograron caracterizar cuantitativamente las comunidades microbianas presentes en raíces+rizosfera como a las presentes dentro de las semillas de las distintas poblaciones de sorgo de Alepo analizadas. En algunos casos se observó un agrupamiento entre poblaciones resistentes que se diferenciaban de poblaciones susceptibles, pero esto no fue determinante para todos los casos. La población 72 (SA), se diferenció significativamente en la mayoría de los análisis hechos tanto para semillas del ensayo, como las provenientes de sus hábitats naturales y para las raíces+rizosfera de las demás poblaciones de esta maleza.

## **BIBLIOGRAFÍA**

- Conde, A.P. 2011. Efecto del glifosato sobre comunidades microbianas benéficas y patógenas del suelo en Uruguay. Tesis de maestría. PEDECIBA, Montevideo.
- Di Rienzo, J., Casanoves, F., Balzarini, M., Gonzalez, L., Tablada, M. y Robledo C. 2011. InfoStat, Versión 2011. Grupo InfoStat. FCA, UNC, Córdoba, Argentina.
- Di Salvo, L.P. y Garcia de Salamone, I.E. 2012. Laboratory standardization of an economical and reliable technique to evaluate physiological profiles of soil-microbial communities (CLPP). *Ecologia Austral* 22:129-136.
- Duke, S.O., Powles, S.B. 2008. Glyphosate: a once in a century herbicide. *Pest Manag. Sci.*, v. 64, p. 319-325.

- Escobar Ortega, J.S. 2016. Ecología microbiana de cultivos de cobertura manejados con glifosato. Tesis de Maestría, Universidad Nacional de San Martín.
- García de Salamone, I.E. 2012. Microorganismos promotores del crecimiento vegetal. *Informaciones Agronómicas de Hispanoamerica*. 5: 12-16. Internacional Plant Nutrition Institute (IPNI). ISSN. 2222-016X.
- García de Salamone, I.E., Di Salvo, L.P., Escobar Ortega, J.S., Boa Sorte, M.P.; Urquiaga, S., Dos Santos Teixeira, K.R. 2010. Plant and Soil. Field response of rice paddy crop to inoculation with *Azospirillum*: physiology of rhizosphere bacterial communities and the genetic diversity of endophytic bacteria in different parts of the plants. 336:351-362. DOI: 10.1007/s11104-010-0487-y.
- Haney, R.L., Senseman, S.A., Hons, F.M., Zubeber, D.A. 2000. Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Sci*. 48: 89-93.
- León, J.D., Díez, M.C., Castellanos, J., Osorio, L.F., Marín, N. 2008. Grupos funcionales de microorganismos en suelos degradados por minería de aluvión plantados con *Acacia mangium*. *Suelos Ecuatoriales* 38: 75-80.
- López Martínez, S., Gallegos Martínez, M.E., Pérez Flores L.J. y Gutiérrez Rojas, M. 2005. Mecanismos de fitorremediación de suelos contaminados con moléculas orgánicas xenobióticas. *Rev. Int. Contam. Ambient.* 21 (2) 91-100.
- Madigan, M.T., Martinko, J.M., Parker, J. 2000. *Brock Biology of Microorganisms*. 8th Edition 1997. 9th Edition. Prentice Hall, N. J. USA.
- Papa, J.C. 2008. Malezas tolerantes y resistentes a herbicidas. INTA – Estación Experimental Agropecuaria Rafaela. Información técnica cultivos de verano. Publicación Miscelánea N°112. (Disponible en: file:///C:/Users/Agustin%20Piran/Desktop/Tesis/lectura%20bibliografia/misc112\_143.pdf)
- Paul, E.A., Clark, F.E. 1996. *Soil microbiology and Biochemistry*. Academic Press, Inc., San Diego. California. U.S.A. pp.273.
- Rainero, H.P. 2008. Problemática del manejo de malezas en sistemas productivos actuales. Estación Experimental Agropecuaria Manfredi Boletín de Divulgación Técnica N° 3. (Disponible en: <http://agrolluvia.com/wp-content/uploads/2014/03/Problematika-del-manejo-de-malezas.pdf>).
- Sáenz M.E. y Di Marzio, W.D. 2009. Ecotoxicidad del herbicida Glifosato sobre cuatro algas clorófitas dulceacuícolas. *Limnetica*, 28 (1): 149-158

Tejada, M. 2009. Evolution of soil biological properties after addition of glyphosate, diflufenican and glyphosate more diflufenican herbicides. *Chemosphere*. 76: 365-373.

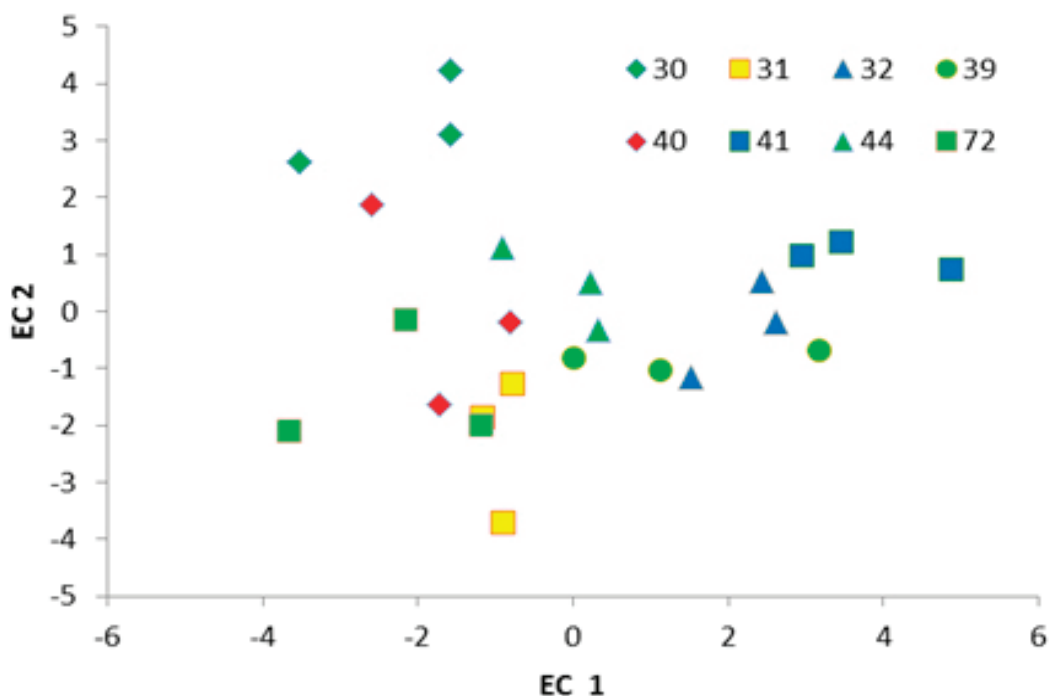
Tuesca, D., Nisensohn, L. y Papa, J.C. 2007. Para estar alerta: el Sorgo de alepo (*Sorghum halepense*) resistente a Glifosato. SOJA - 36 – INTA EEA Oliveros. (Disponible en: <http://agrolluvia.com/wp-content/uploads/2009/09/o-sorgo-de-alepo-resistente-a-glifosato-para-estar-alerta.pdf>)

**Tabla 1.** Análisis discriminante y promedios de las tres repeticiones de los perfiles de utilización de las fuentes carbonadas e índice H de diversidad de comunidades microbianas presentes dentro de las semillas de las 14 poblaciones de sorgo de Alepo provenientes de sus hábitats naturales. Entre paréntesis se describe el grado de susceptibilidad o resistencia al glifosato: SA, susceptibilidad alta; SB, susceptibilidad baja; RA, resistencia alta; RB, resistencia baja. Medias con igual letra, para cada eje canónico, son similares según la prueba Tukey ( $p \leq 0.05$ ).

Población de sorgo de Alepo	Eje Canónico 1	Eje Canónico 2	Índice H
2 (RA)	-1.31 A	-1.85 A	1.39 BCD
26(RA)	-1.58 A	-0.15 AB	1.34 ABCD
29((SA)	-1.81 A	-0.70 A	1.36 ABCD
30(SA)	-1.48 A	-0.14 AB	1.31 ABC
31(SA)	-1.88 A	2.16 C	1.5 D
32(SB)	-1.85 A	2.87 C	1.5 D
39(RA)	-2.02 A	-1.25 A	1.28 AB
40(RB)	-1.07 A	-0.91 A	1.21 A
41(SB)	-1.56 A	1.60 BC	1.44 BCD
44 (SA)	-1.16 A	2.35 C	1.48 CD
51 (RA)	-2.17 A	-0.54 A	1.28 AB
62 (SA)	-1.40 A	-1.14 A	1.31 ABC
72 (SA)	22.12 B	0.02 AB	1.77 E
99 (RA)	-1.85 A	-1.74 A	1.35 ABCD

**Figura 1.** Análisis discriminante de los perfiles de utilización de fuentes carbonadas de las comunidades microbianas presentes en las raíces+rizosfera de las 8 poblaciones de sorgo de Alepo cultivadas en macetas en campo experimental. EC 1 y EC 2:

Ejes canónicos 1 y 2.

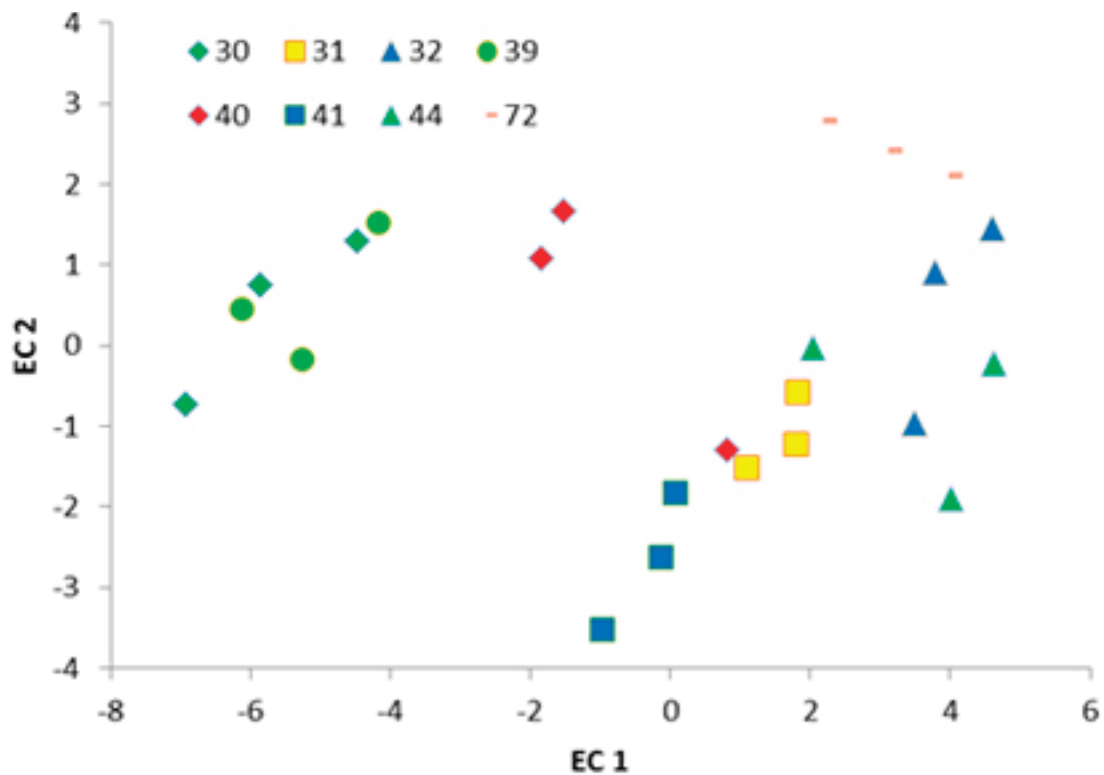


**Tabla 2.** Número más probable (NMP) de microorganismos nitrificadores, celulolíticos y degradadores de glifosato presentes en muestras de raíces+rizosfera de las 8 poblaciones de sorgo de Alepo cultivadas en macetas en campo experimental. Medias con igual letra, para cada tipo microbiano, son similares según la prueba Tukey  $p \leq 0.05$ ). gps: gramos de peso seco.

Población de sorgo de Alepo	NMP (log/gps raíz+rizosfera)		
	Nitrificadores	Celulolíticos	Degradadores de Glifosato
30	7.32 A	7.38 A	6.69 A
31	7.97 ABC	7.17 A	6.92 AB
32	7.7 AB	7.4 A	7.06 B
39	7.75 AB	6.71 A	7.07 B
40	8.05 BC	7.09 A	7.08 B
41	7.49 AB	7.05 A	6.95 AB
44	7.66 AB	7.01 A	6.94 AB
72	8.47 C	7.04 A	7.13 B



**Figura 2.** Análisis discriminante de los perfiles de utilización de fuentes carbonadas de las comunidades microbianas presentes dentro de las semillas de las 8 poblaciones de sorgo de Alepo cultivadas en macetas en campo experimental.  
EC 1 y EC 2: Ejes canónicos 1 y 2.



## BIOMASA MICROBIANA Y RESPIRACIÓN POTENCIAL DEL SUELO EN BOSQUES DE ÑIRE Y PASTIZALES ALEDAÑOS DEL SUR DE SANTA CRUZ

Gargaglione, Verónica (1,2); Gonzalez Polo, Marina (3) y Peri, Pablo Luis (1,2)

1 Estación Experimental INTA Santa Cruz

2 Universidad Nacional de la Patagonia Austral, ICASUR

3 INIBIOMA-CONICET, Universidad Nacional del Comahue

*gargaglione.veronica@inta.gob.ar*

### RESUMEN

En el SO de la provincia de Santa Cruz existe una franja ocupada por bosque nativo, donde predomina *Nothofagus pumilio* y *Nothofagus antarctica* (ñire). Los bosques de ñire son utilizados principalmente como sistemas silvopastoriles con ganado ovino o vacuno. Asimismo, inmediatamente al E del bosque de ñire, existen pastizales naturales de muy buena cobertura vegetal que también son utilizados con pastoreo de manera extensiva. El objetivo de este trabajo fue cuantificar el C en biomasa microbiana (BM) y la respiración potencial del suelo de bosque primario de *N. antarctica*, bosque bajo uso silvopastoril y el pastizal aledaño al bosque. Para esto, se recolectaron muestras de suelo en tres estancias diferentes y se analizó su BM con el método de fumigación-extracción en dos temporadas: primavera y verano y la respiración potencial mediante incubación aeróbica midiendo a los 7, 14, 28 y 41 días. No se encontraron diferencias significativas en BM ni respiración entre bosque primario y bosque bajo uso silvopastoril. Contrariamente, se encontraron diferencias significativas en BM entre el pastizal y el bosque primario; presentando 1112, 881 y 476  $\mu\text{g C/g}$  suelo el bosque primario, bosque silvopastoril y pastizal, respectivamente. La respiración potencial del suelo varió según el ambiente y la fecha. Asimismo, la respiración potencial a los siete días de incubado fue de 519, 672 y 735  $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  de suelo para pastizal, bosque silvopastoril y bosque primario, respectivamente, mientras que al final del período de incubación la respiración fue de 1087, 1400 y 1489  $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  para los mismos ambientes. No se encontraron diferencias significativas en el total  $\text{CO}_2$  respirado acumulado aunque el bosque primario presentó mayor respiración (4454  $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  suelo) y el pastizal la menor (3450  $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  suelo). Sin embargo, al analizar la respiración por unidad de biomasa microbiana se observó que el pastizal liberó significativamente mayor cantidad de  $\text{CO}_2$  por unidad de biomasa microbiana (8,3  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1}$  de BM), seguido por el sistema silvopastoril (5  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1}$  de BM) y el bosque primario (3,7  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1}$  de BM). Los resultados de este estudio muestran que existen diferencias en biomasa microbiana y respiración potencial entre los suelos del bosque y el pastizal aledaño, siendo el bosque primario el que presenta mayores valores

absolutos de BM, aunque en la respiración expresada por unidad de BM el pastizal fue el que presentó los mayores valores, sugiriendo la presencia de mayor proporción de C lábil en comparación con el bosque. Asimismo, se observó que el uso silvopastoril del bosque no estaría afectando significativamente su biomasa microbiana ni la respiración potencial. Sin embargo, los presentes son resultados preliminares correspondientes al primer año de medición, con lo cual es necesario continuar midiendo a fin de observar si se mantiene o se modifican las tendencias observadas.

**Palabras clave:** microorganismos, carbono, sistemas silvopastoriles

## INTRODUCCIÓN

La provincia de Santa Cruz presenta al oeste de su territorio una amplia franja ocupada por bosque andinopatagónico nativo, siendo lenga (*Nothofagus pumilio*) y ñire (*Nothofagus antarctica*) las especies predominantes. El ñire ocupa un total de 159.720 ha en Santa Cruz y el 90 % de estas son utilizadas como sistemas silvopastoriles, donde en una misma unidad de superficie coexisten el bosque, el estrato herbáceo y el ganado ovino o vacuno (Peri et al., 2010). Asimismo, siguiendo hacia el E, en el ecotono con la estepa, se encuentran pastizales naturales que se caracterizan por tener coberturas vegetales altas (80-100%) debido a que cuentan con un régimen de precipitaciones más favorable en comparación a la estepa propiamente dicha. En este ambiente de pastizal también predomina el uso extensivo con pastoreo ovino o vacuno.

La descomposición es un proceso complejo por el cual la materia orgánica es degradada a partículas más pequeñas y a formas solubles de nutrientes que quedan disponibles para la absorción vegetal en parte, y otra parte queda inmovilizada en la biomasa microbiana. Esa desintegración gradual es efectuada por agentes físicos y biológicos (bacterias, hongos, actinomicetos, meso y macrofauna) que realizan la fragmentación (reducción de tamaño), lixiviación (salida de materiales solubles por acción del agua) y mineralización (conversión de una forma orgánica a una inorgánica) de los detritos orgánicos. El componente microbiológico puede servir como indicador del estado general del suelo, pues una alta actividad microbiana es asociada a un buen nivel de fertilidad y constituye un marcador biológico potencialmente útil para evaluar las perturbaciones que puedan presentarse. Los valores rápidamente decrecen con la profundidad y pueden variar según las distintas estaciones del año (Buscot y Varma, 2005; Gonzalez Polo et al., 2013).

En los ambientes de Patagonia, existen muy pocos antecedentes acerca del estudio de la microbiología del suelo (Dube et al., 2009; Gonzalez Polo et al., 2013)

siendo algunos de ellos evaluados en la parte chilena, donde el sistema ha sido más antropizado o bien en la zona de Patagonia norte, donde las condiciones de temperatura y origen de suelos son bien diferentes al extremo sur. En este sentido, en el sur de Patagonia no existen antecedentes de mediciones de los microorganismos del suelo, información que es fundamental como línea de base ambiental y para evaluar los efectos del uso de la tierra sobre la biología del suelo, dado que el C contenido en la biomasa microbiana es un componente lábil del pool de la materia orgánica y es considerado un buen indicador a corto plazo de los efectos de las distintas prácticas del manejo sobre las propiedades biológicas del suelo (Carter and Rennie, 1982; Franzluebbbers et al., 1994) ya que, por ejemplo, suelos disturbados usualmente contienen menores valores de biomasa microbiana. En este contexto, el objetivo del presente trabajo fue evaluar el efecto de los distintos uso de la tierra (bosques primarios de *Nothofagus antarctica*, bosque de *N. antarctica* con uso silvopastoril y pastizal aledaño al bosque) del sur de Santa Cruz sobre los microorganismos del suelo (C en biomasa microbiana y respiración potencial del suelo) en dos estaciones del año. Las mediciones están previstas de efectuarse durante tres años consecutivos, y actualmente se encuentran en ejecución, por lo que en este trabajo se presentan resultados correspondientes al primer año de medición.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### SITIO DE ESTUDIO

El estudio se realizó en tres estancias ubicadas en el sudoeste de la provincia de Santa Cruz: Ea. Cancha Carrera (51° 13' 21" S, 72° 15' 34" O), Tres Marías (51° 19' 05" S, 72° 10' 47" O) y Rincón de los Morros (51°57' 24"S 71°31' 48" O). Todas ellas contienen situaciones de bosque primario de *Nothofagus antarctica* con una cobertura de copas de entre el 75-90%; bosque bajo uso silvopastoril (cobertura de copas alrededor del 50%) con ganado y un pastizal adyacente al bosque, caracterizado por con alta cobertura vegetal (principalmente gramíneas) y con pastoreo ovino-bovino. El clima en toda la zona es templado frío con una temperatura media anual entre 5,5 y 8° C y una precipitación media anual de alrededor de 550 mm. Los suelos pertenecen al orden Molisoles (haploboroles énticos).

En cada sitio de muestreo (n=3 estancias) se tomaron cuatro muestras compuestas por cinco submuestras en los 0-10 cm de profundidad con un tubo de PVC (5,6 cm de diámetro) dos veces al año (inicio de primavera y fin de verano) en tres ambientes diferentes (bosque primario, bosque silvopastoril y pastizal aledaño al bosque). Las muestras colectadas fueron mantenidas en heladera (4°C) hasta su posterior análisis en el laboratorio. El diseño del experimento

corresponde a un diseño factorial con dos factores: ambiente y estación. Las estimaciones del C en biomasa microbiana se realizaron mediante el método de fumigación-extracción (Vance et al., 1987). Se tomaron dos submuestras de 50 g de peso fresco una control y otra para fumigar. Las muestras control fueron extraídas con 50 ml de  $K_2SO_4$  (0,5 M), y agitadas en un agitador horizontal por 1 hora. Las muestras a fumigar fueron colocadas en un desecador junto con un recipiente conteniendo 30 ml de cloroformo libre de etanol, el cual se llevó a ebullición mediante bomba de vacío. Luego se dejó reposar por 24 hs en oscuridad. Finalizado este período, se hizo la extracción y agitación de la misma forma que a las muestras control. Las muestras fueron digeridas con solución sulfocrómica por 30 minutos a 150 °C. La concentración de C de las muestras digeridas se obtuvo mediante la lectura con un espectrofotómetro. Previamente, se realizó una curva de calibración usando biftalato de potasio como patrón. La conversión de C a biomasa microbiana se realizó mediante la fórmula:

C en biomasa microbiana =  $(C_f - C_{nf}) / KEC$  donde:  $C_f$  = Carbono en el extracto fumigado;  $C_{nf}$  = Carbono en el extracto no fumigado; KEC = constante de eficiencia de la fumigación = 0,45 (Jenkinson and Ladd, 1981).

La respiración potencial del suelo se midió mediante la técnica de incubación aeróbica en condiciones óptimas de humedad y temperatura (Robertson et al., 1999). Esta metodología indica que el dióxido de carbono producido a lo largo de la incubación es utilizado como un índice de la cantidad de carbono disponible para los microorganismos. De cada sitio de muestreo en primavera se tomaron 4 muestras de suelo (compuestas por 5 submuestras) del horizonte 0-10 cm de profundidad con un tubo de PVC (5,6 cm de diámetro) y se conservarán a 4° C hasta el análisis. En laboratorio 75 gramos de muestra tamizada (2 mm) se incubaron a capacidad de campo en un recipiente plástico dentro de un frasco de vidrio de 1 litro cerrado herméticamente. En el interior del frasco se colocaron también un vial con agua destilada y otro con 20 ml de hidróxido de sodio (0,5 M) como trampa de  $CO_2$ . La trampa de dióxido fue medida a los 7, 14, 28 y 41 días determinando el contenido de carbono en la trampa por medio de una titulación inversa con un ácido clorhídrico (0,2 M). En cada medición los frascos se ventilaron por 30 minutos y se reemplazó la trampa de  $CO_2$ .

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICOS**

El diseño del experimento corresponde a un diseño factorial con dos factores: uso (bosque primario, silvopastoril y pastizal), y estación (primavera y verano) con tres repeticiones (tres estancias). El C en biomasa microbiana se analizó mediante ANOVAS con el software Infostat 2.0. En caso de encontrar diferencias significativas se realizó el test de Tukey a un nivel de significancia de 0.05.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El contenido inicial de C del suelo fue entre el 6,5 y 7,5 %, mientras que el N fue de alrededor del 0,5 %, en todos los ambientes (Tabla 1). El sitio de pastizal presentó una tendencia de menor relación C:N (11,8) mientras que el bosque primario obtuvo la mayor relación (14,23) (Tabla 1).

No se encontraron diferencias significativas en BM según la estación del año (primavera o verano) en ningún tipo de uso, por este motivo estos datos fueron promediados. En forma contraria, se encontraron diferencias significativas en el C en biomasa microbiana según el tipo de uso del suelo, obteniendo 1112, 881 y 476  $\mu\text{g C g}^{-1}$  de suelo el bosque primario, bosque silvopastoril y pastizal, respectivamente (Figura 1 A). En particular, en la biomasa microbiana del suelo bosque, si bien el sistema silvopastoril presentó menor cantidad en comparación al bosque primario, estas diferencias no fueron significativas (Figura 1 A), por lo que estos datos preliminares estarían indicando que este uso del bosque no afectaría de manera contundente a la biomasa microbiana, aunque podría hacerlo a más largo plazo. Los valores correspondientes al bosque primario son similares a los presentados por Dube et al. (2009) para un bosque de *Nothofagus pumilio* a los 5-10 cm de profundidad y levemente inferiores a los encontrados por Ross et al (1996) en bosques de *Nothofagus solandri* en Nueva Zelanda. En cuanto a los valores en el pastizal, los resultados de este estudio fueron inferiores a los informados por Dube et al. (2009) para una pradera en la Patagonia chilena (1169  $\mu\text{g C g}^{-1}$  suelo) y a su vez superiores a los encontrados por Gonzalez Polo et al. (2015) para un pastizal natural aledaño a un sistema silvopastoril con Pino en la provincia de Río Negro, N de Patagonia (149  $\mu\text{g C g}^{-1}$  suelo).

La respiración potencial del suelo acumulada durante los 41 días de incubación no presentó diferencias significativas entre los distintos usos del suelo, siendo los valores acumulados 4454, 3398 y 3450  $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1}$  de suelo para bosque primario, bosque silvopastoril y pastizal, respectivamente (Figura 1 B). Al analizar la respiración por unidad de biomasa microbiana, se observó que el pastizal liberó significativamente mayor cantidad de  $\text{CO}_2$  por unidad de biomasa microbiana (8,3  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1}$  de BM), seguido por el sistema silvopastoril (5  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1}$  de BM) y el bosque primario (3,7  $\text{mg CO}_2 \text{ mg}^{-1}$  de BM) (Figura 2 C). Estos resultados contrastan con Ross et al (1996) quienes comparando bosques de *Nothofagus solandri* y un pastizal aledaño de coirones encontraron que el bosque respiraba más por unidad de BM (2,4) que el pastizal (1,1). En este caso los autores informaron que el pastizal tenía una mayor cantidad de C en BM que el bosque (2670 vs 1670), mientras que en este estudio se da el caso inverso. Por último, al analizar el contenido de C de la BM por unidad de C orgánico del suelo, se observó que el pastizal contenía la mayor relación (12) mientras que el bosque presentó la menor (alrededor de 4-5), aunque estas diferencias

no fueron significativas (Figura 1 D). Estos datos indicarían que, si bien el pastizal cuenta con menor cantidad de BM, gran proporción del C orgánico es incorporado a ésta y respirado, indicando que el C del pastizal sería más lábil que el presente en el bosque. En este sentido, Wert y Kuzyakov (2008) informaron que entre el 64 y el 86% del C de los exudados radiculares es respirado por los microorganismos. Considerando que el pastizal tiene una mayor superficie ocupada por gramíneas y una mayor biomasa radicular (Gargaglione et al., 2014), es esperable una mayor liberación de exudados radicales fácilmente asequibles por los microorganismos. En el bosque en cambio, parte del terreno está ocupada por árboles y las gramíneas creciendo en compañía de los éstos poseen menor cantidad de biomasa radicular comparado con sitios abiertos (Gargaglione et al., 2014), con lo cual el C orgánico puede provenir mayoritariamente del lavado del horizonte orgánico superior que aportaría un C más recalcitrante o difícil de atacar por los microorganismos.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este estudio muestran que existen diferencias en biomasa microbiana y respiración potencial entre los suelos del bosque de *N. antarctica* y el pastizal aledaño. Se observó que el bosque presenta mayores valores absolutos de biomasa microbiana mientras que el pastizal presentó mayor respiración por unidad de biomasa microbiana, lo que sugiere una mayor cantidad de C lábil en los primeros 0-10 cm de profundidad proveniente de exudados radicales de los pastos. Otro dato importante que se deriva de este estudio es que hasta el momento el uso silvopastoril del bosque, el cual implica el pastoreo con ganado y modificación de las condiciones microambientales (como por ejemplo cantidad de luz que llega al suelo, temperatura del aire, etc.) al abrir el dosel arbóreo, no estaría afectando significativamente la biomasa microbiana del suelo ni la respiración potencial. Sin embargo, los presentes son resultados preliminares correspondientes al primer año de medición, con lo cual es necesario continuar midiendo a fin de observar si se mantiene o se modifican las tendencias observadas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Buscot, F., Varma, A. 2005. Microorganisms in soils: Roles in Genesis and Functions. Springer- Berling Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN: 3-540-22220-0. Germany.
- Carter, M.R., Rennie, D.A., 1982. Changes in soil quality under no-tillage farming systems: distribution of microbial biomass and mineralizable C and N potential. Can. J. Soil Sci. 62, 587-597.

- Dube, F., Zagal, E., Stolpe, N., & Espinosa, M. 2009. The influence of land-use change on the organic carbon distribution and microbial respiration in a volcanic soil of the Chilean Patagonia. *Forest Ecology and Management*, 257(8), 1695-1704.
- Franzluebbers, A.J., Hons, F.M., Zuberer, D.A., 1994. Long-term changes in soil carbon and nitrogen pools in wheat Management systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58, 1639-1645.
- Gargaglione, V., Peri, P.L., Rubio, G. 2014. Tree-grass interactions for N in *Nothofagus antarctica* silvopastoral systems: evidence of facilitation from trees to underneath grasses. *Agroforestry systems* 88 (5): 779-790.
- Gonzalez-Polo, M., Caballé, G., & Mazzarino, M. J. 2015. Biomasa y actividad microbiana del suelo en un sistema silvopastoril con pinos en la Patagonia Andina. *Actas del 3º Congreso Nacional de Sistemas Silvopastoriles y VIII Congreso Internacional de Sistemas Agroforestales*. 7-9 de mayo de 2015. Iguazú, Misiones, Argentina. Pp. 532-536. ISBN: 978-987-521-611-2.
- González-Polo, M., Fernández-Souto, A., Austin, A. T. 2013. Coarse woody debris stimulates soil enzymatic activity and litter decomposition in an old growth temperate forest of Patagonia, Argentina. *Ecosystems* 16: 1025-1038.
- Jenkinson D. S., Ladd J. N. (1981) Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In *Soil Biochemistry*, Vol. 5 (E. A. Paul and J. N. Ladd, Eds.), pp. 415-471. Dekker, New York.
- Robertson, G. P., Wedin, D., Groffman, P. M., Blair, J. M., Holland, E. a., Nadelhoffer, K. J., Harris D. 1999. Soil Carbon and nitrogen availability nitrogen mineralization, nitrification and soil respiration potentials. In: *Standard soil methods for long-term ecological research*. Robertson, G. P., Coleman, D.C. Bledsoes, C. S and Sollins, P. (Eds.). Oxford University Press, New York.
- Ross, D. J., Tate, K. R., Feltham, C. W. 1996. Microbial biomass, and C and N mineralization, in litter and mineral soil of adjacent montane ecosystems in a southern beech (*Nothofagus*) forest and a tussock grassland. *Soil Biol. Biochem.* Vol.28, No. 12, pp. 1613-1620.
- Sollins, P., C. Glassman, E. A. Paul, C. Swanston, K. Lajtha, J. W. Heil, E. T. Elliott. 1999. Soil carbon and nitrogen pools and fractions. Páginas 89-105 en P. G. Robertson, D. C. Coleman, C. S. Bledsoe, y P. Sollins, editores. *Standard soil methods for long-term ecological research*. Oxford University Press, New York.



Vance, E. D., P. C. Brookes, D. S. Jenkinson. 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass. *Soil Biol Biochem* 19:703-707.

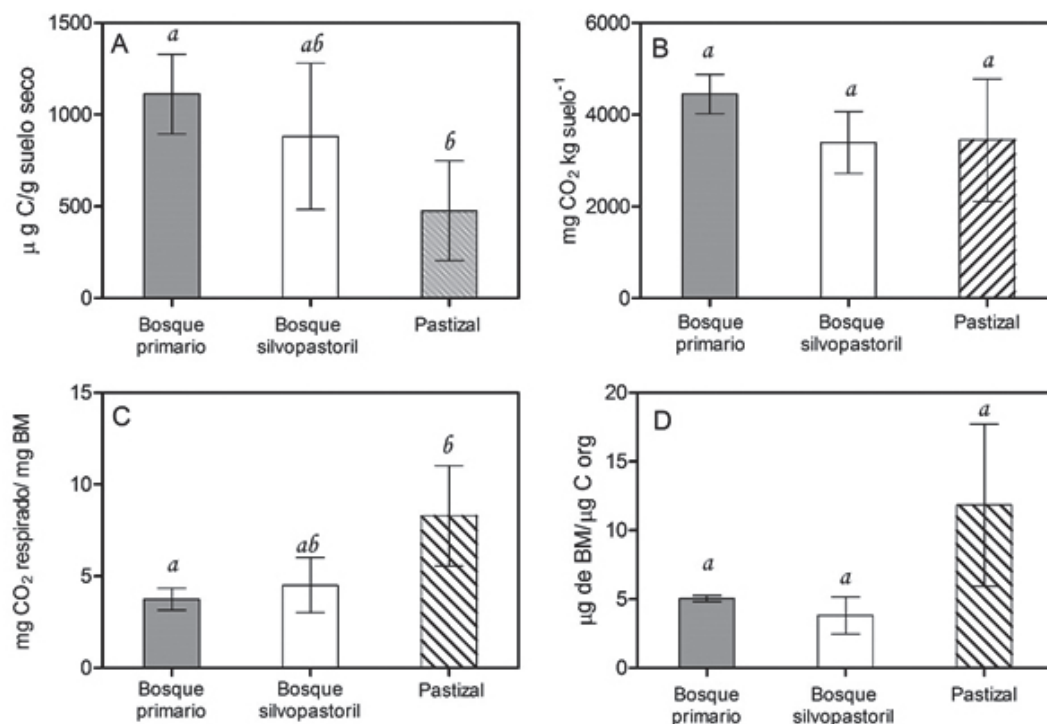
Werth M, Y Kuzyakov. 2008. Root-derived carbon in soil respiration and microbial biomass determined by  $^{14}\text{C}$  and  $^{13}\text{C}$ . *Soil Biology and Biochemistry* 40:625-637.

## TABLAS Y FIGURAS

**Tabla 1.** Contenido inicial de carbono (C) y nitrógeno (N) del suelo en bosque primario de *Nothofagus antarctica*, bosque bajo uso silvopastoril y pastizal aledaño al bosque, todos ellos ubicados en el SO de la provincia de Santa Cruz, Argentina. En paréntesis el desvío estándar de la media.

Ambiente	C (%)	N (%)	C:N
Bosque Primario	7,74 (2.28)	0,55 (0.20)	14,23 (1.45)
Bosque silvopastoril	6,57 (4.86)	0,50 (0.38)	13,03 (0.55)
Pastizal	6,51 (3.28)	0,55 (0.28)	11,8 (0.37)

**Figura 1.** Contenido de carbono en biomasa microbiana (BM) en suelos de bosque de *Nothofagus antarctica* en el SO de la provincia de Santa Cruz, en dos condiciones: bosque primario y bajo uso silvopastoril y del pastizal aledaño al bosque A); respiración potencial acumulada para cada ambiente durante 41 días; B) respiración potencial por cantidad de BM C) y cantidad de BM por gramo de C orgánico del suelo D). Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ).



## ESTUDIO DE LA DISTRIBUCIÓN VERTICAL DE ORIBÁTIDOS EDÁFICOS (ACARI:ORIBATIDA) BAJO FORESTACIONES DE PINO Y EUCALIPTO

Eugenia Levy (1), Natalia A. Fredes (1, 2) y M. Fernanda Alvarez (1, 2, 3, 4)

1 Departamento de Biología, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales,  
Universidad Nacional de Mar del Plata, Deán Funes 3350, Mar del Plata.

2 CONICET. 3 Instituto de Geología de Costas y del Cuaternario, FCEyN-UNMdP.

4 Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras, CONICET-UNMdP.

E-mail de contacto eugenialevy@gmail.com

### RESUMEN

Los ácaros oribátidos son el taxón más abundante en suelos de bosque. En el suelo, la distribución de los espacios porosos y la disponibilidad de materia orgánica condicionan la presencia, abundancia y la estructura de la comunidad de los oribátidos. Las forestaciones de pino y eucalipto de la región periserrana han producido modificaciones en las variables físicas, químicas y biológicas de los suelos originales. El objetivo del presente trabajo fue analizar la estructura y distribución vertical de ácaros oribátidos bajo forestaciones de *Eucalyptus globulus* y *Pinus radiata* en estos bosques implantados. Se tomaron muestras de suelo considerando tres niveles: mantillo (*Mant*), 0-5 cm del horizonte A (*Sup*) y 5-10 cm del horizonte A (*Pro*). Se midió resistencia mecánica (RM), porosidad total (PT) y humedad gravimétrica (HG). Se determinaron densidad, riqueza, diversidad y paridad en cada parcela. La estructura de la comunidad se valoró a través de gráficos de rango/abundancia considerando tres categorías: especies *abundantes* (<15%), *frecuentes* (15-1%) y *raras* (>1%). Los valores de PT y HG fueron mayores en E, mientras que la RM fue mayor en P. En ambas parcelas la PT y HG disminuyeron en profundidad, mientras que la RM aumentó. Se identificaron 43 especies de oribátidos (26 en cada parcela). La densidad y la paridad fueron mayores en *Mant*. La diversidad fue  $E=1,06$  y  $P=1,24$ , sin diferencias significativas. Los niveles *Sup* y *Pro* no registraron diferencias significativas para ninguna de las variables medidas. En ambas forestaciones, el número de especies *frecuentes* fue mayor al de especies *raras* y se observaron solo dos especies *abundantes*; el nivel *Mant* contó con mayor cantidad de especies *raras*, respecto de los niveles *Sup* y *Pro*. Se discute la vinculación entre las características de los mantillos y el patrón de distribución de las especies de cada parcela.

**Palabras clave:** Distribución Vertical, Oribatida, Forestaciones

## INTRODUCCIÓN

El suelo es un hábitat complejo formado por una red de poros en la que habita una poco conocida biodiversidad (Wurst et al. 2012). En este ambiente complejo y altamente organizado, la distribución de los espacios porosos y la disponibilidad de materia orgánica condicionan la presencia de los oribátidos en horizontes superficiales (Anderson 1975). Dado que estas variables edáficas disminuyen en profundidad, la abundancia de los oribátidos disminuye consecuentemente con éstas.

La composición, diversidad y riqueza de los oribátidos está estrechamente relacionada con dos variables: la calidad nutricia de los distintos niveles del suelo (Hansen 2000; Hansen y Coleman 1998; Pande y Berthet 1975) y la disponibilidad de espacio habitable, entendiendo a esta última como el arreglo estructural en el horizonte orgánico y como la porosidad propiamente dicha en los horizontes minerales.

En suelos de bosque, la estructura y composición de nutrientes del suelo se ven condicionadas por la presencia y tipo de vegetación. La cobertura arbórea aporta al suelo detritos y restos vegetales generando el horizonte orgánico, fuente primaria de alimento para la fauna edáfica. Además, atenúa gran parte de las variaciones ambientales, como la erosión y la pérdida de agua, permitiendo el desarrollo de un suelo aireado, poroso y con alta humedad. Así, estas condiciones microambientales promueven el desarrollo de una rica y diversa comunidad de oribátidos.

En el sistema de lomas periserranas de Sierra y Laguna de los Padres existen emplazamientos forestales de pino y eucalipto con fines recreativo-turísticos. Estas plantaciones exóticas han producido modificaciones en las propiedades físicas (densidad aparente, resistencia mecánica y porosidad), químicas (pH y materia orgánica) y biológicas (composición y abundancia de especies) de los Argiudoles típicos. El objetivo del trabajo fue analizar la estructura y distribución vertical de los oribátidos bajo forestaciones de *Eucalyptus globulus* y *Pinus radiata* en estos bosques.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Área de estudio:** se seleccionaron dos parcelas, E y P localizadas en la Cuenca de la Laguna de Los Padres, Partido de General Pueyrredon con suelos Argiudoles típicos y ubicados en la misma posición topográfica. La parcela E, de aproximadamente 90 ha (37°56'25"S; 57°44'5"O) presenta una plantación de *E. globulus* y tiene un uso recreativo. La parcela P, (37°55'51"S; 57°45'43"O) presenta una plantación de *P. radiata*, con una superficie de alrededor de 176 ha y el suelo no tiene ningún tipo de uso ni manejo.

**Muestreo:** Para el suelo, se consideraron dos profundidades en cada punto: superficial (*Sup*: 0-5cm) y profundo (*Pro*: 5-10cm). En cada una se determinó Porosidad Total (PT), a través del cálculo de densidad aparente, Resistencia Mecánica (RM) y Humedad Gravimétrica (HG) por técnicas de rutina (Klute, 1986). Para la mesofauna, además de las dos profundidades, también se muestreo el horizonte orgánico (*Mant*). En cada nivel se tomó una muestra de suelo de 8cm de diámetro por 5cm de profundidad. Las muestras se mantuvieron en embudos Berlese por 12 días para extraer los oribátidos. Los ejemplares adultos se identificaron hasta nivel de especie siguiendo las claves de Balogh y Balogh (1988, 1990, 1992).

**Análisis de datos:** Las diferencias en los valores de las variables PT y HG por parcela y nivel (*Sup* y *Pro*) se valoraron mediante un test de comparación de medias (ANOVA). Las diferencias en los valores de RM, abundancia, densidad, riqueza y paridad por parcela y nivel se testearon mediante la prueba de Kruskal-Wallis. En los casos en que las diferencias entre las variables fueron significativas se realizaron los tests *ad hoc* de Tukey o Wilcoxon según correspondiese. Para la comunidad de oribátidos se calculó densidad (ind./m<sup>2</sup>), riqueza (S) y los índice de diversidad de Shannon-Wiener (H') y paridad de Pielou (J'). Para la comparación de la estructura de las comunidades se construyeron gráficos de distribución de rangos/abundancia (RAD, por sus siglas en inglés) (Magurran 2004) considerando la abundancia relativa de las especies. A partir de éstos, se consideraron las siguientes categorías: especies *abundantes* (abundancias superiores a 15%), especies *frecuentes* (abundancias entre 15% - 1%) y especies *raras* (abundancias por debajo de 1%). Los análisis estadísticos se realizaron con la interface R-studio del software R (R Development Core Team 2012).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### SUELO

En el mantillo de la parcela E fue de un espesor de 6-8 cm. En él pudo distinguirse sólo el HzOi, compuesto por restos de hojas, ramas y cortezas. Su estructura tridimensional fue más suelta y abierta en términos de la agregación de los restos vegetales. Por otro lado, el mantillo de la parcela P, presentó mayor espesor (10-15cm) y se pudieron observar claramente los distintos niveles del HzO. Este mantillo estuvo compuesto por acículas y ramas finas, presentando una estructura tridimensional algo más compacta que en E. Para el horizonte A, la resistencia mecánica (RM) fue menor en E (E=2,28 MPa P = 2,44 MPa; p<0,05), aumentando en profundidad en ambos casos (Tabla 1). La PT y la HG resultaron mayores en E (PT= 68,26% y HG=

30%), disminuyendo en profundidad (Tabla 1). A partir de estos datos se puede asumir que los niveles considerados (*Mant*, *Sup* y *Pro*) en cada parcela representaron tres microambientes físicamente distinguibles, cada uno de los cuales ofrecería distintas condiciones de habitabilidad para los oribátidos.

## ORIBÁTIDOS

Se colectaron 1679 oribátidos adultos, pertenecientes a 43 especies, 35 géneros y 24 familias (Tabla 2). La familia más representada fue Oppiidae, con 7 géneros y 8 especies. La riqueza fue 26 especies en cada parcela, con 17 especies exclusivas y 9 comunes. Las especies que presentaron mayores abundancias en E fueron *Oppiella nova*, *Physobates spinipes*, *Scheloribates elegans* y *Totobates discifer*; mientras que en P las especies más abundantes fueron *O. nova*, *T. discifer* y *Suctobelbella variabilis*. La diversidad en E y P fueron 1,06 y 1,24 respectivamente, sin diferencias significativas ( $p > 0,05$ ). La densidad promedio de oribátidos fue 7.063 ind./m<sup>2</sup> y 5.027 ind./m<sup>2</sup> para E y P respectivamente, con valores máximos en *Mant* en ambos casos (E= 38.000 ind./m<sup>2</sup>; P= 34.616 ind./m<sup>2</sup>). Los valores de densidad son comparables a los hallados por Price (1973), Pande y Berthet (1975), Adolphson y Kinnear (2008) para ambientes similares, quienes lo atribuyen a la elevada disponibilidad de materia orgánica en este horizonte orgánico.

En sentido vertical, únicamente la densidad y la paridad de oribátidos resultaron significativamente diferentes entre niveles, siendo mayores en *Mant* de ambas parcelas (Fig. 1). Los niveles *Sup* y *Pro* no registraron diferencias significativas para ninguna de las variables medidas. Esto sería un indicio de que, pese a lo hallado para las variables edáficas, los oribátidos no distinguen entre *Sup* y *Pro*. Esto puede deberse a que los requerimientos de espacio y nutrientes de los oribátidos se vean ampliamente satisfechos.

En ambas parcelas, la paridad presentó diferencias significativas entre el horizonte A y el mantillo, no así entre niveles (E: *Mant*: 0,64 *Sup*: 0,83 *Pro*: 0,78; P: *Mant*: 0,81 *Sup*: 0,93 *Pro*: 0,94;  $p < 0,05$ ). Respecto de la distribución de abundancias en ambos bosques, el número de especies *frecuentes* fue mayor al de especies "*raras*" y se observaron solo dos especies *abundantes* (E: *Psp* y *Sel* y P: *Ono* y *Svar*). La distribución de especies en *Sup* y *Pro* de cada forestación contaron con una cantidad equivalente de especies *frecuentes*, mostrando pendientes muy similares. Comparando entre parcelas, P contó con más especies *frecuentes* (E= 8; P= 14), evidenciándose esto en una

pendiente más suave en la distribución (Fig. 2). El patrón de distribución de especies en *Mant* fue contrastante: en E la pendiente fue pronunciada debido a una mayor cantidad de especies *raras*. Por otro lado en P la pendiente fue similar a la de *Sup* y *Pro*, diferenciándose por la presencia de especies *raras* en el primero. Este patrón de distribución puede deberse a las características de los mantillos, que promoverían mayor disponibilidad de espacio habitable (Hansen, 2000; Hansen y Coleman, 1998) y por ende una mayor proporción de especies *frecuentes* y *raras*.

## CONCLUSIONES

- La estructura de las comunidades fue diferente entre parcelas, principalmente dentro del mantillo, observándose una distribución vertical de las especies fragmentada en la parcela de eucaliptos y mucho más homogénea en la parcela de pino.
- Las diferencias en las variables edáficas registradas en los niveles del horizonte mineral no se reflejaron en diferencias en la comunidad de oribátidos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adolphson, H. & Kinnear, A. (2008)** Acari (mite) assemblages under plantations of bluegum, *Eucalyptus globulus*, in southwestern Australia. *Pedobiología* 51, 427–437.
- Anderson, J.M. (1975)** Succession, diversity and trophic relationships of some soil animals in decomposing leaf litter. *The Journal of Animal Ecology* 44, 475–495.
- Balogh, J. & Balogh, P. (1988)** Oribatid mites of the Neotropical Region I. Elsevier Science Publishing, Amsterdam.
- Balogh, J. & Balogh, P. (1990)** Oribatid mites of the Neotropical Region I. Elsevier Science Publishing. Amsterdam.
- Balogh, J. & Balogh, P. (1992)** The oribatid mite genera of the World. Hungarian Natural History Museum. Budapest.
- Hansen, R.A. (2000)** Effects of habitat complexity and composition on a diverse litter microarthropod assemblage. *Ecology* 81, 1120–1132.
- Hansen, R.A. & Coleman, D.C. (1998)** Litter complexity and composition are determinants of the diversity and species composition of oribatid mites (Acari: Oribatida) in litterbags. *Applied Soil Ecology* 9, 17–23.

**Klute, A. (1986).** Methods of soil analysis, Part 1. Physical and mineralogical properties. American Society of Agronomy, Monograph, (9).

**Magurran, A.E. (2004)** Measuring Biological Diversity. Blackwell Publishing Company.

**Pande, Y.D. & Berthet, P. (1975)** Observations on the vertical distribution of soil Oribatei in a woodland soil. Transactions of the Royal Entomological Society of London 127, 259–275.

**Price, D.W. (1973)** Abundance and vertical distribution of microarthropods in the surface layers of a California pine forest soil. Hilgardia. University of California Division of Agricultural Sciences 42, 121-148.

**R Development Core Team (2012)** R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

**Wurst, S., De Deyn, G.B. & Orwin, K. (2012)** Soil biodiversity and functions. En: Soil Ecology and Ecosystem Services , pp. 28–45.

**Tabla 1:** Variables del suelo analizadas de acuerdo al ambiente. Se muestran el valor promedio por nivel  $\pm$  el desvío estándar. RM: Resistencia Mecánica, PT: Porosidad Total, HG: Humedad Gravimétrica. *Sup*: 0-5 cm, *Pro*: 5-10 cm. Letras distintas indican diferencias significativas

	RM (MPa)		PT (%)		HG (%)	
	<i>Sup</i>	<i>Pro</i>	<i>Sup</i>	<i>Pro</i>	<i>Sup</i>	<i>Pro</i>
<b>Parcela E</b>	1,8 $\pm$ 0,3 <sup>a</sup>	2,8 $\pm$ 0,6 <sup>b</sup>	72,1 $\pm$ 4,5 <sup>a</sup>	64,4 $\pm$ 3,2 <sup>b</sup>	33,3 $\pm$ 6,4 <sup>a</sup>	28,4 $\pm$ 7,2 <sup>b</sup>
<b>Parcela P</b>	2,1 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	2,7 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>	64,9 $\pm$ 3,4 <sup>b</sup>	58,2 $\pm$ 2,3 <sup>c</sup>	23,9 $\pm$ 3,7 <sup>a</sup>	23,0 $\pm$ 5,3 <sup>b</sup>

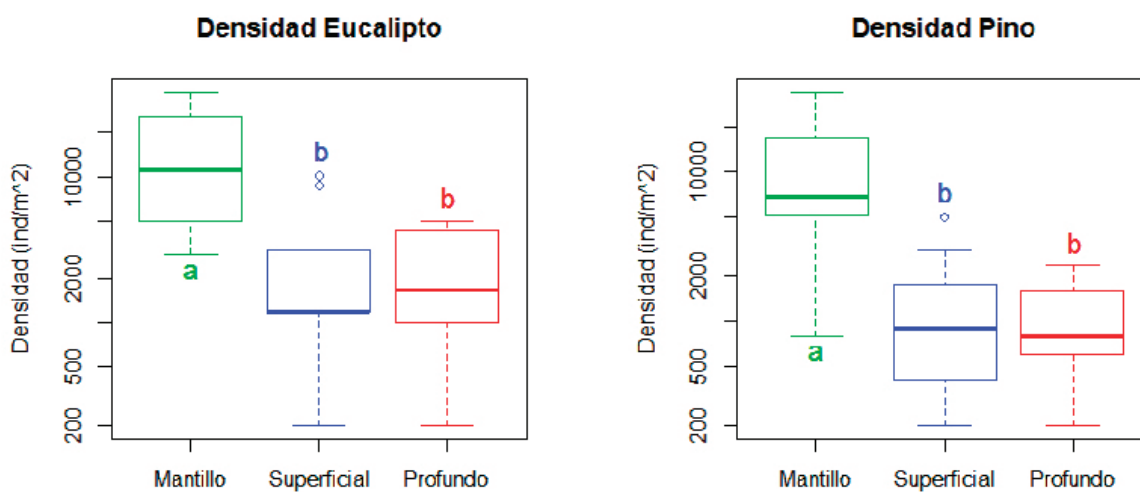
**Tabla 2.** Listado de todas las especies de ácaros oribátidos halladas.  
 (Acró: acrónimos de las especies).

Familia	Género	Especie	Acró
<b>Sphaerochthoniidae</b>	<i>Sphaerochthonius</i>	<i>Sphaerochthonius</i> aff. <i>S. gemma</i> Berlese, 1910	<b>Sge</b>
<b>Brachychthoniidae</b>	<i>Liochthonius</i>	<i>Liochthonius</i> aff. <i>L. saltaensis</i> (Hammer, 1958)	<b>Lsa</b>
	<i>Sellnickochthonius</i>	<i>Sellnickochthonius</i> aff. <i>S. foliatus</i> (Hammer, 1958)	<b>Sfo</b>
		<i>Sellnickochthonius elsosneadensis</i> (Hammer, 1958)	<b>Ses</b>
<b>Epilohmanniidae</b>	<i>Epilohmannia</i>	<i>Epilohmannia cylindrica</i> (Berlese, 1904)	<b>Ecy</b>
		<i>Epilohmannia pallida</i> Wallwork, 1962	<b>Epa</b>
<b>Lohmanniidae</b>	<i>Xenolohmannia</i>	<i>Xenolohmannia?</i> sp.	<b>Xsp</b>
<b>Oribotritiidae</b>	<i>Mesotritia</i>	<i>Mesotritia elegantula</i> Starý, 1992	<b>Mel</b>
<b>Euphthiracaridae</b>	<i>Acrotritia</i>	<i>Acrotritia ardua</i> (Koch, 1841)	<b>Aar</b>
<b>Phthiracaridae</b>	<i>Phthiracarus</i>	<i>Phthiracarus</i> aff. <i>P. closteros</i> Niedbala 2004	<b>Pcl</b>
<b>Trhypochthoniidae</b>	<i>Trhypochthonius</i>	<i>Trhypochthonius tectorum</i> (Berlese, 1896)	<b>Tte</b>
<b>Nothridae</b>	<i>Nothrus</i>	<i>Nothrus becki</i> Balogh y Mahunka, 1981	<b>Nbe</b>
<b>Microzetidae</b>	<i>Berlesezetes</i>	<i>Berlesezetes brazilozetoides</i> Balogh y Mahunka, 1981	<b>Bbr</b>
<b>Aegistidae</b>	<i>Cultroribula</i>	<i>Cultroribula lata</i> Aoki, 1961	<b>Cla</b>
<b>Eremulidae</b>	<i>Eremulus</i>	<i>Eremulus crispus</i> Hammer, 1958	<b>Ecr</b>
<b>Suctobelbidae</b>	<i>Suctobelbella</i>	<i>Suctobelbella loksai</i> (Balogh y Mahunka, 1981)	<b>Slk</b>
		<i>Suctobelbella longiclava</i> (Hammer, 1958)	<b>Sln</b>
		<i>Suctobelbella variabilis</i> (Hammer, 1962)	<b>Sva</b>
		<i>Zeasuctobelba diceros</i> (Mahunka, 1980)	<b>Zdi</b>
<b>Machuellidae</b>	<i>Machuella</i>	<i>Machuella ventrietosa</i> Hammer, 1961	<b>Mve</b>
<b>Oppiidae</b>	<i>Lanceoppia</i>	<i>Lanceoppia (Lancelalmoppia) nodosa</i> (Hammer, 1958)	<b>Lno</b>
	<i>Ramusella</i>	<i>Ramusella (Insculptoppia) merimna</i> (Balogh y Mahunka 1977)	<b>Rme</b>
	<i>Brachioppia</i>	<i>Brachioppia cuscensis</i> Hammer, 1961	<b>Bcu</b>
	<i>Brachioppiella</i>	<i>Brachioppiella (Gressittoppia) incisa</i> Martínez y Palacios-Vargas, 2006	<b>Bin</b>
	<i>Micropoppia</i>	<i>Micropoppia minus</i> Paoli, 1908	<b>Mmi</b>
	<i>Oppiella</i>	<i>Oppiella nova</i> (Oudemans, 1902)	<b>Ono</b>
	<i>Oxyoppia</i>	<i>Oxyoppia (Oxyoppiella) suramericana</i> (Hammer, 1958)	<b>Osu</b>
		<i>Oxyoppia (Dzarogneta) taurus</i> Pérez- Iñigo y Baggio, 1997	<b>Ota</b>
<b>Quadrioppiidae</b>	<i>Quadroppia</i>	<i>Quadroppia circumita</i> (Hammer, 1961)	<b>Qci</b>

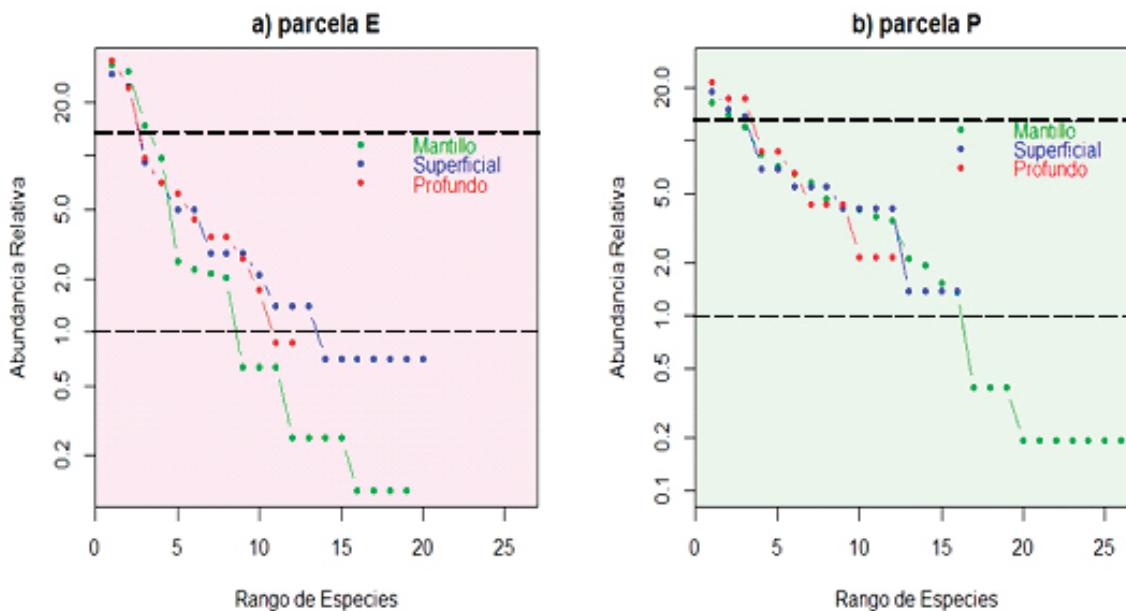


<b>Tectocepheidae</b>	<i>Tectocepheus</i>	<i>Tectocepheus minor</i> Berlese, 1903	<b>Tmi</b>
		<i>Tectocepheus velatus</i> (Michael, 1880)	<b>Tve</b>
<b>Lamellaridae</b>	<i>Tenuelamellarea</i>	<i>Tenuelamellarea argentinensis</i> Martínez, Velis, Eguaras y Fernández, 1995	<b>Tar</b>
<b>Phenopelopidae</b>	<i>Eupelops</i>	<i>Eupelops acromios</i> (Hermann, 1804)	<b>Eac</b>
<b>Tegoribatidae</b>	<i>Physobates</i>	<i>Physobates spinipes</i> Hammer, 1962	<b>Psp</b>
<b>Oribatulidae</b>	<i>Paraphauloppia</i>	<i>Paraphauloppia (Monophauloppia) planssima</i> Balogh, 1988	<b>Ppl</b>
	<i>Zygoribatula</i>	<i>Zygoribatula bonairensis</i> (William, 1936)	<b>Zbo</b>
<b>Scheloribatidae</b>	<i>Scheloribates</i>	<i>Scheloribates aff. S. elegans</i> Hammer, 1958	<b>Sel</b>
		<i>Scheloribates praeincisus acuticlava</i> Pérez-Iñigo y Baggio, 1986	<b>Spr</b>
	<i>Totobates</i>	<i>Totobates discifer</i> Hammer, 1961	<b>Tdi</b>
<b>Haplozetidae</b>	<i>Rostrozetes</i>	<i>Rostrozetes ovulum</i> (Berlese, 1908)	<b>Rov</b>
<b>Galumnidae</b>	<i>Galumna</i>	<i>Acrogalumna longipluma</i> (Berlese, 1904)	Alo
	<i>Carinogalumna</i>	<i>Carinogalumna clericata</i> (Berlese, 1914)	Ccl
	<i>Galumna</i>	<i>Allogalumna?</i> sp.	Gsp

**Figura 1.** Densidad de oribátidos por parcela y por nivel (individuos/m<sup>2</sup>). La escala vertical ha sido transformada con logaritmo. **a)** Densidad de oribátidos en la parcela E, **b)** Densidad de oribátidos en la parcela P. Letras diferentes indican diferencias significativas.



**Figura 2.** Gráficos de rango-abundancia. a) Abundancia relativa en la parcela E en función del rango de especies; b) Abundancia relativa en la parcela P en función del rango de especies. El eje vertical fue transformado mediante logaritmo. Las líneas punteadas marcan abundancias de 1% y 15%, mediante las cuales se determinaron las especies “abundantes” (abundancias >15%), “frecuentes” (abundancias entre 1% y 15%) y “raras” (abundancias <1%)



# **FUNCIONES Y SERVICIOS ECOSISTÉMICOS**

## **SIMBIOSIS ENTRE HONGOS MICORRÍICOS ARBUSCULARES Y ESPECIES FORRAJERAS ANTE FERTILIZACIÓN FOSFORADA**

Chippano, Tomás (1,\*); García, Ileana (1); Cofré, Noelia (2); Mendoza, Rodolfo (1).

1 Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia" – CONICET.  
Av. Ángel Gallardo 470, Ciudad Autónoma de Buenos Aires (C1405DJR), Argentina.

\* [tomas\\_chippa@hotmail.com](mailto:tomas_chippa@hotmail.com)

2 Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal - CCT-CONICET - Córdoba.

### **RESUMEN**

La asociación simbiótica entre hongos micorrícicos arbusculares (MA) y especies forrajeras, crecidas en un suelo deficiente en P, mejora el acceso al P edáfico pero la fertilización fosforada disminuye la colonización. Se evaluó el efecto de la fertilización fosforada, sobre la biomasa producida y la colonización MA en tres especies forrajeras crecidas en un suelo deficiente en P de la Cuenca del río Salado.

Hipótesis: La biomasa aumenta y la colonización MA disminuye ante el incremento de la dosis de P, pero existe un rango de concentraciones de P disponible en el cual se logra incrementar la biomasa y preservar la comunidad nativa de hongos MA.

Se cultivaron en macetas *Lotus tenuis*, *Festuca arundinacea* y *Panicum coloratum* en un *Natracuoll* deficiente en P (5,68 mgP/Kg). Se fertilizaron con P en concentraciones ascendentes desde 0 mgP/Kg hasta 160 mgP/Kg. Cuarenta y cinco días después de la siembra se determinó la biomasa producida, la concentración de P en tejido vegetal y en suelo y la colonización MA en las raíces de cada especie.

La producción de biomasa vegetal, la concentración de P en tejido aéreo y radical, y la disponibilidad de P en el suelo aumentaron ante el incremento de la dosis de P pero la colonización MA disminuyó en las tres especies estudiadas. Se logró una producción agrónomicamente aceptable de forraje con la menor disminución de la colonización MA en el rango de 8-10 mgP/Kg y 20-30 mgP/Kg disponible para las gramíneas y la leguminosa respectivamente.

En un suelo deficiente en P, es imprescindible fertilizar para aumentar la producción forrajera pero es clave seleccionar dosis que permitan conservar la comunidad nativa de hongos MA y garantizar la presencia de especies micotróficas como *L. tenuis* que juegan un rol clave en la reserva de hongos MA ante la fertilización fosforada.

**Palabras clave:** Microorganismos de suelo; Fertilización fosforada; Especies forrajeras.

## INTRODUCCIÓN

La Cuenca del río Salado es la principal región ganadera de Argentina. Los suelos de la Cuenca se caracterizan por una marcada deficiencia de P para el crecimiento vegetal (Mendoza et al., 1983; Lavado et al., 1992). Existen diferentes trabajos que hacen referencia al aumento del rendimiento de las pasturas ante el agregado de P (Mendoza, 1980).

*Lotus tenuis* (C4), *Festuca arundinacea* (C3) y *Panicum coloratum* (C4) son especies de buen valor forrajero y se adaptan a las condiciones ambientales de la Cuenca, pero el conocimiento sobre la nutrición fosforada y su relación con microorganismos simbioses del suelo, como los hongos micorrícicos arbusculares (MA), aún es escaso.

La simbiosis MA le confiere a la planta resistencia a estrés biótico y abiótico (Entry et al., 2002) y mayor acceso a nutrientes, principalmente P (Van der Heijden et al., 2015). Esta asociación representa una estrategia vegetal para superar condiciones adversas.

También es conocido que la fertilización fosforada actúa en detrimento de la colonización MA (Schroeder & Janos, 2004). El aumento de la disponibilidad de P en el suelo y del contenido de P en la planta serían los principales factores que provocan la disminución de la colonización MA (Shu & Wu, 2017).

El objetivo de este trabajo fue evaluar el efecto del incremento en el nivel de P edáfico disponible, a través de la fertilización fosforada, sobre la biomasa producida y el desarrollo de la colonización micorrícica de tres especies forrajeras que difieren en su metabolismo carbonado crecidas en un suelo deficiente en P de la Cuenca del río Salado.

## HIPÓTESIS

La biomasa seca aumenta y la colonización micorrícica disminuye ante el incremento de la dosis de P aplicada, pero existe un rango de concentraciones de P disponible en el cual se logra una producción aceptable de biomasa preservando la comunidad nativa de hongos MA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*L. tenuis*, *P. coloratum* y *F. arundinacea* fueron cultivadas puras en un *Natracuoll típico* deficiente en fósforo (5,68 mg/Kg P Bray). El ensayo se llevó a cabo en invernáculo con macetas de 2 L. Al momento de la siembra se fertilizaron con P como  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , en concentraciones ascendentes desde 0 hasta 160 mgP/Kg.

Cada maceta se mantuvo al 85% de capacidad de campo mediante riegos con agua desionizada.

Cuarenta y cinco días después de la siembra, se cosechó el material vegetal y se determinó la biomasa seca aérea y radical producida por maceta, la concentración de P en tejido (*Jackson, 1964*) y suelo (*Bray & Kurtz, 1945*) y se caracterizó la colonización MA en las raíces de cada especie (*McGonigle et al., 1990*).

Se expresó la producción de biomasa seca aérea en función de la concentración de P en el tejido aéreo, esta expresión permitió observar cual es la concentración de P disponible en la que se logra la mayor producción de biomasa seca aérea con la menor concentración de P en tejido.

La respuesta vegetal ante fertilización fosforada fue descrita a través de ecuaciones polinómicas. Se ajustó una curva para cada especie y se compararon estadísticamente los ajustes entre sí. Se utilizó el software GraphPad Prism.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La concentración de P disponible en el suelo aumentó ante el incremento de la dosis de P aplicada (Fig. 1). La proporción promedio de P disponible sobre el P retenido fue del 50%, por lo tanto en el suelo ensayado es necesario agregar 2 mgP/Kg para aumentar 1 mgP/Kg de P disponible.

La producción de biomasa seca aérea y radical aumentó ante el incremento de la disponibilidad de P edáfico (Fig. 2 a y b). Se establece como criterio el 90 % de la máxima producción de biomasa aérea como una buena performance productiva. Este valor fue alcanzado por cada especie con diferentes niveles de P disponible, *L. tenuis* con 27 mg P/Kg, *F. arundinacea* con 13 mgP/Kg y *P. coloratum* con 15 mgP/Kg.

*P. coloratum* produjo elevados valores de biomasa seca aérea, al igual que *L. tenuis* pero con menor producción de biomasa seca radical, al igual que *F. arundinacea*. Esto denota que *P. coloratum* destina los recursos energéticos en mayor medida a la producción de biomasa aérea, comparado con *L. tenuis* y *F. arundinacea*, característica favorable en especies forrajeras.

La concentración de P en la biomasa aérea de las 3 especies aumentó ante el incremento del P aplicado. En la biomasa radical de *L. tenuis*, la concentración de P fue mayor que en las gramíneas, y todas las dosis aplicadas provocaron un aumento de este parámetro, mientras que a partir de 30 mgP/Kg y de 50 mgP/Kg, para *P. coloratum* y *F. arundinacea* respectivamente, la concentración de P en la biomasa radical no aumentó ante el incremento del P aplicado (Fig. 3).

La concentración crítica de P en tejido aéreo requerido para alcanzar el 90% de la máxima producción fue de 0,3% de P para *L. tenuis* y *P. coloratum* y de

0,4% de P para *F. arundinacea* (Fig. 4). Dicha producción de biomasa seca aérea y concentración de P en tejido aéreo se produjo con 33 mgP/Kg, 24 mgP/Kg y 15 mgP/Kg disponible para *L. tenuis*, *P. coloratum* y *F. arundinacea*, respectivamente.

El porcentaje de colonización MA disminuyó ante el incremento de la disponibilidad de P edáfico (Fig. 5). En el tratamiento control (0 mgP/Kg), la colonización MA en *L. tenuis*, *F. arundinacea* y *P. coloratum* fue de 81%, 45% y 50% respectivamente. Para las gramíneas este valor coincidió con la máxima colonización, mientras que para la leguminosa la máxima colonización fue del 94% ante 8,96 mgP/Kg disponible (Dosis: 15 mgP/Kg). Aunque ha sido reportado que las leguminosas presentan mayor porcentaje de colonización MA que las gramíneas C4, y las gramíneas C4 más que las C3 (Wilson & Hartnett, 1998, Lugo et al., 2003), *P. coloratum* (C4) mostró similar porcentaje que *F. arundinacea*, esto podría deberse a que nuestro estudio fue realizado en los primeros estadios de crecimiento y una diferencia marcada en la colonización entre gramíneas C3 y C4 se visualizaría en estadios más avanzados de crecimiento (Wilson & Hartnett, 1997). La colonización MA en las raíces de *F. arundinacea* y *P. coloratum* alcanzó valores inferiores a 30% a partir de 7 mgP/Kg disponible, mientras que el menor valor de *L. tenuis* fue de 32% y se obtuvo con la máxima disponibilidad de P (71 mgP/Kg disponible).

## CONCLUSIÓN

El aumento de la disponibilidad de P, a través de la fertilización fosforada en un suelo deficiente, incrementó la producción de biomasa aérea y radical, la concentración de P en tejido vegetal pero provocó una disminución de la colonización MA en las 3 especies. En las gramíneas esta disminución de la colonización fue más marcada, debido a que poseen un sistema radical en cabellera, con mayor exploración y absorción de nutrientes y menores requerimientos de P, que las hacen menos dependientes de la simbiosis micorrícica. Si bien el metabolismo carbonado es un factor clave en la afinidad con los hongos MA, las diferencias halladas entre las gramíneas C3 y C4 se observarían con mayor énfasis en estadios más avanzados de crecimiento.

La fertilización fosforada, en un suelo deficiente, es imprescindible para incrementar la producción forrajera, pero es clave seleccionar concentraciones de P disponible que se encuentren dentro de un rango que permita una producción de forraje agrónomicamente aceptable con una menor disminución de la colonización MA y de esta manera permitir la conservación de la comunidad nativa de hongos MA. Para el cultivo de *P. coloratum* y *F. arundinacea*, el rango se estimó entre 8-10 mg/Kg de P disponible, mientras que *L. tenuis* permitió rangos mayores, entre 20-30 mg/Kg de P disponible ante las condiciones ensayadas, ya que no conduce a una inhibición marcada de la colonización. Además,

resulta imprescindible garantizar la presencia de especies micotróficas como *L. tenuis*, tanto en pasturas como en pastizales, que actúan como reservorio de la comunidad nativa de hongos MA ante la fertilización fosforada.

**Institución financiadora:** Consejo Nacional de investigaciones Científicas y Técnicas (Conicet).

## BIBLIOGRAFÍA

Bray, R.; Kurtz, L. 1945. Determination of total organic and available forms of phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59: 39-45.

Entry, J.; Rygiewicz, P.; Watrud, L.; Donnelly, P. 2002. Influence of adverse soil conditions on the formation and function of arbuscular mycorrhizas. *Ad Environ Res.* 7: 123-138.

Jackson, T; Vacharotayan, S.; Alban, L.; Peterson, R. 1964. Phosphorus availability in reddish brown lateritic soils. II. Relationships between field, greenhouse, and soil analyses. *Agronomy Journal*, 56:558-560.

Lavado, R.; Rubio, G.; Aleonada, M. 1992. Grazing management and soil salinization in two Pampean Natraqualfs. *Turrialba.* 42: 500-508.

Lugo, M.; Gonzalez Maza, M.; Cabello, M. 2003. Arbuscular mycorrhizal fungi in a mountain grassland II: Seasonal variation of colonization studied, along with its relation to grazing and metabolic host type. *Mycologia*, 95:407-415.

McGonigle, T.; Millar, M.; Evans, D.; Fairchild, G.; Swan, J. 1990. A new method which gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi. *New Phytol.* 115: 495-501.

Mendoza, R. 1980. Adsorción de fósforo en el suelo y su relación con la producción de dos especies forrajeras. *Rev Fac Agro Bs As.* 1: 19-30.

Mendoza, R.; Cogliatti, D.; Collantes, M.; Kade, M. 1983. Efecto de la fertilización nitrógeno-fosfatada sobre el crecimiento otoño-invernal y la absorción de fósforo en tepes de un pastizal natural. *Turrialba* 33: 311-320.

Schroeder, M.; Janos, D. 2004. Phosphorus and intraspecific density alter plant responses to arbuscular mycorrhizas. - *Plant and Soil* 264: 335-348.



Shu, B.; Wu, Q. 2017. Chapter 5: Arbuscular Mycorrhizal fungi and adaption of P stress in plants. Q.-S. Wu (ed.), Arbuscular Mycorrhizas and Stress Tolerance of Plants. Springer Nature Singapore.

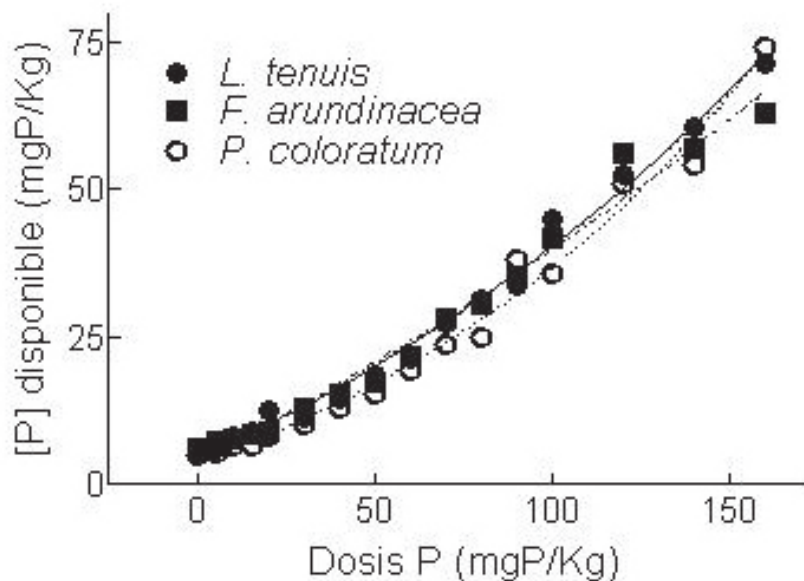
Van der Heijden, M.; Bruin, S.; Luckerhoff, L.; Van Logtestijn, R.; Schlaeppi, K. 2015. A widespread plant-fungal-bacterial simbiosis promotes plant biodiversity, plant nutrition and seedling recruitment. *The ISME Journal* 10(2), 389.

Wilson, G.; Hartnett, D. 1997. Effects of mycorrhizae on plant growth and dynamics in experimental tallgrass prairie microcosms. *American Journal of Botany* 84:478-482.

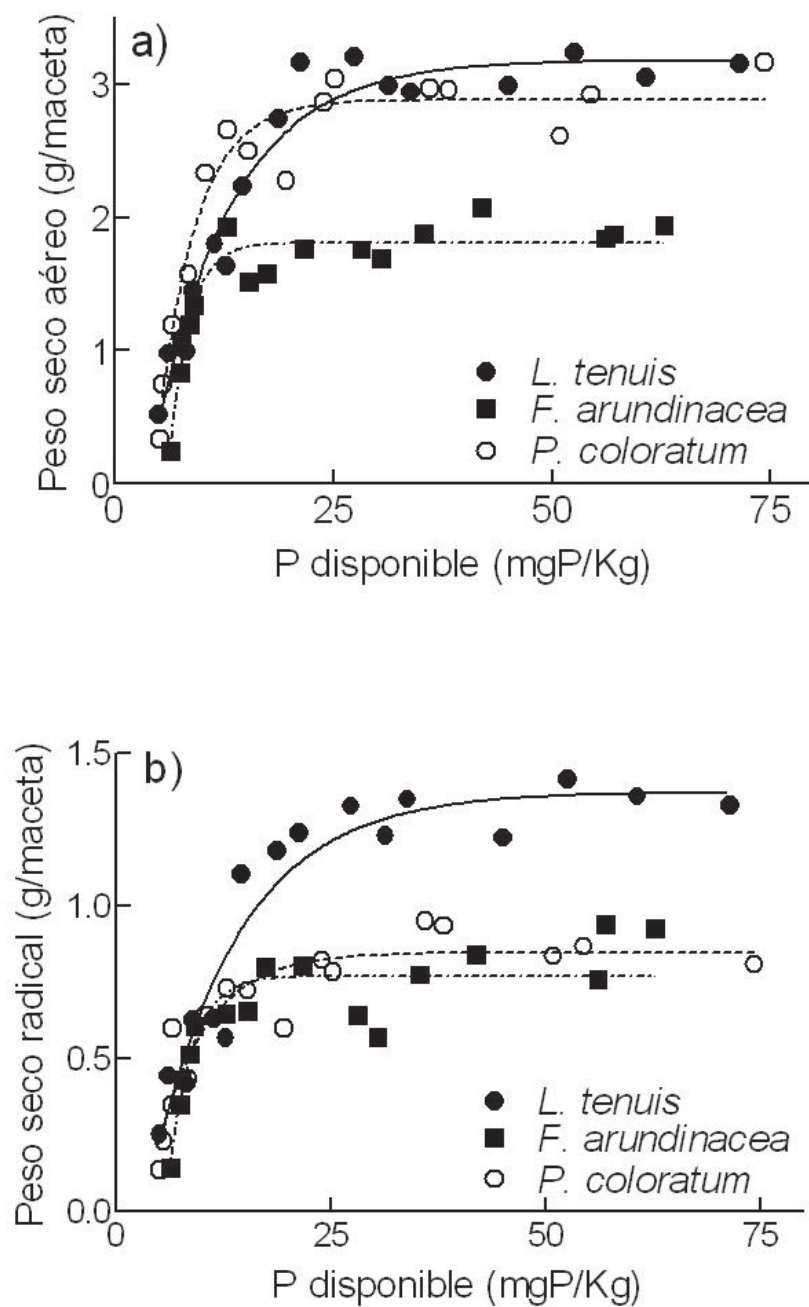
Wilson, G.; Hartnett, D. 1998. Interspecific variation in plant responses to mycorrhizal colonization in tallgrass prairie. *American Journal of Botany* 85(12): 1732-1738.

## FIGURAS

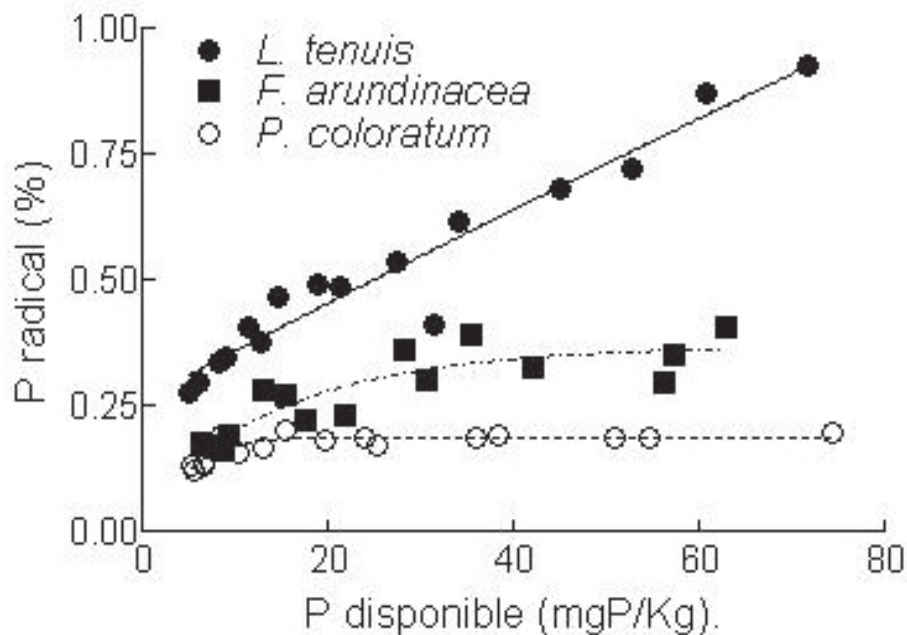
**Fig. 1.** Efecto de la fertilización fosforada sobre el P disponible en los cultivos de *L. tenuis* (●), *F. arundinacea* (■) y *P. coloratum* (○) crecidas en un suelo *Nastracuoll* típico.



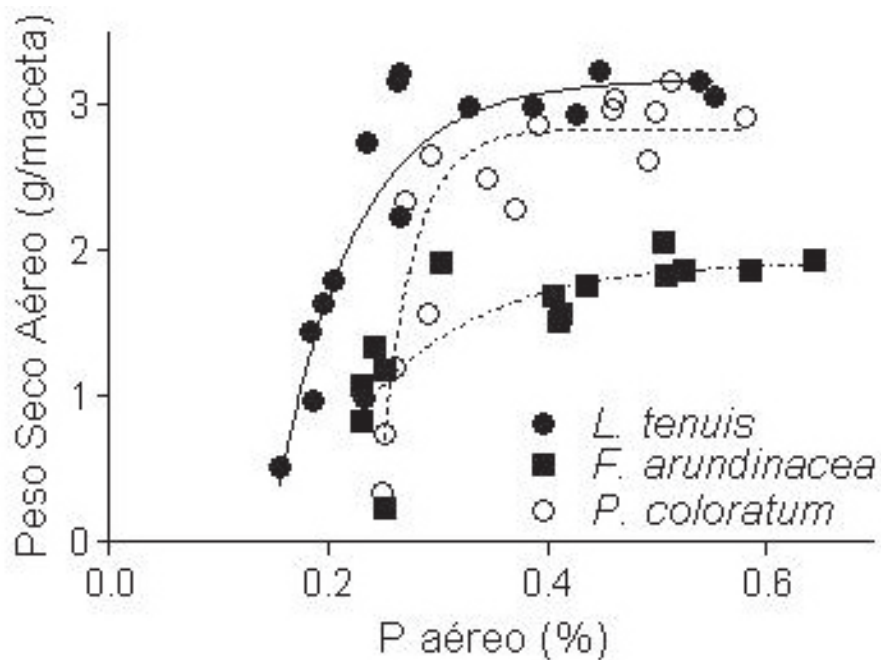
**Fig. 2.** Efecto del P disponible sobre la producción de biomasa seca aérea (a) y radical (b) de *L. tenuis* (●), *F. arundinacea* (■) y *P. coloratum* (○) crecidas en un suelo *Natracuoll* típico.



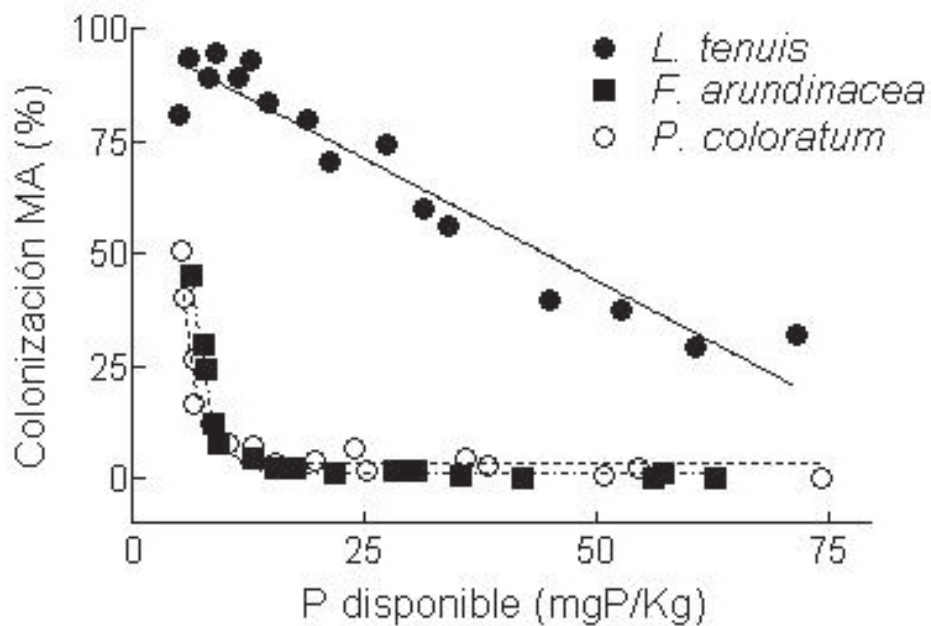
**Fig. 3.** Efecto del P disponible sobre la concentración de P en tejido radical de *L. tenuis* (●), *F. arundinacea* (■) y *P. coloratum* (○) crecidas en un suelo Natracuoll típico.



**Fig. 4.** Relación entre la producción de biomasa seca aérea y la concentración de P en el tejido aéreo de *L. tenuis* (●), *F. arundinacea* (■) y *P. coloratum* (○) crecidas en un suelo Natracuoll típico.



**Fig. 5.** Efecto del P disponible sobre la colonización MA en las raíces de *L. tenuis* (●), *F. arundinacea* (■) y *P. coloratum* (○) crecidas en un suelo Natracuoll típico.



## **INOCULACIÓN CON HONGOS MICORRÍCICOS ARBUSCULARES NATIVOS DE LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES: ESTRATEGIA PARA EL CONTROL DE LA INFECCIÓN POR NEMATODOS DE RAÍCES DE TOMATE**

*Covacevich, Fernanda (1,2); Thounon Islas, Andrea Julieta (1); Mondino, Eduardo Ariel (1)  
1 Ui Eea Inta Balcarce- Fca Unmdp; 2 Consejo Nacional De Promoción Científica Y Técnica  
(Conicet-Inbiotec Y Fiba)*

*Autor De Correspondencia: Covacevich.fernanda@Inta.gob.ar*

### **RESUMEN**

Nuestro objetivo fue evaluar la supresión de la infección radical ocasionada por *Meloidogyne incognita* en raíces colonizadas por hongos micorrícicos arbusculares (HMA) nativos de la Provincia de Buenos Aires, y sus efectos sobre el crecimiento de las plantas. Plantas de tomate fueron inoculadas a la siembra con tres niveles de consorcios con HMA (HMA0, HMA50 y HMA100), inoculadas o no con el nematodo *M. incognita* al trasplante (40 días) y mantenidas en condiciones controladas. Previo a la inoculación con nematodos, las plantas inoculadas con HMA presentaron colonización radical que superó el 60%. Al finalizar el ensayo, las plantas inoculadas con los dos niveles de inóculo HMA que no fueron inoculadas con nematodos evidenciaron colonización micorrícica superior al 90%. Las plantas inoculadas con nematodos, aunque evidenciaron disminución de la colonización micorrícica, presentaron niveles que superaron la colonización de las raíces al trasplante. La abundancia de larvas de nematodos (j2) en el suelo y el número de agallas en raíces disminuyeron por la inoculación con los dos niveles de HMA. La inoculación con HMA o con nematodos no afectó el crecimiento aéreo de las plantas de tomate. Sin embargo, las plantas no inoculadas con HMA (independientemente de la inoculación con nematodos) evidenciaron mayor crecimiento radical. Esto sugeriría que las plantas no micorrizadas (HMA0) destinaron más recursos a la producción radical para compensar el menor volumen de exploración radical en ausencia de hifas de HMA. Nuestros resultados evidencian reducción de la densidad de nematodos (j2, agallas y masas de huevos) por la inoculación con HMA. Se concluye que el adecuado establecimiento de la colonización micorrícica previo a la infección con nematodos ejerce un aparente control de la infección del nematodo *M. incognita* en raíces de tomate, lo que resulta estratégico para el control biológico de patógenos de cultivos hortícolas de importancia agrícola.

**PALABRAS CLAVES:** hongos micorrícicos arbusculares, *Meloidogyne incognita*, tomate.

## INTRODUCCIÓN

Los nematodos edáficos son organismos cosmopolitas que pueden tener hábitos de vida libre mientras que otros son parásitos de plantas y animales (Ferraz y Brown, 2002). Los nematodos parásitos de plantas (NPP) afectan la productividad de los cultivos agrícolas. Este grupo de NPP incluye los nematodos de quistes y nudos de raíces, que se consideran las plagas más dañinas de los cultivos agrícolas en todo el mundo (Bartlem et al., 2014). Los nematodos endoparásitos sedentarios *Meloidogyne* spp., entre ellos *M. incognita*, pueden producir elevadas pérdidas en cultivos de tabaco, tomate y pimiento, entre otros (Wesemael et al., 2011). Aunque la práctica frecuente para el control de NPP ha sido el uso de nematicidas químicos, este está siendo limitado y en los últimos años las investigaciones se han orientado a la búsqueda de nematicidas alternativos (Wesemael et al., 2011) y/o estrategias de manejo de nematodos en el marco del Manejo Integrado de Plagas (MIP). Una de las opciones ecológicas propuestas para el control de NPP es a través del control biológico mediante el establecimiento de simbiosis micorrícicas entre las plantas hospederas y los hongos micorrícicos arbusculares (HMA).

Los HMA son simbiosis obligados de las raíces de más del 80% de las plantas terrestres e incrementan el crecimiento de las mismas (Smith y Read, 2008). Además, los HMA pueden disminuir los efectos causados por los NPP (Gianinazzi et al., 2010). Anjos et al. (2010) evidenciaron que el efecto biocontrolador ocurre siempre que la simbiosis con HMA este bien establecida previo a la infección con *M. incognita*. Algunas formulaciones comerciales con HMA han demostrado ser eficientes en el control de patógenos radicales (Tchabi et al., 2016). También se ha demostrado que HMA nativos ejercen control contra nematodos parásitos de raíces (de la Peña et al., 2006). Marro et al., (2014) evidenciaron control del nematodo *Nacobbus aberrans* nativo de Río Cuarto (Córdoba) por *G. intraradices*, nativo de Tierra del fuego, en plantas de tomate. Se desconoce si consorcios microbianos con HMA nativos de la Provincia de Buenos Aires podrían ejercer algún control sobre nematodos parásitos radicales en cultivos hortícolas. Nuestro objetivo fue determinar la supresión de la infección radical ocasionada por *M. incognita* en raíces colonizadas por HMA nativos y sus efectos sobre el crecimiento de plantas de tomate.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un experimento en condiciones controladas (12 h-luz, 24°C, Laboratorio Nematología EEA-INTA, Balcarce). Semillas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill., Florensa N° 143) fueron sembradas en macetas de 500 cm<sup>3</sup> creciendo durante 40 días, luego de lo cual se establecieron los siguientes

tratamientos (con 8 repeticiones): No inoculado con HMA (HMA0), Inoculado con HMA 50% (HMA50), e Inoculado con HMA 100% (HMA100). Las características de los sustratos, inóculos y tratamientos se detallan en la Tabla 1. Al trasplante (40 días) y previo a la inoculación con nematodos una submuestra de raíces de cada maceta fue retirada con un sacabocado (1,5 cm diámetro, 5 cm profundidad). Las raíces fueron procesadas para su tinción con azul tripán en lacto glicerol (Covacevich y Consolo, 2014) y se realizó la cuantificación microscópica del grado de colonización micorrícica (Trouvelot, 1986).

El inóculo de *M. incognita* provino de suelos del cinturón Hortícola Mar del Plata con cultivos de tomate y síntomas por ataque de nematodos. Se extrajeron de las raíces masas de huevos y se inocularon plantas de tomate con una masa de huevos cada una, luego de 50 días, se extrajeron y se realizaron cortes perineales de las hembras y se hizo un análisis morfotaxonómico de la población del nematodo para la identificación de la especie.

La mitad de las plantas (de 40 días) de cada tratamiento recibieron inóculo de nematodos a razón de 2 masas de huevos (~1.500 huevos/j2)/maceta, mientras que las restantes permanecieron sin inocular, conformando los tratamientos N100 y N0, respectivamente. De esta manera quedaron conformados 6 tratamientos (3 inoculación HMA x 2 inoculación Nematodos) con cuatro repeticiones.

A los 113 días después de la siembra y 77 días después de la inoculación con nematodos, se dió por finalizado el ensayo. Se cuantificó el peso fresco aéreo (PFA) y peso seco aéreo (PSA), el peso fresco de raíces (PFR), la colonización micorrícica. Una submuestra de raíces fue utilizada para la cuantificación de n° de agallas, n° de masas de huevos, n° de huevos (promedio de 10 masas), mientras que el sustrato de cada maceta fue utilizado para la determinación de la presencia del n° de j2 por 100 g de suelo y el análisis del pH, contenido de MO y P-Bray. Los resultados fueron comparados por análisis de la varianza (ANOVA), separando las medias a través del Test de diferencias mínimas significativas (DMS) ( $P < 0,05$ ).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Previo a la inoculación con nematodos, las plantas inoculadas con los consorcios con HMA presentaron una colonización que superó el 60% evidenciándose mayor infección en las que recibieron solo inóculo HMA (HMA100), mientras que las plantas que no recibieron inóculo HMA no evidenciaron colonización micorrícica en sus raíces (Fig. 1). Esto indicaría que 40 días son adecuados para garantizar colonización micorrícica en raíces de tomate.

A la finalización del ensayo, las plantas inoculadas con HMA que no fueron inoculadas con nematodos evidenciaron frecuencia de colonización micorrícica

que superó el 90%, independientemente de la concentración de inóculo inicial de HMA (Figura 1). Las plantas inoculadas con nematodos mostraron una leve disminución en todos los parámetros cuantificados para la colonización micorrícica, sin diferencias entre tratamientos de inoculación HMA y que aun así superaron la colonización de las plantas previo a la inoculación con nematodos. Como era de esperar, las plantas que no recibieron inóculo HMA no evidenciaron colonización micorrícica.

El sustrato de las macetas al finalizar el ensayo presentó características químicas que variaron en relación a la inoculación con HMA (Tabla 1), pero no fueron afectadas por la inoculación con nematodos. Se evidenció que las macetas que no recibieron sustrato con HMA (HMA0) presentaron características químicas similares a las determinadas previo a la realización del ensayo, mientras que las macetas cuyo sustrato estuvo conformado solo por el consorcio con HMA (HMA100) presentó las características previamente determinadas en dicho inóculo.

La abundancia de nematodos (j2) recuperados del sustrato y el número de agallas en raíces disminuyeron significativamente desde el tratamiento sin inóculo micorrícico (HMA0) hasta los tratamientos HMA50 y HMA100. Asimismo no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos inoculados con los dos niveles de HMA (Fig. 2, A-B). La cantidad de masas de huevos por planta y masas de huevos por gramo de raíz no presentaron diferencias significativas; aun así se evidenció el mismo comportamiento que para las agallas, detectándose disminución de las variables en los tratamientos inoculados con HMA. El número de huevos por masa de huevos no presentó diferencias significativas entre los tratamientos (Fig 2, C-D).

La inoculación con consorcios con HMA o con nematodos no afectó el crecimiento aéreo de las plantas de tomate (Fig. 3 A, B). Por el contrario, las plantas que no fueron inoculadas con HMA evidenciaron mayor crecimiento de raíces (Fig. 3 C, D) y la inoculación con nematodos no afectó este comportamiento. Ha sido ampliamente reportado que los hongos micorrícicos aumentan el volumen de exploración del suelo por parte de las raíces (volumen de suelo explorado por raíces + por hifas) de las plantas micorrizadas (Kaiser et al., 2015). Podría considerarse entonces que las plantas no micorrizadas destinaron más recursos a la producción de raíces para compensar el menor volumen de exploración radical en ausencia de hifas de HMA.

El presente estudio mostró una reducción de la densidad de nematodos (j2, agallas y masas de huevos). El mecanismo por el cual los HMA reducen el daño del nematodo no se ha determinado completamente. Las hipótesis van desde competencia por nutrientes y espacio (Smith y Read 2008), cambios microbianos en la micorrizosfera que alteran la quimiotaxis de los nematodos (Brussaard et



al., 2007), a la resistencia inducida a través de una preactivación del gen y de las correspondientes proteínas responsables de la defensa de las plantas frente a los ataques de patógenos (Slezack et al., 2000; Deliopoulos et al., 2007).

## CONCLUSIONES

Los resultados permiten confirmar que el adecuado establecimiento de la colonización micorrícica previo a la infección con nematodos ejerce un aparente control de la infección del nematodo *M. incognita* en raíces de tomate. Esto se ha detectado aun sin evidencias detectables en el crecimiento aéreo. Los resultados resaltan el rol que los HMA cumplen para el control biológico de patógenos de cultivos hortícolas de importancia agrícola, pudiendo ser utilizada dicha función como *servicio ecosistémico* en la reducción-eliminación de insumos químicos destinados al control de nematodos parásitos de plantas.

## BIBLIOGRAFÍA

- ANJOS, É.C.T.D.; CAVALCANTE, U.M.T.; GONÇALVES, D.M.C.; PEDROSA, E.M.R.; SANTOS, V.F.D.; MAIA, L.C. 2010. Interactions between an arbuscular mycorrhizal fungus (*Scutellospora heterogama*) and the root-knot nematode (*Meloidogyne incognita*) on sweet passion fruit (*Passiflora alata*). Brazilian Archives of Biology and Technology 53(4): 801-809.
- BARTLEM, D.G.; JONES, M.G.K.; HAMMES, U.Z. 2014. Vascularization and nutrient delivery at root-knot nematode feeding sites in host roots. J. Exp. Bot. 65: 1789-1798. doi:10.1093/jxb/ert415
- BRUSSAARD, L.; DE RUITER, P.C.; BROWN, G.G. 2007. Soil biodiversity for agricultural sustainability. Agriculture, ecosystems & environment, 121(3):233-244.
- COVACEVICH F, CONSOLO VF (Eds.). 2014. Manual de protocolos: Herramientas para el estudio y manipulación de Hongos Micorrícicos Arbusculares y Trichoderma. UNMdP. 115 p.
- DE LA PEÑA, E.; ECHEVERRÍA, S.R.; VAN DER PUTTEN, W.H.; FREITAS, H.; MOENS, M. 2006. Mechanism of control of root feeding nematodes by mycorrhizal fungi in the dune grass *Ammophila arenaria*. New Phytologist 169(4): 829-840.
- DELIOPOULOS, T.; DEVINE, K.J.; HAYDOCK, P.P.; JONES, P.W. 2007. Studies on the effect of mycorrhization of potato roots on the hatching activity of potato root leachate towards the potato cyst nematodes, *Globodera pallida* and *G. rostochiensis*. Nematology 9(5): 719-729.

- FERRAZ, L.; BROWN, D. 2002. An introduction to nematodes. Plant Nematology. Pensoft. Sofia-Moscow.
- GIANINAZZI, S.; GOLLOTTE, A.; BINET, M.-N.; VAN TUINEN, D.; REDECKER, D.; WIPF, D. 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20(8): 519-530.
- KAISER, C.; KILBURN, M.R.; CLODE, P.L.; FUCHSLUEGER, L.; KORANDA, M.; CLIFF, J.B.; SOLAIMAN, Z.M.; MURPHY, D.V. 2015. Exploring the transfer of recent plant photosynthates to soil microbes: mycorrhizal pathway vs direct root exudation. *New Phytologist* 205(4): 1537-1551.
- MARRO, N.; LAX, P.; CABELLO, M.; DOUCET, M.E.; BECERRA, A.G. 2014. Use of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus intraradices* as biological control agent of the nematode *Nacobbus aberrans* parasitizing tomato. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 57(5): 668-674.
- SLEZACK, S.; DUMAS-GAUDOT, E.; PAYNOT, M.; GIANINAZZI, S. 2000. Is a fully established arbuscular mycorrhizal symbiosis required for bioprotection of *Pisum sativum* roots against *Aphanomyces euteiches*? *Molecular Plant-Microbe Interactions* 13(2): 238-241.
- SMITH, S.; READ, D. 2008. *Mycorrhizal symbiosis*. Academic Press, London, UK.
- TCHABI, A.; COYNE, D.; HOUNTONDI, F.; LAWOUIN, L.; WIEMKEN, A.; OEHL, F. 2010. Efficacy of indigenous arbuscular mycorrhizal fungi for promoting white yam (*Dioscorea rotundata*) growth in West Africa. *Applied Soil Ecology* 45(2): 92-100.
- TROUVELOT, A. 1986. Mesure du taux de mycorrhization VA d'un système racinaire. Recherche de méthodes d'estimation ayant une signification fonctionnelle. In: Gianinazzi-Pearson, V.; Gianinazzi, S. (eds.) *Physiological and Genetical Aspects of Mycorrhizae*, INRA Press, Paris. pp. 217-221.
- WESEMAEL, W.M.; VIAENE, N.; MOENS, M. 2011. Root-knot nematodes (*Meloidogyne* spp.) in Europe. *Nematology* 13(1): 3-16.

## TABLAS

**Tabla 1.** Características químicas de los sustratos e inóculos utilizados durante el ensayo. Para cada tratamiento de inoculación con HMA, datos corresponden a promedios de N0 y N100 (n=8)

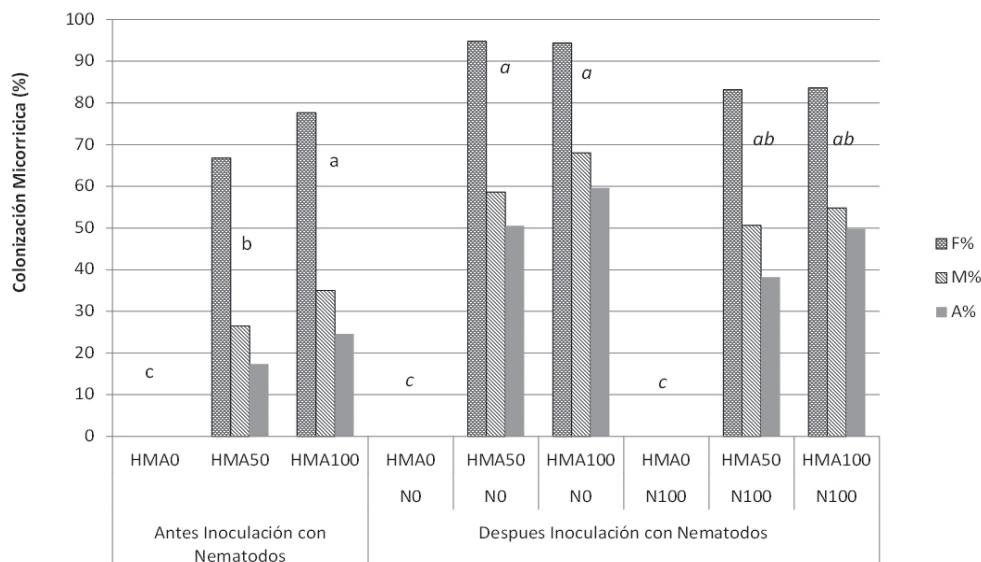
Denominación	Descripción/Procedencia	pH (1: 2,5)	P-Bray (ppm)	MO (%)
Sustrato inicio ensayo	Suelo:perlita:arena (2:1:1)	7,5	13,8	1,6
Inóculo HMA	Procedencia <sup>1</sup> : 4 sitios agrícolas de Balcarce con cultivos de Trigo/Soja/Maíz; Trigo/Soja <sup>2</sup> ; Girasol y Maíz; 1 sitio Prístino en Tandil y 1 monocultivo de soja en Saliquelo	7,8	18,8	3,0
Sustrato fin ensayo				
HMA0	100% Sustrato	8,0 a	14,2 b	1,7 b
HMA50	50% Sustrato 50% inóculo HMA	7,4 a	13,9 b	2,1 ab
HMA100	100% inóculo HMA	7,8 a	19,4 a	3,0 a

Columnas con letras diferentes indican diferencias significativas entre tratamientos de inoculación con HMA ( $P < 0,05$ )

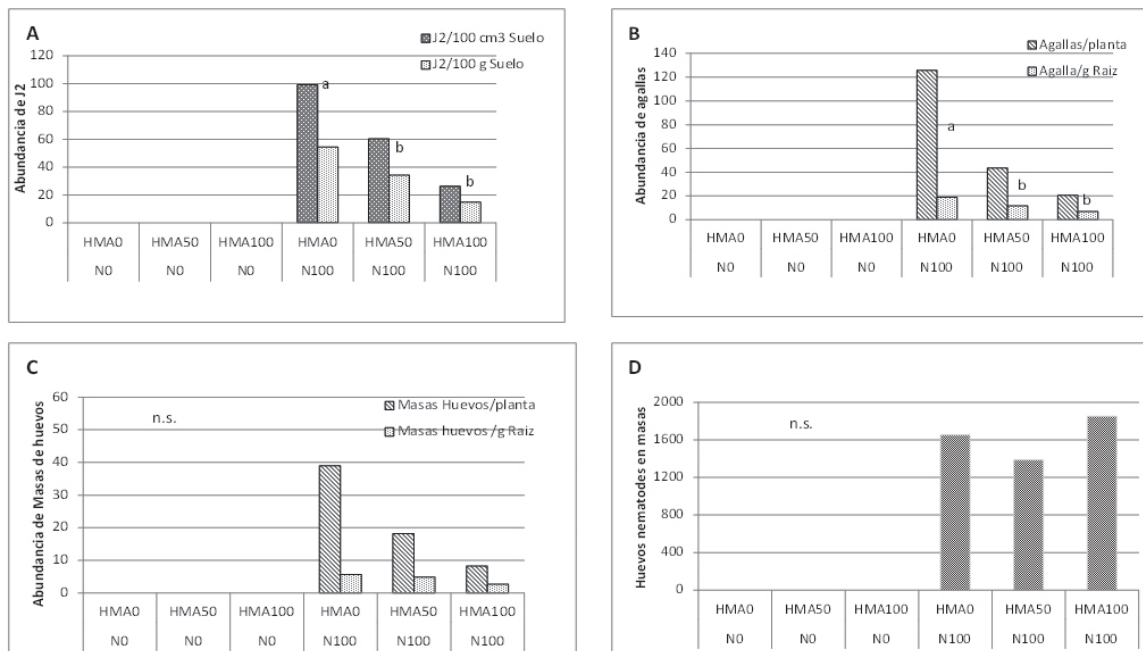
<sup>1</sup> Inoculo HMA: mezcla homogénea de suelo-inóculos (6 meses multiplicación) multiplicados en Planta Trampa durante 6 meses de acuerdo a Covacevich y Consolo (2014)

## FIGURAS

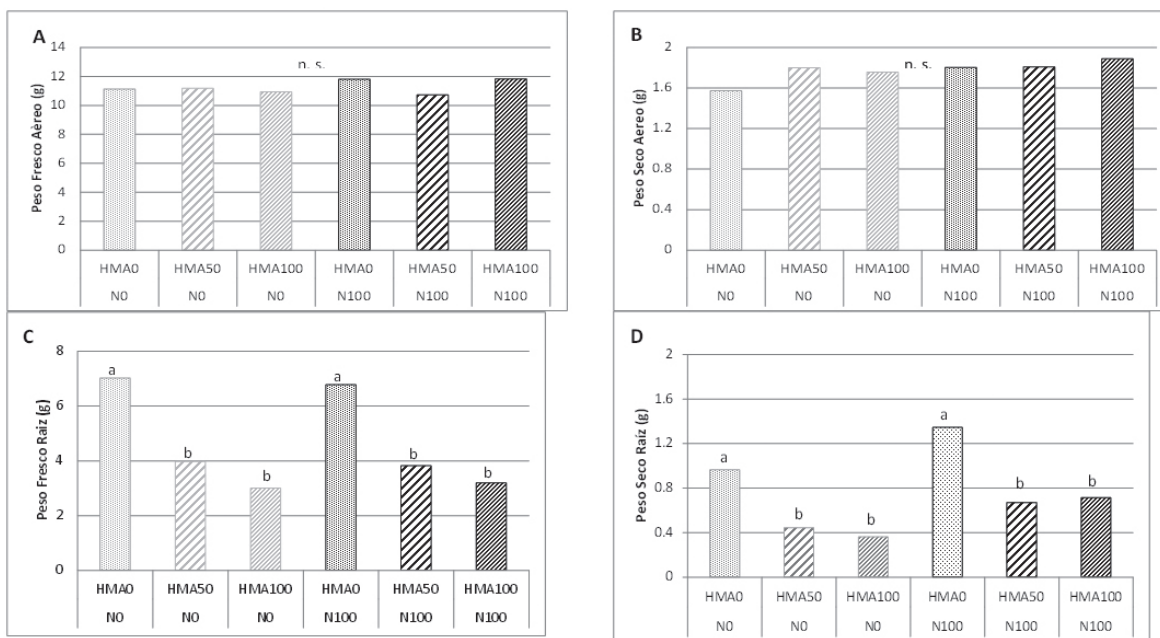
**Figura 1.** Colonización micorrícica (F%: frecuencia de colonización, M%: intensidad de colonización, A%: contenido de arbusculos) en raíces de tomate antes y después de la inoculación con nematodos. Columnas con letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos de inoculación. Fuente normal: antes de la inoculación con nematodos; Fuente cursiva: después de la inoculación con nematodos.



**Figura 2.** Abundancia de larvas J2, agallas, masa de huevos y huevos de nematodos (A, B, C, D, respectivamente) en raíces de plantas de tomate inoculadas con consorcios con hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y con nematodos *M. incognita* (N). Columnas con letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos de inoculación.



**Figura 3.** Peso fresco y seco aéreo y radical en plantas de tomate (113 días) inoculadas con consorcios con HMA y nematodos. Columnas con letras distintas indican diferencias significativas ( $P < 0,05$ ) entre tratamientos de inoculación.



## **EFFECTO DEL USO DE GLIFOSATO EN EL CULTIVO DE SOJA SOBRE LOS PRINCIPALES GRUPOS DE MACROFAUNA**

*De Falco, Pablo (1,\*); Di Ciocco, César (3); Penón, Eduardo (1); Bedano, José C. (2)*  
*1 INEDES - Departamento de Tecnología Universidad Nacional de Luján. 2 Departamento de Geología, FCEFQYN, Universidad Nacional de Río Cuarto. 3 INEDES - Departamento de Ciencias Básicas Universidad Nacional de Luján*  
*\* [pdefalco@gmail.com](mailto:pdefalco@gmail.com)*

### **RESUMEN**

El glifosato es el herbicida más utilizado en la agricultura argentina. En el mecanismo de acción se inhiben enzimas que no están presentes en animales y, por lo tanto, el glifosato no debería ser tóxico para los animales. Sin embargo los efectos sobre la biología y ecología de artrópodos han sido poco estudiados. El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del glifosato sobre la macrofauna edáfica. El ensayo se realizó en un suelo Argiudol Típico en la Universidad Nacional de Luján en parcelas de 10x60 m con un diseño en bloques al azar. Se evaluó durante el invierno, un barbecho químico con glifosato y un barbecho con vegetación espontánea. Durante el verano se sembró soja en ambos tratamientos. La inclusión de un barbecho de glifosato tuvo efectos negativos sobre las comunidades de macrofauna respecto a un barbecho natural. Se observó un efecto estacional marcado en la abundancia total de macrofauna. La abundancia de lombrices tuvo una respuesta negativa a la inclusión de un barbecho químico con glifosato. El barbecho natural mostró mayores abundancias y en el último muestreo de soja alcanzó su máxima diferenciación también en el mismo tratamiento.

Las hormigas no mostraron un patrón de respuesta consistente en el tiempo. A medida que avanzó la rotación, los coleópteros fueron menos abundantes en el tratamiento glifosato que en el natural.

En los Análisis de correspondencia detendenciados se obtuvo una diferenciación entre las comunidades en relación al tipo de cobertura entre la soja en el verano o los barbechos de invierno. La mayoría de los muestreos de soja, se agruparon y se asociaron a Lumbricina, Formicidae y Coleoptera.

**Palabras clave:** Glifosato, macrofauna edáfica, soja

### **INTRODUCCIÓN**

El glifosato [N- (fosfonometil) glicina] es uno de los herbicidas clave utilizados en la agricultura. Se trata de un herbicida sistémico usado para controlar plantas anuales y perennes en el cultivo de soja debido a su bajo costo, su control

efectivo de un amplio espectro de malezas y su relativamente baja toxicidad para algunos organismos testeados (Busseet *al.*, 2001). El uso mundial de glifosato se ha incrementado debido al aumento de la producción de cultivos transgénicos, de los cuales casi el 90% tienen resistencia a glifosato (Duke y Powles, 2008). Esto llevó a un aumento en el consumo de herbicidas, que en la Argentina pasó de 25 a 246 millones de litros (1992-2012) (CASAFE, 2012). El glifosato actúa mediante la inhibición de la enzima 5-enolpiruvilsiquimato ácido-3-fosfato sintasa, utilizada en la producción de tres aminoácidos vitales para las plantas (Hernández *et al.*, 1999). Existe una creciente preocupación de que el uso generalizado de glifosato puede causar consecuencias indeseables sobre la nutrición de las plantas y cambios en las comunidades microbianas del suelo, como por ejemplo un aumento de patógenos de las plantas (Yamada *et al.*, 2009). El glifosato inhibe la actividad de enzimas que no están presentes en animales y, por lo tanto, no debería ser tóxico para ellos. Sin embargo, sus efectos sobre la biología y ecología de artrópodos han sido poco documentados hasta el momento (Manzoni *et al.*, 2006). Además, en las formulaciones comerciales de glifosato, el principio activo está mezclado con agentes tensioactivos, que pueden ser perjudiciales, es decir, neurotóxicos o repelentes, para los organismos no objetivo (Tsui y Chu, 2003). El objetivo del trabajo fue evaluar el efecto del glifosato sobre la macrofauna edáfica.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Los ensayos se realizaron en el campo experimental de la Universidad Nacional de Luján, provincia de Buenos Aires, en parcelas experimentales con un diseño de bloques completos al azar, con tres réplicas y unidades experimentales de 10 x 60 m (600 m<sup>2</sup>). Se evaluó el efecto del uso de glifosato respecto a un barbecho sin la aplicación de agroquímicos, en dos épocas: durante el período invernal y durante el cultivo de soja en siembra directa, sobre la macrofauna del suelo. El ensayo comprendió dos tratamientos:

- 1) Vegetación espontánea sin glifosato
- 2) Barbecho químico con glifosato.

Durante el período invernal, el tratamiento de vegetación espontánea (en adelante denominado "Natural"), no recibió ningún tipo de manejo ni de intervención durante todo el período, y se permitió el libre crecimiento de la vegetación espontánea dentro de la parcela. En el tratamiento de barbecho químico (en adelante denominado "Glifosato") se realizó una aplicación de glifosato comercial (48% de principio activo) con una dosis de 4 litros de producto por hectárea, unos 45 días después de la fecha de cosecha del cultivo de soja antecesor. De esta manera se mantuvo la parcela libre de vegetación durante el período invernal o en algunos casos con escasa vegetación muerta.

En el período estival se sembraron todas las parcelas con soja. Para ello se emplearon cultivares de soja comerciales de alto rendimiento de uso frecuente en la zona y se seleccionaron cepas bacterianas de *Bradyrhizobium japonicum* de alta fijación de nitrógeno para su inoculación. Durante el desarrollo del cultivo de soja no se realizaron aplicaciones de glifosato.

Se realizaron 4 muestreos, 2 en los tratamientos invernales (noviembre de 2009 y de 2011) y 2 en los tratamientos estivales (mayo de 2011 y junio de 2013). Para la toma de muestras se extrajeron 2 monolitos de suelo de cada parcela de 25 cm de diámetro por 10 cm de profundidad. Las muestras se procesaron manualmente para extraer la macrofauna. Para el análisis de los datos se utilizó un abordaje univariado mediante modelos lineales generalizados (MLG) y un abordaje multivariado mediante el uso de análisis de correspondencia detendenciado (ACd). En los modelos, se definieron como factores fijos al tratamiento (natural; glifosato), al tiempo de muestreo (fechas de muestreo) y a la interacción entre tratamiento y tiempo de muestreo. Las comparaciones a posteriori se realizaron mediante el test DGC (Di Rienzo *et al.*, 2013).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se pudo observar que la inclusión de un barbecho químico invernal con aplicación de glifosato en la rotación agrícola, tuvo en general efectos negativos sobre las comunidades de macrofauna respecto a un barbecho natural con vegetación espontánea. La abundancia total de macrofauna en tres de los cuatro muestreos fue mayor en el barbecho espontáneo (denominado natural) que en el barbecho con glifosato (Figura 1). Se observó un efecto estacional marcado en la abundancia total, posiblemente por un efecto compensatorio entre las abundancias marcadamente estacionales de las lombrices, con máximos en verano. Las variaciones estacionales en la abundancia y presencia de los taxones de artrópodos en el suelo están fuertemente influenciadas por los cambios en las condiciones ambientales abióticas y bióticas del ambiente del suelo con el transcurso de las estaciones (Santana de Lima *et al.*, 2010), particularmente por el efecto de la interacción entre tipos de cobertura vegetal y microclima a nivel del canopeo (Antunes *et al.*, 2008).

El efecto del tratamiento evidenció una baja en la abundancia total de macrofauna en el tratamiento glifosato a medida que avanza la rotación.

La abundancia de lombrices tuvo una respuesta negativa a la inclusión de un barbecho químico con glifosato (Figura 1). En los muestreos invernales (donde se realizó la aplicación de glifosato), el tratamiento natural mostró mayores abundancias. En el último muestreo (soja) alcanzó su máxima diferenciación del otro tratamiento. El glifosato, luego de la aplicación, se puede adsorber a ciertas partículas de suelo. Estas partículas del suelo pueden ser tóxicas para los

organismos que ingieren cantidades significativas de suelo (Weltens *et al.*, 2000) durante su alimentación normal, como las lombrices de tierra endógeas.

Las hormigas no mostraron un patrón de respuesta consistente en el tiempo (Figura 1). Son organismos gregarios, lo que genera mucha variabilidad espacial de la abundancia.

Los coleópteros, en una primera etapa, resultaron favorecidos en el tratamiento glifosato, pero a medida que avanzó la rotación fueron menos abundantes que en el natural (Figura 1). Esto se interpreta como un efecto del glifosato que es evidente en este grupo, recién desde la mitad del ensayo. En general para este grupo, de importancia agroecosistémica, resultó favorable la inclusión de un barbecho de vegetación espontánea en la rotación respecto a un barbecho con glifosato.

En cuanto a Enchytraeidae, fueron colectados solamente en el último muestreo, con diferencias a favor del tratamiento natural y con abundancias bajas en ambos (Figura 1).

En el ACd se observó una diferenciación entre las comunidades en relación al tipo de cobertura al momento del muestreo, entre la soja en el verano o los barbechos de invierno (Figura 2). Es esperable que este patrón domine las diferencias, dado que además de la cobertura, se suma un efecto climático sobre la fauna. En el eje 1 hubo una diferenciación en los cultivos, donde todos los muestreos durante el cultivo de soja se ubicaron del lado izquierdo del eje. En cuanto a los períodos invernales, la diferenciación que se observó en el mismo eje es en función del año de muestreo. Además se observó una clara diferenciación del tratamiento glifosato de CC 2011 con respecto al resto.

En el eje 2 hubo una diferenciación clara del tratamiento natural de S 2013 respecto a los demás tratamientos, asociado a Nematomorpha, Isopoda y Gryllotalpidae principalmente. El resto de los muestreos de los tratamientos con soja, se agruparon y se asociaron a Lumbricina, Formicidae y Coleoptera. Los dos tratamientos invernales del año 2009 se asocian a los mismos grupos de macrofauna mencionados anteriormente. En cambio, el tratamiento natural en el invierno de 2011 se encuentra asociado a Araneae, mientras que el tratamiento glifosato no se asocia a ningún grupo de macrofauna en particular.

## CONCLUSIONES

-La incorporación de un barbecho químico con glifosato produjo un efecto negativo en la abundancia total de macrofauna, manifestando una disminución en su abundancia a medida que avanza la rotación respecto a un barbecho natural.

- Las lombrices tuvieron una respuesta negativa a la inclusión de un barbecho con glifosato mostrando una disminución en su abundancia. El efecto negativo



sobre los coleópteros es evidente a partir de la mitad del ensayo. Es probable que parte del efecto sea a causa de la eliminación de la cubierta vegetal mediante el glifosato.

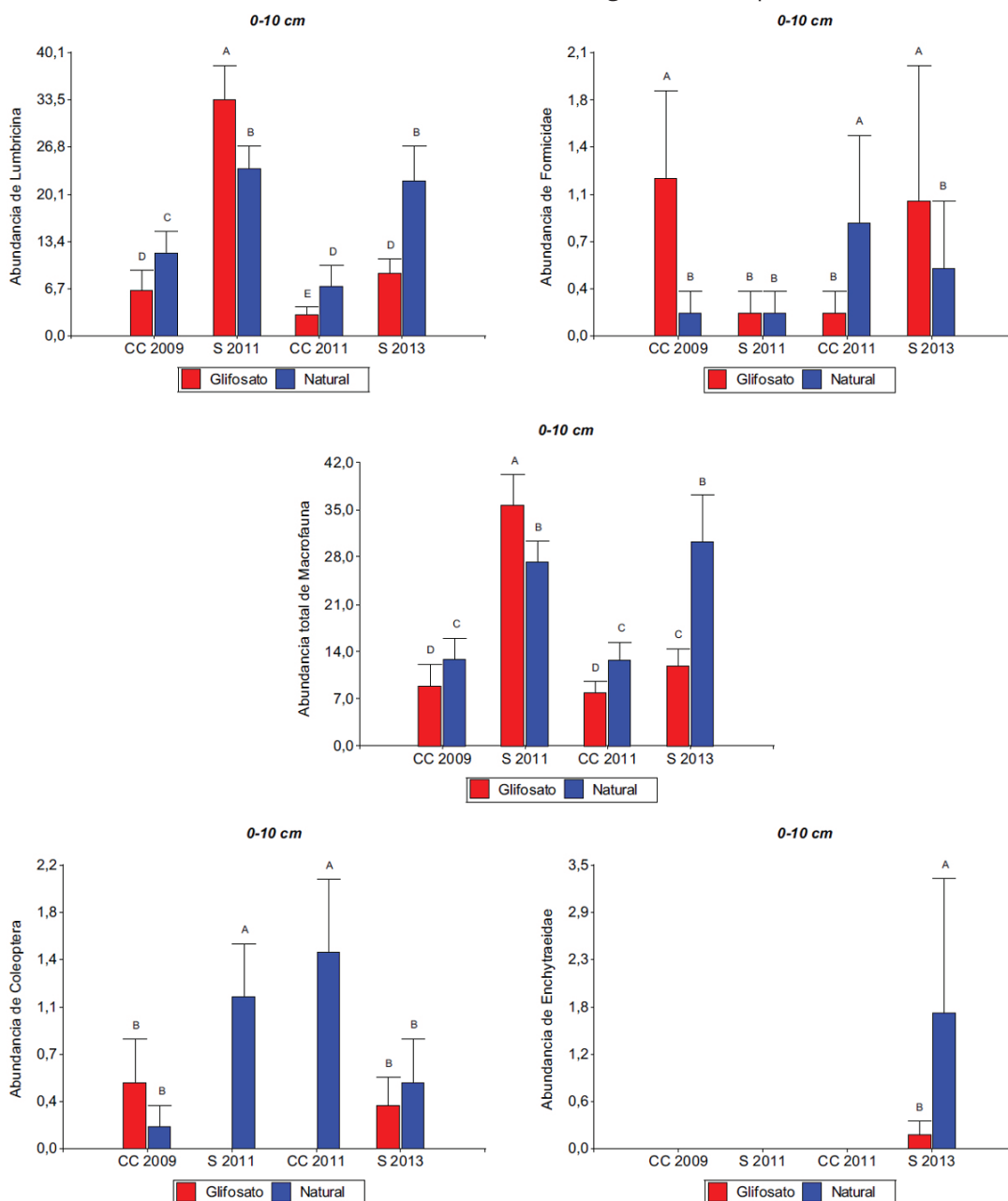
- No se observó un efecto claro del glifosato sobre la abundancia de hormigas. El efecto sobre enquitreidos tampoco fue robusto en cuanto a los dos tratamientos y en el tiempo.

## BIBLIOGRAFÍA

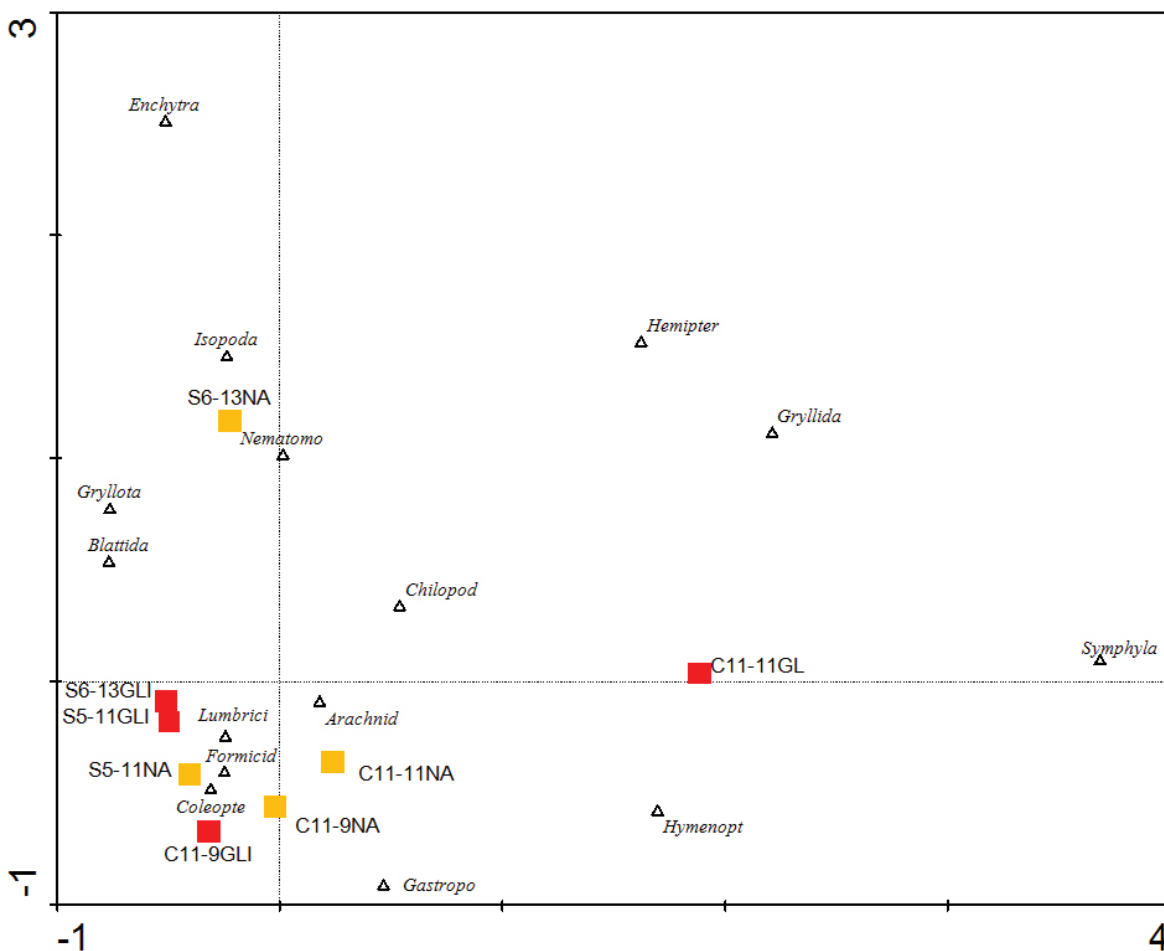
- Antunes, S., Pereira, R., Sousa, J.P., Santos, M.C., Gonçalves, F. 2008. Spatial and temporal distribution of litter arthropods in different vegetation covers of Porto Santo Island (Madeira Archipelago, Portugal). *European Journal Soil Biology*. 44 (1): 45-56.
- Busse, M.D., Ratcliff, A.W., Shestak, C.J., Powers, R.F., 2001. Glyphosate toxicity and the effects of long-term vegetation control on soil microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*. 33 (12): 1777-1789.
- Cámara de Sanidad Agropecuaria y Fertilizantes de la República Argentina (CASAFE). 2012. Mercado Argentino de Productos Fitosanitarios. Disponible en [www.casafe.org.ar](http://www.casafe.org.ar) Fecha de acceso: diciembre de 2016
- Carlisle, S.M., Trevors, J.T. 1988. Glyphosate in the environment. *Water, Air, and Soil Pollution*, 39 (3): 409-420.
- Duke, S.O., Powles, S.B., 2008. Glyphosate: a once-in-a-century herbicide. *Pest Management Science*. 64 (4): 319-325.
- Hernández, A., García-Plazaola, J.I., Becerril, J.M. 1999. Glyphosate effects on phenolic metabolism of nodulated soybean (*Glycine max* L. merr.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 47(7): 2920-2925.
- Manzoni, G.C., Grützmacher, A.D., Pinheiro Giolo, F., da Roza Härter, W., Müller, C. 2006. Selectividade de agrotóxicos usados na produção integrada de maçã para adultos de *Trichogramma pretiosum*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 41 (10): 1461-1467.
- Santana de Lima, S., de Aquino, M.A., Leite, L.F.C., Velásquez, E., Lavelle, P. 2010. Relação entre macrofauna edáfica e atributos químicos do solo em diferentes agroecossistemas. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. 45 (3): 322-321.
- Tsui, M.T.K., Chu, L.M. 2003. Aquatic toxicity of glyphosate-based formulations: comparison between different organisms and the effects of environmental factors. *Chemosphere*. 52 (7): 1189-1197.

- Weltens, R., Goossens, R., Van Puymbroeck, S. (2000). Ecotoxicity of contaminated suspended solids for filter feeders (*Daphnia magna*). Archives of Environmental Contamination and Toxicology. 39 (3): 315-323.
- Yamada, T., Kremer, R.J., De Camargo, E., Castro, P., Wood, B.W. 2009. Glyphosate interactions with physiology, nutrition, and diseases of plants: threat to agricultural sustainability? European Journal of Agronomy. 31 (3): 111-113.

**Figura 1.** Abundancia total y de los grupos más relevantes de macrofauna. Letras diferentes indican diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).



**Figura 2.** Análisis de correspondencia detendenciado donde se representan simultáneamente los taxones de alto rango y los tratamientos evaluados.



## CONTRIBUCIÓN RELATIVA DE MICRO, MESO Y MACROFAUNA EN LA DESCOMPOSICIÓN DE MEZCLAS DE HOJARASCA DE BOSQUES NATIVOS E INVADIDOS POR *L. LUCIDUM*

Fernandez Romina Daiana (1,\*); Moreno María Laura (2); Aragón Roxana (1),  
Pérez Harguindeguy (2) Natalia

1 Instituto de Ecología Regional (IER) CONICET-UNT.

2 Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV) CONICET-UNC.

Autor de correspondencia: romi.d.fernandez@gmail.com

### RESUMEN

La biota del suelo ha sido reconocida como uno de los principales factores reguladores de la descomposición de hojarasca. Tanto su composición como su actividad están relacionadas con las comunidades de plantas que producen la hojarasca, que será su recurso de alimentación y su hábitat. Debido a lo anterior, cambios en la vegetación, como los producidos por la invasión de especies exóticas, pueden alterar a la biota edáfica y a través de ella a la descomposición de hojarasca. En este trabajo analizamos la contribución relativa de micro, meso y macrofauna en la descomposición de mezclas de hojarasca de bosques invadidos por *Ligustrum lucidum* (ligustro) y bosques nativos en las Yungas de Tucumán. Para ello incubamos mezclas de hojarasca de bosques de ligustro y de bosques nativos en los mismos sitios donde fueron originadas, usando bolsas con tres tamaños de malla para excluir a la fauna según su tamaño corporal: 1) 0,5 mm (solo microfauna); 2) 2 mm (micro y mesofauna) y 3) 6 mm (microfauna, meso y macrofauna). Analizamos la descomposición en relación al tipo de bosque y al tamaño de malla de las bolsas mediante modelos lineales mixtos. Después de un año de incubación, la descomposición de las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro fue significativamente mayor que la descomposición de las mezclas de bosques nativos. La descomposición de las mezclas de bosques de ligustro fue mayor en bolsas de 6 mm pero no hubo diferencias en bolsas de 2 mm y de 0,5 mm de malla. Por su parte, la descomposición de las mezclas de bosques nativos fue mayor en bolsas de 6 mm luego en las de 2 mm y por último en bolsas de 0,5 mm de malla. Nuestros resultados sugieren que en bosques de ligustro, la microfauna sería importante porque sola descompuso la mitad de la hojarasca inicial y también la macrofauna sería importante ya que incrementó la descomposición de sus mezclas, mientras que, en los bosques nativos los tres grupos de la fauna contribuirían de manera importante a la descomposición de sus mezclas. La variable tipo de bosque explicó la mayor variabilidad en la descomposición de las mezclas de hojarasca sugiriendo que, la calidad de las mezclas o las condiciones del ambiente generado por ambos tipos de bosque es

más importante que la fauna del suelo para la descomposición. Futuros estudios deberían analizar la composición de las comunidades de la biota del suelo, para saber si las diferencias en las contribuciones de los grupos de fauna encontradas entre ambos tipos de bosques se deben a diferencias en la abundancia, riqueza o identidad de la fauna en los suelos de cada tipo de bosque.

**Palabras clave:** biota del suelo, especies exóticas invasoras, procesos ecosistémicos.

## INTRODUCCIÓN

La biota del suelo ha sido reconocida como uno de los principales factores reguladores de la descomposición de hojarasca (Swift et al. 1979; Seastedt 1984). La composición y el funcionamiento de la biota del suelo están estrechamente relacionados con la composición y el funcionamiento de la comunidad de plantas (Wardle et al. 2004). En particular, se ha señalado que la calidad química de la hojarasca producida por las especies de plantas es el principal determinante de la composición y actividad de la fauna del suelo (Wardle et al. 2006). De esta manera, es esperable que un cambio en la vegetación, como el producido por la invasión de especies exóticas, afecte a la biota del suelo y por lo tanto al proceso de descomposición (Brown et al. 2001; Mayer et al. 2005; Negrete-Yankelevich et al. 2007).

Las especies exóticas pueden afectar a la biota del suelo a través de uno o varios mecanismos que pueden actuar simultáneamente (Wolfe y Klironomos 2005). Por ejemplo, si las especies exóticas producen hojarasca con diferente calidad y/o cantidad que las especies nativas esto modifica la disponibilidad de nutrientes, que en consecuencia puede afectar a la biota del suelo (Medina-Villar et al. 2016). Además, si las especies exóticas forman bosques monoespecíficos y producen mezclas de hojarasca más homogéneas, podría ofrecer menor oportunidad para la coexistencia de numerosas especies de descomponedores. Finalmente, las plantas exóticas pueden alterar las condiciones del ambiente local de descomposición y las propiedades edáficas, que también influyen en la composición y el funcionamiento de la biota del suelo. Pocos estudios se enfocaron en los efectos que la invasión de especies exóticas pueden tener sobre la composición y actividad de la fauna del suelo (e.g., Belnap y Phillips 2001, Ehrenfeld et al. 2001; Belnap y Phillips 2005), y cómo, a su vez, estos cambios afectan las tasas de descomposición de hojarasca.

El objetivo principal de este trabajo es comparar la contribución relativa de la micro, meso y macrofauna en la descomposición de mezclas de hojarasca de bosques invadidos por ligustro y bosques nativos. Dado que los bosques de ligustro producen menor cantidad de hojarasca (Ayup et al. 2014) y sus mezclas están compuestas casi exclusivamente por hojas de ligustro, se espera que estos

cambios impacten negativamente en la contribución de la fauna del suelo y en consecuencia, en la descomposición de su hojarasca. También se espera que la tasa de descomposición disminuya con la exclusión de los grupos de fauna más grandes debido a su importante papel en la fragmentación de hojarasca (Swift et al. 1979).

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **ÁREA DE ESTUDIO Y DISEÑO EXPERIMENTAL**

El estudio se realizó en la localidad de Horco Molle, en el pedemonte de la Sierra de San Javier (26° 70´ S, 65° 35´ O), Tucumán, Argentina. El área forma parte del Parque Sierra de San Javier, área protegida que depende de la Universidad Nacional de Tucumán. La vegetación de la zona corresponde al piso montano inferior de la Provincia Fitogeográfica de las Yungas (Cabrera 1976). Los suelos pertenecen al orden de los Entisoles, la temperatura media anual es de 18°C y el rango promedio de precipitaciones va desde 900 hasta 1448 mm ocurriendo la mayoría durante el verano (Hunzinger 1997). Se trabajó con un diseño pareado con 5 sitios por cada tipo de bosque (5 pares de bosques de ligustro y bosques nativos). En la elección de los sitios se consideró que tengan similares condiciones de edad (entre 30 y 50 años de sucesión), altitud (entre 500 y 700 m) y pendiente, de manera tal que la descomposición esté determinada principalmente por las características de la vegetación. Los pares fueron seleccionados teniendo en cuenta la similitud en edad y una menor distancia geográfica (la distancia entre los miembros de cada par era de 200 a 500 m). Durante el período marzo 2013-marzo 2014 se colectaron mezclas de hojarasca producidas de forma natural en los sitios de cada tipo de bosque, mediante trampas de hojarasca. Las trampas de hojarasca consistían en bolsas de plástico extendidas y colocadas al azar en cada sitio, algunas sobre el suelo y otras a una altura de 80 cm del suelo. Las mezclas de hojarasca fueron conservadas en bolsas de papel madera hasta el inicio del experimento.

### **CONTRIBUCIÓN RELATIVA DE MICRO, MESO Y MACROFAUNA EN LA DESCOMPOSICIÓN**

Para evaluar la contribución relativa de micro, meso y macrofauna en la descomposición de mezclas naturales de hojarasca de bosques nativos y de ligustro, se llevo a cabo un experimento de descomposición usando bolsas con tres tamaños de malla para excluir a la fauna según su tamaño corporal. Los tamaños de malla de las bolsas de descomposición fueron: 1) 0,5 mm (permite el ingreso solo de microfauna); 2) 2 mm (permite el ingreso de micro y mesofauna) y 3) 6 mm (permite el ingreso de microfauna, meso y macrofauna) (Bradford et al 2002). Todos los tamaños de malla permiten la entrada de bacterias y hongos.

El experimento de descomposición se realizó *in situ*, es decir que las mezclas se incubaron en los mismos sitios donde se colectaron, durante el período septiembre 2014 a septiembre 2015. Un total de 300 bolsas de descomposición de 20 x 20 cm conteniendo  $2 \pm 0,1$  gr de mezclas de hojarasca se incubaron en cada tipo de bosque. Previo a la incubación de las bolsas, se limpió la superficie de 2 x 2 m aproximadamente de cada sitio, luego las bolsas se colocaron sobre la superficie del suelo y se cubrieron con la hojarasca y vegetación que se había retirado durante la limpieza del sitio. Las bolsas se colectaron después de 30, 60, 90, 180 y 365 días de incubación. Las muestras obtenidas en cada recolección se limpiaron con pincel para eliminar restos de suelo y material vegetal extraño a las muestras. Posteriormente, las mezclas de hojarasca se secaron en estufa a 60°C durante tres días y se pesaron en una balanza analítica. Para corregir el peso seco inicial debido a la humedad que pueda tener la hojarasca, se pesaron tres sub-muestras de mezclas por sitio y luego se secaron en la estufa a 60°C durante tres días. El valor obtenido de las sub-muestras secas fue restado al peso inicial de la hojarasca; así se obtuvo un promedio del contenido de humedad de las mezclas de cada sitio. Este valor fue restado a todos los pesos iniciales de las mezclas colocadas en las bolsas. Finalmente, para determinar la descomposición de las mezclas de hojarasca se calculó la pérdida de peso seco (%) en relación al peso seco inicial antes de la incubación ( $(1 - (\text{peso seco final} / \text{peso seco inicial})) \times 100$ ) (Cornelissen 1996; Cornelissen et al. 1999).

#### ANÁLISIS DE DATOS

Para analizar la contribución relativa de micro, meso y macrofauna en la descomposición *in situ* de las mezclas naturales de hojarasca de ambos tipos de bosques, se emplearon modelos lineales generales y mixtos (Pinhero y Bates 2000). Como los experimentos fueron repetidos en el tiempo (5 fechas), se consideraron distintos tipos de estructura de varianza y matrices de covarianza. La variable de respuesta fue el porcentaje de pérdida de peso seco (%). El tipo de bosque (nativo vs ligustro), el tamaño de malla de las bolsas (0,5 mm; 2 mm y 6 mm de malla), su interacción (tipo de bosque\*tipo de bolsa) y el tiempo fueron considerados como efectos fijos. Mientras que el sitio fue incluido como con efecto aleatorio. El criterio utilizado para seleccionar el modelo apropiado fue el test de máxima verosimilitud (LRT). Las medias se compararon con LSD-Fisher como test a posteriori. Los análisis se llevaron a cabo con el programa estadístico InfoStat con interfase en R (paquete estadístico lme Di Renzo et al. 2015).

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de un año de incubación, las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro

se descompusieron, en promedio, un 54% mientras que las mezclas de bosques nativos se descompusieron un 36% (Figura 1). En todas las fechas de colecta, las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro presentaron mayor descomposición que las mezclas nativas (Figura 2). Si bien la contribución relativa de la micro, meso y macrofauna en la descomposición fue significativamente diferente sin considerar el tipo de bosque, cuando se analizó la interacción entre el tipo de bosque y tamaño de malla de las bolsas esta fue levemente significativa (Figura 3). La descomposición de las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro fue mayor en bolsas de 6 mm (57%) pero no hubo diferencias en la descomposición de mezclas en bolsas de 2 mm (52%) y de 0,5 mm de malla (52%). Por su parte, la descomposición de las mezclas de bosques nativos fue mayor en bolsas de 6 mm de malla (41%), seguida por las mezclas incubadas en bolsas de 2 mm de malla (35%) y por último en bolsas de 0,5 mm de malla (33%) (Figura 3). La descomposición parece estar fundamentalmente explicada por el tipo de bosque, datos sin publicar de Fernandez et al. indican que el efecto del tipo de bosque, a su vez, está dado principalmente por las diferencias de calidad en la hojarasca producida en cada tipo de bosque.

A escala local, la composición de la vegetación determina la calidad y cantidad de la mezcla de hojarasca que llega al suelo y las condiciones del ambiente local donde se desarrolla la fauna del suelo (Wardle et al. 2006). Debido a que los bosques de ligustro producen menor cantidad de hojarasca (Ayup et al. 2014) y sus mezclas son más homogéneas en términos de composición de especies, en comparación con las mezclas más heterogéneas de bosques nativos, se esperaba que estos cambios impacten negativamente en la contribución de la fauna del suelo y en consecuencia, en la descomposición de su hojarasca. Contrario a lo esperado, las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro presentaron mayor descomposición que las mezclas de bosques nativos. Se ha sugerido que, más que la diversidad de hojarasca, la calidad química de la hojarasca, sería el principal determinante de la composición y actividad de la fauna del suelo (Wardle et al. 2006). De esta manera, la mayor descomposición de las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro podría relacionarse con el hecho de que presentan mejor calidad y son más descomponibles que las mezclas de bosques nativos (Fernandez et al. datos no publicados)

También se esperaba que la tasa de descomposición de ambos tipos de bosque disminuya con la exclusión de meso y macrofauna, debido a su importante papel en la fragmentación de hojarasca (Swift et al. 1979). Contrario a lo esperado, la exclusión de la mesofauna (bolsas de 0,5 mm de malla) no afectó a la descomposición de las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro. Mientras que, la exclusión de la macrofauna (bolsas de 0,5 y de 2 mm de malla) disminuyó significativamente la tasa de descomposición de las mezclas de bosques de ligustro, aunque solo fue de un 5%. Estos resultados indican que



principalmente la micro y en menor medida la macrofauna son importantes en la descomposición de su hojarasca. Con respecto al bosque nativo, tanto la exclusión de la meso como de la macrofauna disminuyó la descomposición de sus mezclas de hojarasca, lo que sugiere que la micro, meso y macrofauna contribuye de manera significativa a la descomposición de sus mezclas.

## CONCLUSIONES

Los resultados de este trabajo sugieren que en los bosques de ligustro principalmente la microfauna y en menor medida la macrofauna tendrían un papel importante en la descomposición, pero la mesofauna no sería importante, mientras que en bosques nativos la contribución de los tres grupos de fauna sería relevante para la descomposición de sus mezclas. La variable tipo de bosque explicó la mayor variabilidad en la descomposición de las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro y nativos sugiriendo que, o la calidad química o las condiciones del ambiente generado por ambos tipos de bosque es más importante que la actividad de la fauna del suelo para la descomposición. Futuros estudios deberían analizar la composición de las comunidades de la biota del suelo, para saber si las diferencias encontradas en las actividades de los grupos de fauna entre ambos tipos de bosques se deben a diferencias en la abundancia, riqueza o identidad de la fauna en sus suelos. Por otro lado, debería analizarse cómo se relacionan estas variables con la calidad química de las mezclas y las condiciones del ambiente local de ambos tipos de bosques.

**Institución financiadora:** Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET).

## BIBLIOGRAFÍA

- Ayup M.M., Montti L., Aragón R. y Grau H.R. (2014). Invasion of *Ligustrum lucidum* (Oleaceae) in the southern Yungas: Changes in habitat properties and decline in bird diversity. *Acta Oecologica*, 54:72-81.
- Belnap J, Phillips S. (2001). Soil biota in an ungrazed grassland: response to annual grass (*Bromus tectorum*) invasion. *Ecological Applications* 11:1261-75.
- Belnap, J., Phillips, S.L., Sherrod, S.K. y Moldenke, A. (2005). Soil biota can change after exotic plant invasion: does this affect ecosystem processes? *Ecology*, 86, 3007-3017.
- Bradford MA, Tordoff GM, Eggers T, et al. (2002) Microbiota, fauna, and mesh size interactions in litter decomposition. *Oikos* 99:317-323.

- Brown GG, C Fragoso, I Barois, P Rojas, JC Patrón, J Bueno, AG Moreno, P Lavelle, V Ordaz, C Rodríguez. (2001). Diversidad y rol funcional de la macrofauna edáfica en los ecosistemas tropicales mexicanos. *Acta Zoológica Mexicana (n.s.)* 1: 79-110.
- Cabrera A. (1976). Regiones fitogeográficas de Argentina. *Enciclopedia Argentina de Agricultura y Jardinería* 2 (1): 1-85.
- Cornelissen J.H.C. (1996). An experimental comparison of leaf decomposition rates in a wide range of temperate plant species and types. *Journal of Ecology*, 573-582.
- Cornelissen J.H., Pérez Harguindeguy N., Díaz S. et al. (1999). Leaf structure and defence control litter decomposition rate across species and life forms in regional floras on two continents. *New Phytologist*, 143(1): 191-200.
- Di Rienzo J.A., Casanoves F., Balzarini M.G., Gonzalez L., Tablada M., Robledo C.W. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Ehrenfeld JG, Scott N. (2001). Invasive species and the soil: effects on organisms and ecosystem processes. *Ecological Applications* 11:1259-60.
- Hunzinger H. (1995). La precipitación horizontal: su importancia para el bosque y a nivel de cuencas en la Sierra San Javier, Tucumán, Argentina. In: Brown, A.D., Grau, H.R. (Eds.), *Investigación, Conservación y desarrollo en selvas subtropicales de Montaña*. LIEY-UNT, Tucumán, Argentina, pp. 53-58.
- Mayer P. M., Tunnell S. J., Engle D. M. et al. (2005). Invasive Grass Alters Litter Decomposition by Influencing Macrodetrivores. *Ecosystems*, 8: 200-209.
- Medina-Villar S., Rodríguez-Echeverría S., Lorenzo P., et al. (2016). Impacts of the alien trees *Ailanthus altissima* (Mill.) Swingle and *Robinia pseudoacacia* L. on soil nutrients and microbial communities. *Soil Biology and Biochemistry*, 96: 65-73.
- Negrete-Yankelevich S, C Fragoso, AC Newton, OW Heal. (2007). Successional changes in soil, litter and macroinvertebrate parameters following selective logging in a Mexican cloud forest. *Applied Soil Ecology* 35: 340-355.
- Pinheiro, J. y Bates, D. (2000) *Mixed effects models in S and S-Plus*. Springer Verlag, New York.

Seastedt, T.R. (1984). The role of microarthropods in decomposition and mineralization processes. *Annual Review of Entomology*, 29: 25-46.

Swift M.J., Heal O.W. y Anderson J.M. (1979). *Decomposition in terrestrial ecosystems* (Vol. 5). Univ de California Press.

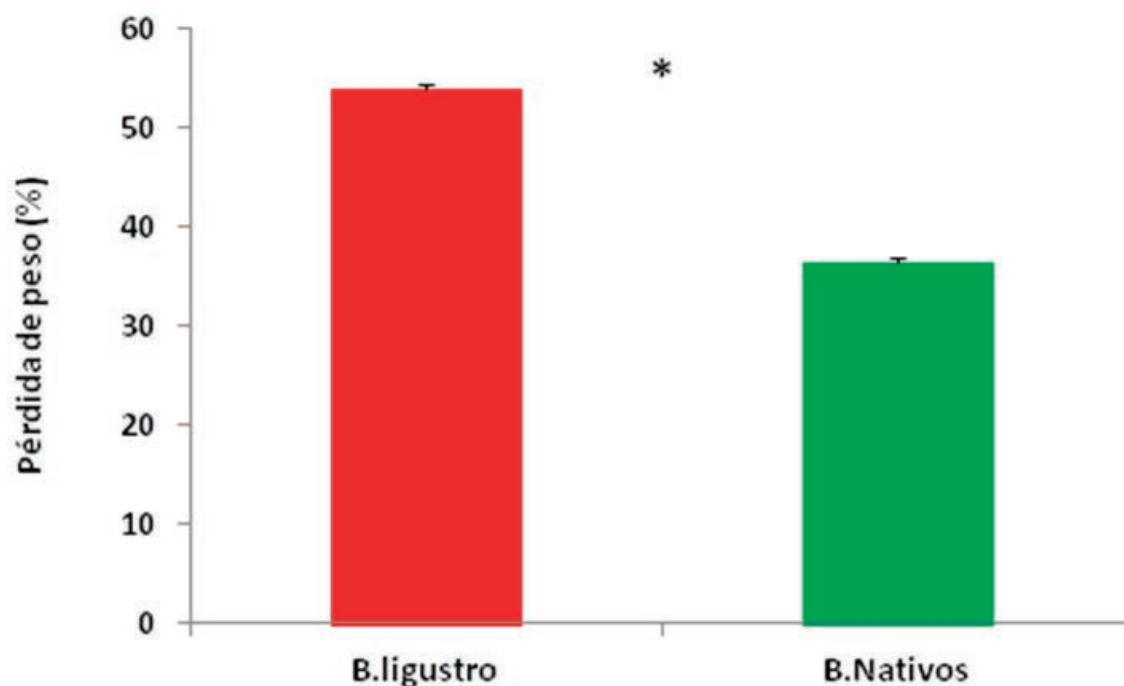
Wardle D.A., Bardgett R.D., Klironomos J.N. et al. (2004). Ecological linkages between aboveground and belowground biota. *Science*, 304: 1629-1633.

Wardle D.A., Yeates G.W., Barker G.M. y Bonner K.I. (2006). The influence of plant litter diversity on decomposer abundance and diversity. *Soil Biology and Biochemistry*, 38:1052-1062.

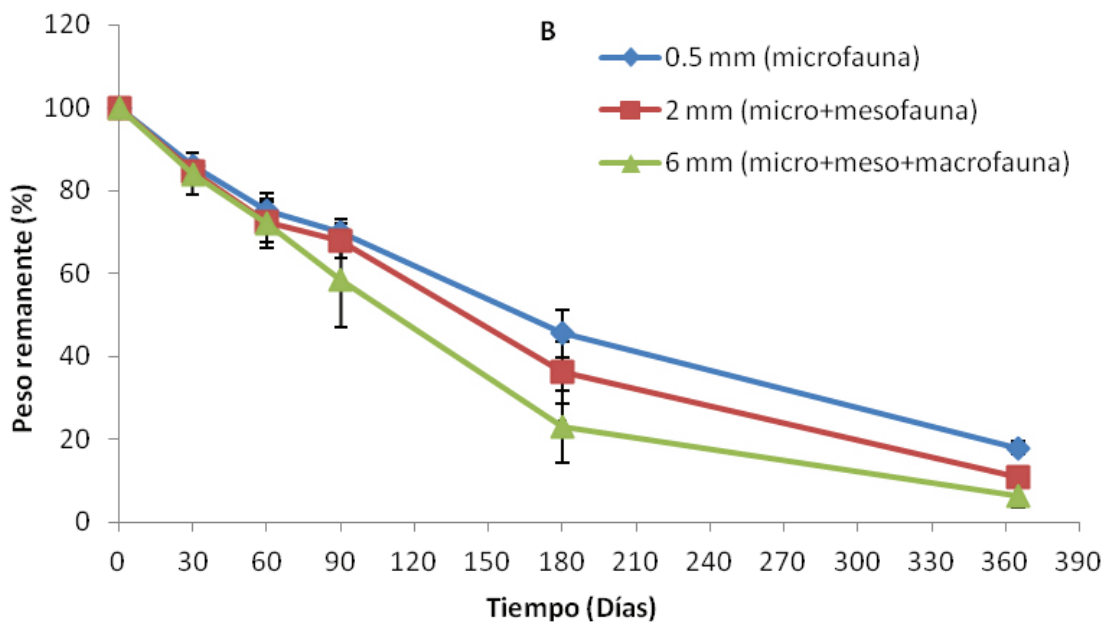
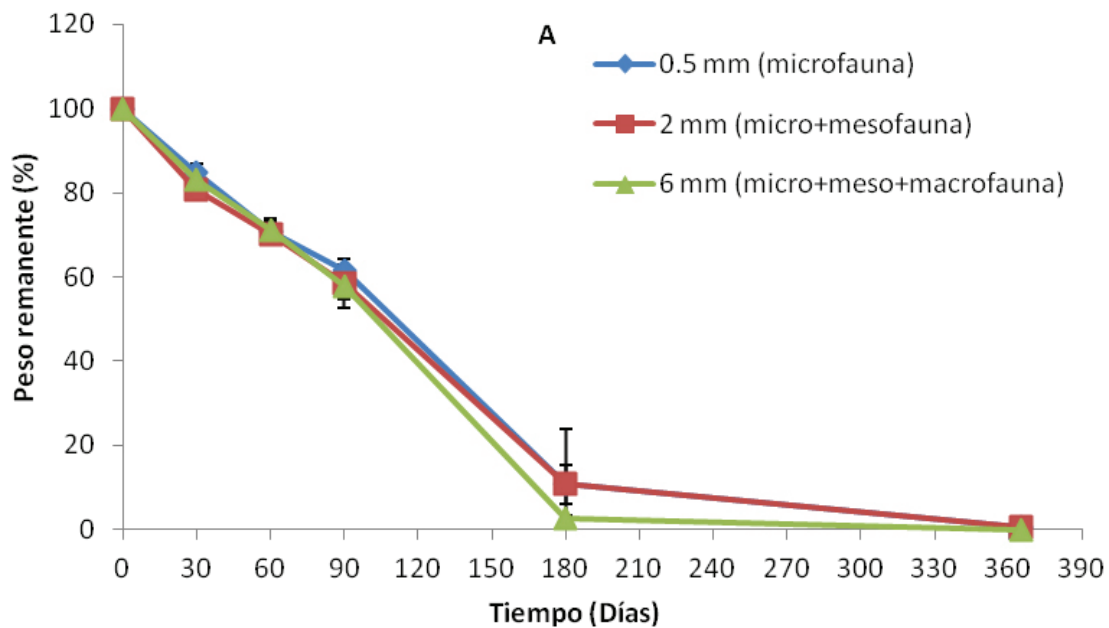
Wolfe B.E. y Klironomos J.N. (2005). Breaking New Ground: Soil Communities and Exotic Plant Invasion. *BioScience*, 55 (6): 477-487.

## FIGURAS

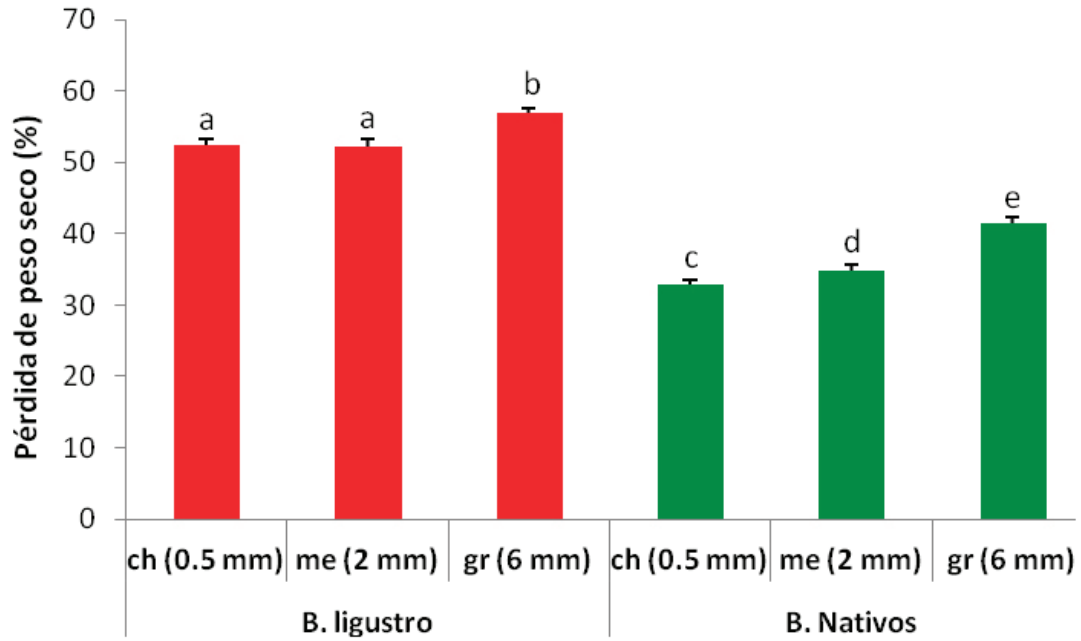
**Figura 1.** Pérdida de peso (%) de las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro (rojo) y nativos (verde) en el período de un año de incubación. Las barras representan las medias con su error estándar (n=5). El asterisco indica diferencia significativa entre bosques. Modelos lineales generales y mixtos ( $F= 170,46$ ;  $p < 0,0001$ ).



**Figura 2.** Dinámica de descomposición de las mezclas de hojarasca en bolsas de 0,5 mm de malla (microfauna), de 2 mm de malla (micro + mesofauna) y de 6 mm de malla (micro + meso + macrofauna) en el período de un año de incubación. A) Bosques de ligustro, B) Bosques nativos. Media con su error estándar (n=5). Si bien los análisis se hicieron con pérdida de peso seco, se utiliza el remanente de peso para ilustrar la dinámica de descomposición a lo largo del tiempo.



**Figura 3.** Pérdida de peso de las mezclas de hojarasca de bosques de ligustro (rojo) y nativos (verde) en el período de un año de incubación, en bolsas de malla chica (ch;0,5 mm) mediana (me; 2 mm) y grande (gr; 6 mm). Las barras representan las medias con su error estándar (n=5). Letras distintas indican diferencias significativas para la interacción tipo de bosque\*tipo de bolsa. Modelos lineales generales y mixtos; Tukey como test a posteriori (F= 3,16; p= 0,06).



## **ESTRUCTURA Y FUNCIONALIDAD DE LAS COSTRAS BIOLÓGICAS DEL SUELO EN LA REGIÓN DEL MONTE CENTRAL, ARGENTINA**

*Irene Garibotti y Marina Gonzalez Polo  
INIBIOMA, CONICET Universidad Nacional del Comahue  
marina.gonzalezpolo@conicet-comahue.gob.ar*

En ambientes áridos y semiáridos las costras biológicas del suelo (CBS) constituyen un componente estructural y funcional preponderante. Numerosos estudios han considerado a estas comunidades como una única unidad, lo que supone una pérdida importante de información dada la relación entre biodiversidad y funcionamiento. Por otro lado, la mayoría de los estudios examinan las CBS en el interespacio entre plantas vasculares, y se sabe poco sobre las CBS que crecen debajo de las plantas. El objetivo del trabajo es determinar el rol de la CBS en tres funciones del ecosistema de relevancia para los ecosistemas áridos (estabilidad del suelo, dinámica del agua y disponibilidad de nutrientes). Evaluamos la relación entre la función y la estructura florística y funcional de la CBS. En un área en el Monte Central de Argentina estimamos la cobertura de la vegetación y la proporción de suelo cubierto por CBS. En testigos de suelo colectados en microsítios vegetados e interespacios se estimó la composición florística, cobertura y concentración de clorofila *a* de la CBS. Se recopiló información disponible en la literatura acerca de los atributos funcionales de las especies. Se estimó la mineralización potencial de N y la concentración de C y N total, P-Olsen, amonio y nitrato del suelo como indicadores de funciones relacionadas con el ciclo de nutrientes, conductividad hidráulica y humedad del suelo relacionadas con la dinámica hídrica, y la desagregación del suelo como una medida de la estabilidad del suelo. Encontramos que CBS bien desarrolladas afectan de igual manera la humedad y el N total del suelo de microsítios vegetados e interespacios. Las CBS también mejoran la estabilidad del suelo y la infiltración en los interespacios. La cobertura total y la riqueza de especies fueron los atributos de la CBS más relacionados con el aumento de la humedad del suelo, pero la estructura de la comunidad (proporción de cianobacterias, líquenes y musgos) y algunos caracteres morfológicos de los líquenes también tuvieron efectos significativos. Los indicadores del ciclo de los nutrientes se relacionaron en gran medida con la cobertura de los diferentes constituyentes de la CBS. Los líquenes contribuyeron al N total y P del suelo, pero redujeron la disponibilidad de amonio, y las cianobacterias redujeron la disponibilidad de nitrato en el suelo. En conclusión, las CBS contribuyen a la heterogeneidad en pequeña escala en el funcionamiento de los ecosistemas áridos, pero su efecto en distintos procesos ecológicos depende fuertemente de su estructura florística y funcional.

**Palabras claves:** nutrientes, infiltración, estabilidad del suelo

## INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas áridos y semiáridos presentan una estructura en mosaico, con parches vegetados dentro de una matriz de interespacios con escasa cobertura de plantas vasculares. En estos ambientes, comunidades formadas principalmente por cianobacterias, líquenes, musgos y plantas hepáticas, conocidas como costra biológica del suelo (CBS), cubren hasta el 70 % de la superficie del suelo (Belnap 2003). Estas comunidades cumplen múltiples funciones en procesos de los ecosistemas, como por ejemplo estabilizando el suelo, regulando la dinámica hídrica y contribuyendo a los ciclos biogeoquímicos. Además, las CBS afectan directamente la dinámica de las comunidades de plantas vasculares (Belnap 2003). Las CBS son consideradas indicadores sensibles de la integridad funcional de los ecosistemas, ya que disturbios de origen antrópico o natural tienen un alto impacto en su composición, cobertura y por lo tanto en la funcionalidad del ecosistema (Bowker *et al.* 2008).

Aunque durante las últimas décadas ha habido un creciente interés en evaluar la contribución de la comunidad CBS al funcionamiento del ecosistema, se han obtenido resultados contradictorios o ambiguos probablemente debido a las diferencias en las aproximaciones espaciales y taxonómicas de los estudios. Las primeras investigaciones consideraron a las CBS como entidades únicas y usualmente no tomaron en cuenta las características de las comunidades estudiadas. Trabajos recientes han demostrado diferencias en el rol ecológico de CBS que difieren en sus atributos comunitarios (ej. diversidad, cobertura, equitatividad, riqueza de especies) o en atributos de las especies que la conforman (ej. morfología, composición química, continuidad) (Bowker *et al.* 2011; Castillo-Monroy *et al.* 2015). Por otro lado, existe un sesgo de los estudios hacia el análisis del rol funcional de la CBS en los interespacios entre parches de vegetación, posiblemente debido a que históricamente se ha adjudicado a las plantas vasculares un rol preponderante en la dinámica ambientes áridos y semiáridos. Sin embargo, los CBS tienen funciones complementarias a la de las plantas, y pueden contribuir en gran medida a modular los diferentes procesos de los ecosistemas. Usando datos correspondientes a un área en la región fitogeográfica del Monte en Argentina, el presente estudio tiene como objetivo determinar el rol de la CBS en tres funciones del ecosistema (la estabilidad del suelo, la dinámica del agua y la disponibilidad de nutrientes) de relevancia para los ecosistemas áridos. Evaluamos en qué medida la funcionalidad de la CBS está relacionada a su estructura florística y funcional, y su importancia relativa en micrositios vegetados e interespacios.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El sitio de estudio es el Parque Nacional Sierra de las Quijadas (32° 40' S, 67° 7' O), correspondiente a la Provincia fitogeográfica del Monte. Se cuantificó la proporción de micrositios vegetados e interespacios ocupados por CBS utilizando el método del cuadrado de puntos a lo largo de cuatro transectas de 10 m de longitud. Para estimar los atributos y la funcionalidad de las CBS se colectaron testigos de suelo al azar en micrositios vegetados e interespacios (n = 40). La mitad de los testigos de suelo tenía una comunidad de CBS bien desarrollada y los otros parecían desnudos a simple vista (de aquí en adelante se mencionan como suelos con y sin CBS, respectivamente). Además, se tomaron muestras de suelo de 0-0,5 cm de profundidad para estimar la concentración de clorofila  $a$ , y de 0,5-5 cm de profundidad para el análisis de propiedades químicas del suelo y mineralización potencial neta de N. En el laboratorio se determinó la composición florística y se estimó la cobertura de la CBS en los testigos de suelo. Las especies fueron agrupadas en distintos grupos funcionales según sus atributos morfológicos, fisiológicos y anatómicos. La CBS también fue caracterizada según su continuidad espacial (frecuencia de discontinuidades de diferentes tamaños en superficie). La concentración de clorofila  $a$  se determinó usando un método de extracción con etanol. Se midió el N y C total del suelo (combustión seca), el P extractable (método del ácido ascórbico en molibdato), amonio (reacción de fenato o de Berthelot) y nitrato (método de reducción a nitritos en columna de cadmio cobreado y cuantificación de nitrito por reacción colorimétrica) y mineralización potencial neta de N (incubación aeróbica por 16 semanas). Como indicador de la estabilidad del suelo se midió la desagregación de un fragmento de suelo al sumergirse en agua destilada. Finalmente, se estimó la conductividad hidráulica (ecuación de Darcy's) de los testigos de suelo usando una columna de agua constante de 5 cm, y se cuantificó el contenido de humedad del suelo en las muestras del campo (determinación gravimétrica). Los datos fueron analizados usando métodos estadísticos de análisis de varianza, análisis multivariados y modelos lineales y aditivos generalizados.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El área de estudio presenta una vegetación típica del Monte, con parches de vegetación dominados por arbustos de *Larrea divaricata*, ocupando aproximadamente el 50 % de la superficie del terreno. Las comunidades de CBS bien desarrolladas cubren  $41,2 \pm 4,0$  y  $40,2 \pm 4,1\%$  del área bajo copas de arbustos y en interespacios, respectivamente. Suelos que parecen desnudos a simple vista tienen una cantidad medible de organismos fotoautotróficos, principalmente cianobacterias y líquenes de pequeño tamaño visibles bajo



microscopio estereoscópico (Fig. 1a,b). Estos resultados confirman que las CBS son componentes estructurales importantes en este ecosistema.

Un análisis de varianza multivariado con permutaciones (PERMANOVA) de los efectos del micrositio y de la CBS sobre las condiciones del suelo muestra que la presencia de CBS (suelos con vs sin CBS) tiene un efecto multivariado significativo sobre las condiciones generales del suelo ( $p < 0,01$ ), pero el efecto del micrositio (vegetado vs interespacio) no es significativo ( $p = 0,16$ ). La presencia de CBS aumenta significativamente la humedad del suelo y la concentración total de N en ambos micrositios (Fig. 2a,f). Las tasas de infiltración son similares en suelos con CBS en micrositios vegetados e interespacios, pero difirieron significativamente entre los micrositios en suelos sin CBS (Figura 2b). La estabilidad del suelo y las tasas de mineralización potencial de N son significativamente más altas en los micrositios vegetados y la CBS no modifica esta relación (Fig. 2c,i). En resumen, estos resultados indican que las comunidades CBS bien desarrolladas ejercen efectos positivos significativos modulando el agua del suelo y la disponibilidad de N tanto en micrositios vegetados como interespacios (Figura 2a,f), lo que indica que los CBS contribuyen activamente a generar heterogeneidad a pequeña escala en el funcionamiento del suelo. Las plantas vasculares tienen un rol preponderante regulando la estabilidad del suelo y los procesos de mineralización de N en el ambiente de estudio, coincidiendo con estudios en otros ecosistemas áridos del mundo (Eldridge *et al.* 2010; Bu *et al.* 2015).

Los modelos que evalúan los efectos de la comunidad y las características especie específicas en los indicadores de funcionalidad muestran un efecto positivo de la cobertura total del CBS sobre la humedad del suelo, siendo mayor la humedad en suelos cubiertos por CBS ricas en especies y dominadas por líquenes que tienen una superficie relativamente discontinua (Tabla 1). En particular, la humedad del suelo aumenta en función del aumento de la cobertura de líquenes con morfología escamulosa o crustosa, que tienen un ombligo o rizohifas como estructuras de sujeción al sustrato (ej. *Endocarpon pusillum* y *Placynthiella ulginosa*). La tasa de infiltración también está positivamente relacionada con la cobertura de líquenes, particularmente con el aumento de líquenes cuya morfología es foliácea y se fijan al sustrato por medio de hapterios (ej. *Collema tenax* y *Enchylium coccophorum*). Nuestros resultados coinciden con estudios previos que muestran que los efectos de los CBS en el balance hídrico dependen en gran medida de su estado de desarrollo en términos de cobertura, posiblemente debido a la capacidad de algunos componentes de la CBS de absorber agua en sus tejidos y favorecer la infiltración (Chamizo *et al.* 2016). Además, la discontinuidad de la CBS parece tener un efecto en el contenido de humedad del suelo, lo que puede relacionarse con la generación de rugosidad superficial a pequeña escala aumentando la cantidad de agua que se infiltra en cada evento de lluvia (Souza-Egipsy, Ascaso & Sancho 2002; Rodríguez-

Caballero *et al.* 2012). El rol de los líquenes en la dinámica del agua del suelo merece especial atención ya que se han reportado efectos heterogéneos para las CBS dominadas por líquenes (Chamizo *et al.* 2016). Al igual que en estudios previos, nuestros resultados muestran que la presencia de líquenes foliosos en la CBS favorece la infiltración de agua (Kappen & Valladares 2007). En cambio, la relación positiva entre el contenido de humedad del suelo y la presencia de líquenes crustosos y escamulosos se contrapone con algunos estudios que sugieren que los líquenes con esa morfología sellan los poros, reduciendo la infiltración (Chamizo *et al.* 2016). Sin embargo, los líquenes con esta morfología aparentemente tienen estrategias efectivas para retener agua en la interfase liquen-suelo, reduciendo la pérdida por evaporación (Souza-Egipsy *et al.* 2002). En general, estos resultados sugieren especificidad en el efecto de diferentes grupos morfológicos de líquenes sobre el balance hídrico, lo que implica la necesidad de hacer estudios detallados de la composición de la CBS para evaluar su función en la dinámica hídrica.

En referencia a la funcionalidad de la CBS en los procesos biogeoquímicos del suelo, encontramos que el N total del suelo está positivamente asociado a la concentración de la clorofila *a* (Tabla 1). Las CBS contribuyen al N total del suelo con concentraciones comparables en los micrositios vegetados e interespacios (Fig. 2f). En particular, la cobertura de líquenes en la CBS tiene un efecto positivo en la concentración de N total y de P disponible, pero negativa en la concentración de amonio (Tabla 1). Es conocido que los líquenes que conforman la CBS juegan un papel clave en la fijación biológica de N<sub>2</sub> en suelos de desiertos, dado que tienen cianobacterias como fotobionte o como simbiosis externos (Sigurbjornsdottir, Andresson & Vilhelmsson 2016). La relación negativa que encontramos entre la concentración de amonio y la cubierta de líquenes puede explicarse por la captación preferente de amonio en relación con otras fuentes de N (Dahlman *et al.* 2004), o por la inhibición de los procesos de mineralización debido a la producción de materia orgánica altamente recalcitrante y sustancias alelopáticas que afectan los microorganismos del suelo (Miralles *et al.* 2013). Por otra parte, el P del suelo es predominantemente de origen mineral en zonas áridas, por lo que el rol de los líquenes en la disponibilidad de este nutriente puede ser explicado por la producción de metabolitos secundarios por parte de líquenes y bacterias asociadas al liquen que promueven la meteorización química (Cornelissen *et al.* 2007). Otro resultado interesante es el efecto negativo de la cobertura de cianobacterias en la concentración de nitrato (Tabla 1), en coincidencia con otros estudios que han encontrado que las CBS dominadas por cianobacterias lixivian menos nitrato que aquellas dominadas por musgos o líquenes (Castillo-Monroy *et al.* 2010; Hu *et al.* 2015). Este resultado parece contradictorio considerando que las cianobacterias son componentes fijadores de N en las CBS. Sin embargo, las cianobacterias podrían afectar a

las comunidades microbianas nitrificadoras del suelo e inhibir el proceso de nitrificación a través de la producción de exometabolitos, compitiendo por C y N o creando condiciones de anoxia (Baran *et al.* 2015; Delgado-Baquerizo *et al.* 2015).

## CONCLUSIONES

Nuestros resultados aportan nueva información al escaso conocimiento de las CBS en los ecosistemas semiáridos de América del Sur. Su presencia ubicua tanto en parches de vegetación como en los interespacios indica su relevancia como componentes estructurales. Además, la estrecha relación entre cambios en la cobertura y estructura de las CBS en relación a variables indicadoras de diversos procesos ecosistémicos sugieren su relevancia funcional en el ecosistema de estudio. Surge como relevante la necesidad de cuantificar la cobertura de los principales componentes de la CBS (cianobacterias, líquenes y musgos) y de las especies de líquenes según morfogrupos, lo que contribuye a explicar significativamente los cambios en el efecto de la CBS en procesos relacionados con la dinámica hídrica del sistema. Variaciones en la cobertura y estructura de la CBS, tanto florística como funcional, se asocian a cambios en la concentración de distintos nutrientes en el suelo, lo que refleja la complejidad de efectos que pueden tener las CBS en los ciclos biogeoquímicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Baran, R., Brodie, E.L., Mayberry-Lewis, J., Hummel, E., Nunes da Rocha, U., Chakraborty, R., Bowen, B.P., Karaoz, U., Cadillo-Quiroz, H., Garcia-Pichel, F. & Northen, T.R. (2015) Exometabolite niche partitioning among sympatric soil bacteria. *Nature Communications*, **6**, 8289.
- Belnap, J. (2003) The world at your feet: desert biological soil crusts. *Frontiers in Ecology and the Environment*, **1**, 181-189.
- Bowker, M.A., Mau, R.L., Maestre, F.T., Escolar, C. & Castillo-Monroy, A.P. (2011) Functional profiles reveal unique ecological roles of various biological soil crust organisms. *Functional Ecology*, **25**, 787-795.
- Bowker, M.A., Miller, M.E., Belnap, J., Sisk, T.D. & Johnson, N.C. (2008) Prioritizing conservation effort through the use of biological soil crusts as ecosystem function indicators in an arid region. *Conservation Biology*, **22**, 1533-1543.
- Bu, C., Wu, S., Han, F., Yang, Y. & Meng, J. (2015) The combined effects of moss-dominated biocrusts and vegetation on erosion and soil moisture

and implications for disturbance on the Loess Plateau, China. *PLoS ONE*, **10**, e0127394.

Castillo-Monroy, A.P., Bowker, M.A., García-Palacios, P. & Maestre, F.T. (2015) Aspects of soil lichen biodiversity and aggregation interact to influence subsurface microbial function. *Plant and Soil*, **386**, 303-316.

Castillo-Monroy, A.P., Maestre, F.T., Delgado-Baquerizo, M. & Gallardo, A. (2010) Biological soil crusts modulate nitrogen availability in semi-arid ecosystems: insights from a Mediterranean grassland. *Plant and Soil*, **333**, 21-34.

Chamizo, S., Canton, Y., Rodríguez-Caballero, E. & Domingo, F. (2016) Biocrusts positively affect the soil water balance in semiarid ecosystems. *Ecography*, **9**, 1208-1221.

Cornelissen, J.H.C., Lang, S.I., Soudzilovskaia, N.A. & During, H.J. (2007) Comparative cryptogam ecology: A review of bryophyte and lichen traits that drive biogeochemistry. *Annals of Botany*, **99**, 987-1001.

Dahlman, L., Persson, J., Palmqvist, K. & Nasholm, T. (2004) Organic and inorganic nitrogen uptake in lichens. *Planta*, **219**, 459-467.

Delgado-Baquerizo, M., Gallardo, A., Covelo, F., Prado-Comesaña, A., Ochoa, V. & Maestre, F.T. (2015) Differences in thallus chemistry are related to species-specific effects of biocrust-forming lichens on soil nutrients and microbial communities. *Functional Ecology*, **9**, 1208-1221.

Eldridge, D., Bowker, M.A., Maestre, F.T., Alonso, P., Mau, R.L., Papadopoulos, J. & Escudero Alcántara, A. (2010) Interactive effects of three ecosystem engineers on infiltration in a semi-arid mediterranean grassland. *Ecosystems*, **13**, 499-510.

Hu, R., Wang, X., Pan, Y., Zhang, Y., Zhang, H. & Chen, N. (2015) Seasonal variation of net N mineralization under different biological soil crusts in Tengger Desert, North China. *CATENA*, **127**, 9-16.

Kappen, L. & Valladares, F. (2007) Opportunistic growth and desiccation tolerance: The ecological success of poikilohydrous autotrophs. *Functional plant ecology* (eds F.I. Pugnaire & F. Valladares), pp. 7-65. Taylor and Francis, New York.

Miralles, I., Trasar-Cepeda, C., Leirós, M.C. & Gil-Sotres, F. (2013) Labile carbon in biological soil crusts in the Tabernas desert, SE Spain. *Soil Biology & Biochemistry*, **58**, 1-8.

Rodríguez-Caballero, E., Canton, Y., Chamizo, S., Afana, A. & Sole-Benet, A. (2012) Effects of biological soil crusts on surface roughness and implications for runoff and erosion. *Geomorphology*, **145-146**, 81-89.

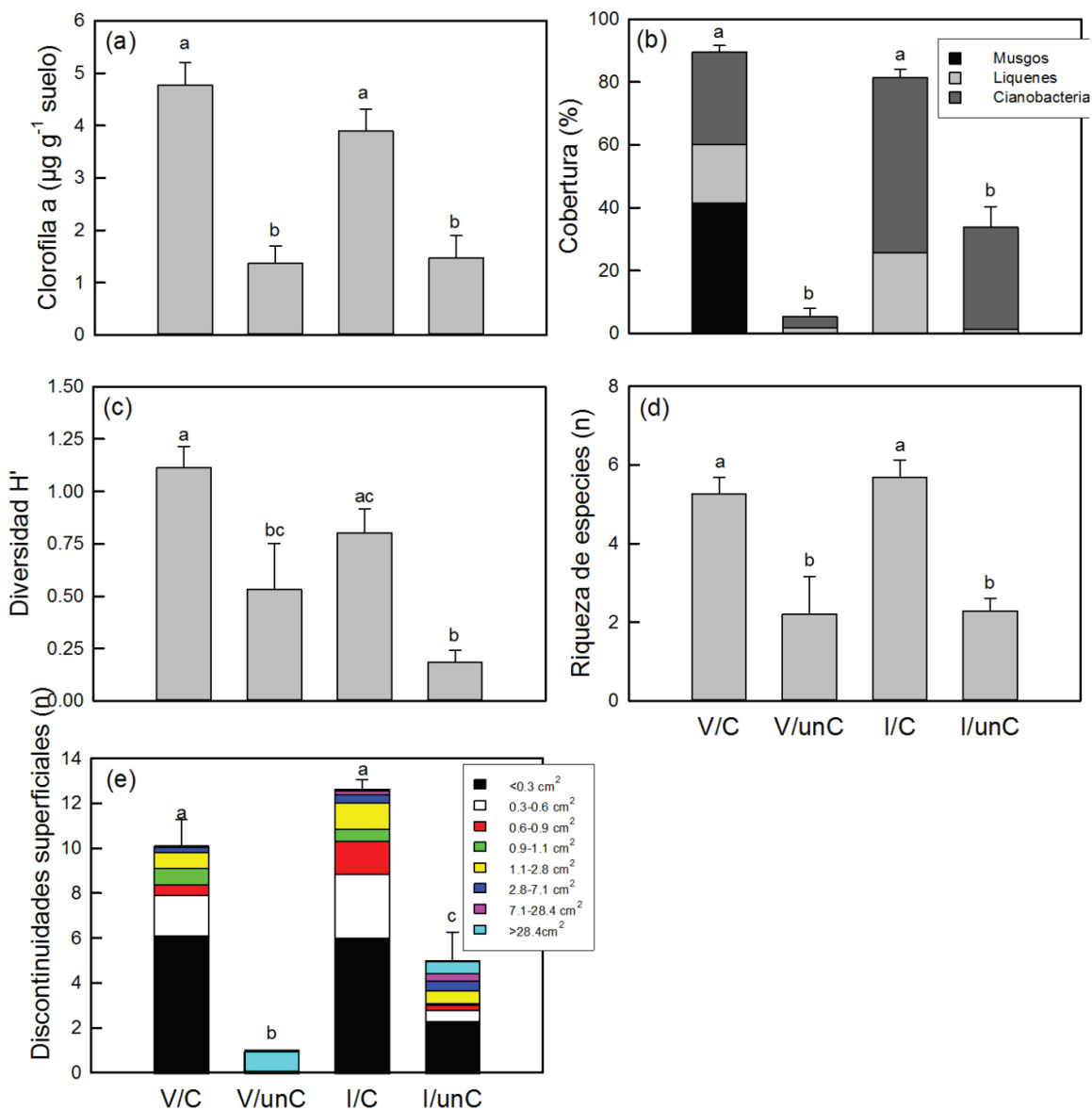
Sigurbjornsdottir, M.A., Andresson, O.S. & Vilhelmsson, O. (2016) Nutrient scavenging activity and antagonistic factors of non-photobiont lichen-associated bacteria: a review. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, **32**, 68.

Souza-Egipsy, V., Ascaso, C. & Sancho, L.G. (2002) Water distribution within terricolous lichens revealed by scanning electron microscopy and its relevance in soil crust ecology. *Mycological Research*, **106**, 1367-1374.

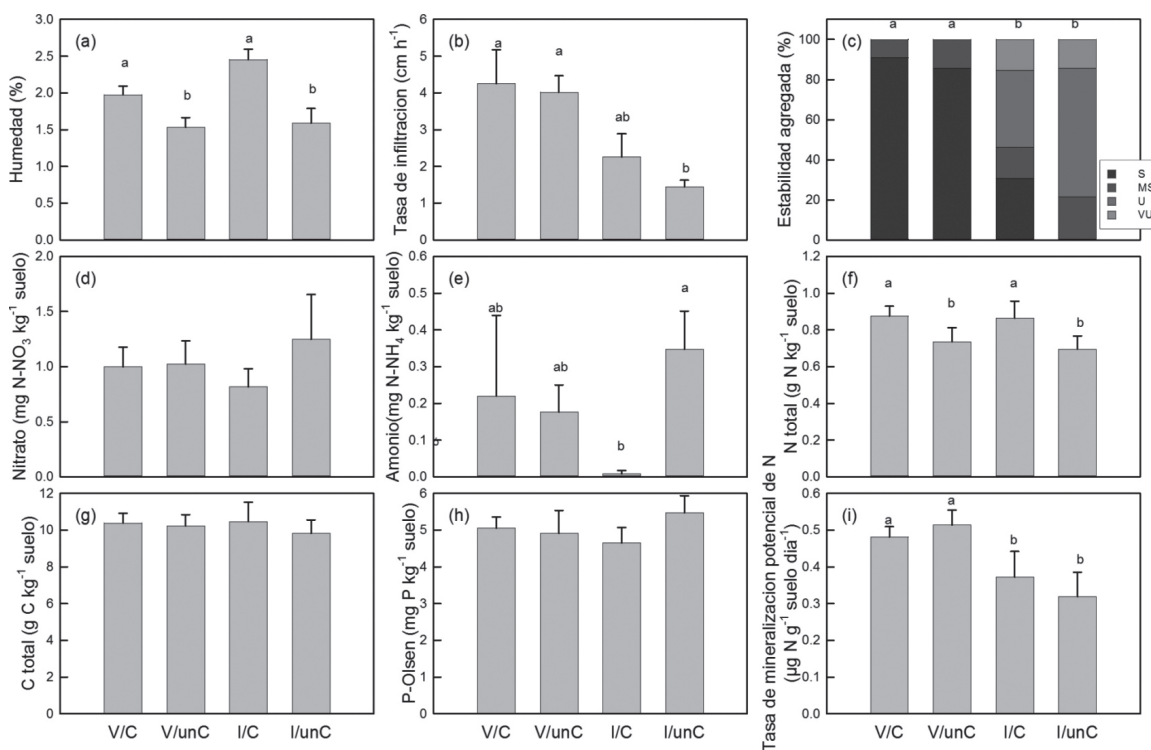
**Tabla 1.** Resultados de modelos de regresión que evalúan la dependencia de las funciones ecológicas en los atributos de la comunidad de las CBS. Los valores p en negrita indican significancia estadística en  $\alpha \leq 0,01$ , las celdas en blanco indican p-valores  $> 0,05$ . La dirección de la relación se indica como positiva ( $\uparrow$ ), negativa ( $\downarrow$ ), creciente ( $\cap$ ) o decreciente ( $\cup$ ) a valores intermedios de la variable predictora.

	Humedad (%)	Tasa de infiltración (cm h <sup>-1</sup> )	Estabilidad del agregado	Nitrato (mg N-NO <sub>3</sub> kg <sup>-1</sup> )	Amonio (mg N-NH <sub>4</sub> kg <sup>-1</sup> )	N Total (g kg <sup>-1</sup> )	C Total (g kg <sup>-1</sup> )	P-Olsen (mg kg <sup>-1</sup> )
Clorofila a	R= 0.37, p= 0.03, $\uparrow$		R <sub>MCF</sub> = 0.25, p= 0.03, $\uparrow$		R= 0.37, P= 0.03, $\downarrow$	R= 0.55, p= 0.04, $\uparrow$	R= 0.50, p= 0.05, $\uparrow$	
Cobertura total	<b>R= 0.49</b> , p< 0.01, $\uparrow$					R= 0.53, p= 0.03, $\cup$		
Cobertura de líquenes	<b>R= 0.46</b> , p< 0.01, $\uparrow$	R= 0.50, p= 0.05, $\cap$			R= 0.35, p= 0.04, $\downarrow$	R= 0.36, p= 0.03, $\uparrow$		<b>R= 0.57</b> , p< 0.01, $\uparrow$
Cobertura de musgos			R <sub>MCF</sub> = 0.38, p= 0.02, $\uparrow$					
Cobertura de cianobacterias	R= 0.39, p= 0.02, $\uparrow$			<b>R= 0.48</b> , p< 0.01, $\downarrow$				
Riqueza de especies	<b>R= 0.49</b> , p< 0.01, $\uparrow$	<b>R= 0.61</b> , p< 0.01, $\cap$			<b>R= 0.53</b> , p< 0.01, $\downarrow$			<b>R= 0.59</b> , p< 0.01, $\cup$
Diversidad (H')		R= 0.62, p= 0.02, $\cap$	R <sub>MCF</sub> = 0.22, p= 0.05, $\uparrow$		<b>R=0.55</b> , p< 0.01, $\downarrow$			<b>R= 0.59</b> , p< 0.01, $\cup$
Discontinuidad superficial de CBS	<b>R= 0.50</b> , p< 0.01, $\uparrow$							

**Figura 1.** Características biológicas del suelo sin CBS (unC) y con CBS (C) en micrositos vegetados (V) e interespacio (I). Los suelos sin CBS parecen desnudos a simple vista, mientras que los suelos con CBS tienen una comunidad microbiótica conspicua que crece en la superficie del suelo. Los datos son medias (SE), n = 10. Diferentes letras indican efectos principales significativos ( $\alpha \leq 0,05$ ) ANOVA de dos factores para clorofila a, riqueza de especies y diversidad de especies, ANOVA no paramétrico Kruskal-Wallis para cobertura total (Chi-cuadrado = 32,96, df = 3,  $p < 0,01$ ) y PERMANOVA no paramétrico para la frecuencia y el tamaño de las discontinuidades en la superficie de la CBS.



**Figura 2.** Propiedades del suelo sin CBS (unC) y con CBS (C) en micrositos vegetados (V) e interespacio (I). Los suelos sin CBS parecen desnudos a simple vista, mientras que los suelos con CBS tienen una comunidad microbiana conspicua que crece en la superficie del suelo. Los datos son medias (SE) pero los datos de estabilidad de agregados corresponden al porcentaje de muestras clasificadas como estables (S), moderadamente estables (MS), inestables (U) y muy inestables (VU), n = 10. Diferentes letras indican efectos significativos ( $\alpha \leq 0,05$ ) PERMANOVA de dos vías para las propiedades químicas del suelo, ANOVA de dos factores para la tasa de infiltración y la tasa potencial de mineralización neta de N y regresión logística multinomial para estabilidad del agregado del suelo.



## ¿LA FRAGMENTACIÓN DEL HÁBITAT AFECTA LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA A TRAVÉS DE CAMBIOS EN LA FAUNA ASOCIADA?

Moreno M. L. (1); Bernaschini M.L. (1,2); Pérez-Harguindeguy N. (1), & Valladares G. (1,2)  
1 Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (CONICET-Universidad Nacional de Córdoba),  
Av. Vélez Sarsfield 1611-(X5016GCA), Córdoba, Argentina  
2 Centro de Investigaciones Entomológicas de Córdoba, FCFN, Universidad Nacional de  
Córdoba, Av. Vélez Sarsfield 1611 (X5016GCA), Córdoba, Argentina  
mlmoreno@imbiv.unc.edu.ar

### RESUMEN

La pérdida y fragmentación de los bosques está desencadenando cambios sin precedentes en la mayoría de los ecosistemas terrestres, modificando su biodiversidad y funcionamiento. La descomposición de la hojarasca es un proceso ecosistémico fundamental, cuyos controles (calidad de hojarasca, microambiente y biota del suelo) pueden ser afectados por la fragmentación. En este trabajo, analizamos cambios en el proceso de descomposición de la hojarasca en el Chaco Serrano fragmentado, en función del tamaño de los fragmentos y de la comunidad de fauna asociada a la hojarasca. Empleando un sustrato común (hojarasca mixta de dos especies de plantas nativas), confeccionamos 432 bolsas de descomposición. En la mitad de las bolsas realizamos cinco perforaciones de 1 cm<sup>2</sup> para permitir el ingreso de la fauna. Las bolsas se incubaron durante 60, 120 y 180 días, en borde e interior de 12 remanentes de bosque (0,43 - 1000 ha). Mediante modelos lineales mixtos analizamos la abundancia y riqueza faunística y la descomposición (% de pérdida de peso seco) en función del área y posición de incubación (borde/interior) para los dos tratamientos (con / sin exclusión de fauna). Mediante modelos de ecuaciones estructurales evaluamos si los efectos de la fragmentación sobre la descomposición estaban mediados por cambios en abundancia o en la riqueza de la fauna. La abundancia y riqueza de la fauna encontrada en las bolsitas de descomposición fueron independientes del área del fragmento. Por su parte, mientras que la abundancia fue mayor en el borde en comparación con el interior, no se observaron diferencias para la riqueza. La descomposición de la hojarasca disminuyó con el área del fragmento, no observándose efectos de la ubicación (borde/interior). Tampoco se observaron efectos del tratamiento exclusión sobre la abundancia, la riqueza o la descomposición de la hojarasca. Por último, el efecto del área del fragmento sobre la descomposición no estuvo mediado por cambios en la abundancia o riqueza de invertebrados. De acuerdo a estos resultados, y más allá de las limitaciones metodológicas impuestas por la falta de efectividad del tratamiento de exclusión de la fauna, este trabajo evidenció



que la fragmentación del bosque chaqueño serrano, tendría consecuencias en la abundancia de fauna descomponedora (a través del efecto borde) y en la descomposición (a través del área), pero que los cambios en la descomposición no estuvieron mediados por los cambios en la fauna asociada a las bolsitas. Cambios en el microambiente del suelo podrían estar mediando el efecto del área sobre la descomposición.

**Palabras claves:** Invertebrados del suelo. Efecto borde. Pérdida de hábitat

## INTRODUCCIÓN

En América Latina, como consecuencia del avance de la frontera agrícola, los bosques subtropicales secos se están deteriorando a una tasa sin precedente, resultando en pérdida y fragmentación de los mismos (Zak et al 2008; Aide, 2013). A pesar de la amplia evidencia que existe sobre los efectos de la fragmentación en varios procesos ecológicos (p.ej. herbivoría: Rossetti et al 2017; polinización: Aguilar et al 2006), son escasos los estudios sobre procesos que ocurren en el suelo, como la descomposición de la hojarasca (Cuke & Srivastava 2015).

La fauna asociada a la hojarasca tiene un papel clave en la descomposición, ya que la fragmentación e ingestión de la misma (Barrios 2007) puede estimular la actividad microbiana al aumentar la accesibilidad o la calidad de la hojarasca (Petersen & Luxton, 1982; Lavelle & Spain 2001). Existe evidencia de que una reducción en el área de los bosques fragmentados desencadena una disminución en la abundancia y riqueza de la fauna asociada a la hojarasca, posiblemente por mayor incidencia de eventos estocásticos en hábitats pequeños (Carvalho & Vasconcelos 1999; Didham et al., 1998). Por otra parte, en el borde de los fragmentos pueden generarse cambios en la composición de especies, como consecuencia de cambios microclimáticos (Murcia, 1995; Grimbacher et al., 2006) y por el intercambio de organismos entre el bosque y la matriz circundante (Ewers & Didham, 2006). Por ejemplo, la temperatura más elevada, asociada a mayor radiación solar, así como la menor humedad que suelen caracterizar a los bordes en comparación con el interior de los fragmentos, podrían afectar a animales ectotérmicos y de pequeño tamaño como los que predominan en la fauna del suelo (Grimbacher et al., 2006; Bieringer et al., 2013), disminuyendo (Didham et al., 1998; Sobrinho & Schoereder, 2006) o incrementado (Didham et al., 1998) la supervivencia de especies o grupos particulares.

Estos cambios en la fauna asociada a la hojarasca, pueden, a su vez, afectar la descomposición. Por ejemplo existe evidencia que fragmentos pequeños de bosque poseen menor riqueza de especies y poblaciones más reducidas de escarabajos coprófagos, y esto explica la disminución en la descomposición

del estiércol, en comparación con bosques intactos (Klein, 1989). Pese a la importancia que pueden tener los invertebrados en procesos ecosistémicos como la descomposición, y las evidencias que existen de que estos organismos pueden ser afectados por la fragmentación, el vínculo entre fragmentación del bosque, descomposición de la hojarasca y fauna asociada ha sido escasamente abordado.

En este trabajo, evaluamos como la fragmentación de un bosque subtropical seco, a través del tamaño del área y del efecto borde, afecta a la fauna asociada a la hojarasca y a la descomposición. En el Chaco Serrano (Argentina), en estudios previos encontramos que la descomposición disminuyó con el área del fragmento (Moreno et al 2014). En este trabajo, nos propusimos explorar si este patrón estaba mediado por cambios en la fauna asociada a la hojarasca. En particular, esperamos que: i) fragmentos pequeños y bordes presenten menor abundancia y riqueza y ii) cambios en la descomposición siguiendo los mismos cambios en fauna asociada a la hojarasca.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **ÁREA DE ESTUDIO**

Este trabajo se llevó a cabo en la provincia de Córdoba, Departamento de Punilla, sobre el faldeo oriental de las Sierras Chicas, entre los 500 y 600 msnm, en un área correspondiente al distrito serrano de la provincia fitogeográfica chaqueña. La vegetación característica del área es un bosque bajo y abierto, y actualmente se halla restringida a fragmentos de bosque de distinta área inmersos en una matriz de cultivo. Se seleccionaron 12 fragmentos a lo largo de un gradiente de tamaño de 0,43 ha a más de 1000 ha, en los cuales el resto de los componentes de la fragmentación se mantuvo tan homogéneo como fue posible.

### **DESCOMPOSICIÓN DEL SUSTRATO COMÚN**

Para analizar los efectos del área y del borde sobre la descomposición y la fauna asociada, se empleó un sustrato común, controlando así posibles efectos de la calidad química. Se confeccionaron 432 bolsitas de 24 x 20 cm, con 1 mm de malla en la parte superior (para prevenir la colonización de macrofauna) y 0,3 mm (para prevenir pérdida de hojarasca). Las bolsitas se llenaron con una mezcla de dos especies *Celtis ehrenbergiana* (Klotzsch) Liebm. y *Croton lachnostachyus* Baill (para detalles de la recolección de la hojarasca y calidad química inicial consultar Moreno et al 2014). En la mitad de las bolsas de descomposición se realizaron cinco perforaciones de 1 cm<sup>2</sup> para permitir

el ingreso de fauna del suelo (sin exclusión de fauna), mientras que el resto de las bolsas representaron el control (con exclusión de fauna) (Vasconcelos & Laurance 2005). En diciembre 2009, se colocaron 9 bolsitas de descomposición de cada tratamiento de fauna del suelo (con y sin perforaciones) en la superficie del suelo de los 12 fragmentos, en el borde y en el interior (0 m y 25 m del borde, respectivamente) de los mismos. Todas las bolsas se incubaron sobre la superficie del suelo, cubiertas con una fina capa de hojarasca del sitio, en cada uno de los 12 fragmentos y en cada posición (borde/interior). Luego de 60, 120 o 180 días, según el período de incubación correspondiente, se recolectaron 3 bolsas por fragmento x posición x tratamiento. Luego de la extracción de la fauna del suelo (ver apartado siguiente), la hojarasca se acondicionó según lo detallado en Moreno et al (2014).

### **INVERTEBRADOS DE LA HOJARASCA**

Para evaluar la contribución de la fauna en la descomposición del sustrato común, se determinó la abundancia y riqueza taxonómica de la fauna del suelo en las bolsas de descomposición. Después de cada periodo de incubación, y previo al almacenamiento en frío o procesamiento de la hojarasca, se extrajo la fauna de todas las bolsas utilizando el método de Berlese durante 7 días. Luego de la extracción, los invertebrados de suelo fueron acondicionados para su posterior clasificación taxonómica mediante claves dicotómicas (Borrór et al., 1997; Momo & Falco 2009). Insecta y Collembola a fueron identificados a Familia, Mollusca a Subclase, Anellidae, Aranae y Pseudoescorpionidae a Orden, Isopoda y Acari a Suborden.

### **ANÁLISIS DE DATOS**

Para evaluar los efectos de la fragmentación del hábitat sobre 1) la abundancia y riqueza de fauna asociada a la hojarasca y 2) la descomposición (% pérdida de peso seco) mediado por el acceso de fauna se realizaron modelos lineales mixtos (Pinheiro & Bates, 2000). En cada modelo, se consideró el área del fragmento (ha), ubicación (borde/interior), tratamiento (bolsitas con y sin ingreso de fauna) y tiempo de incubación (60,120 and 180 días) como efectos fijos. El sitio (identidad del fragmento) fue incluido como efecto aleatorio para contemplar la falta de independencia entre las muestras del mismo fragmento. Se evaluaron las interacciones entre los efectos fijos. Las interacciones no significativas fueron removidas a fin de obtener el modelo más parsimonioso. Todos los análisis se realizaron con el paquete estadístico R versión 3.0.1 2 (R Development Core Team 2013). Luego de chequear la distribución de los datos, los valores fueron transformados a  $\log$  (área del fragmento, abundancia y

riqueza de invertebrados) y arcoseno de raíz cuadrada (porcentaje de pérdida de peso seco) con el objetivo de cumplir los supuestos de distribución normal. Además se emplearon modelos de ecuaciones estructurales para evaluar la influencia del área del fragmento y del efecto borde sobre la descomposición, mediada por cambios en la abundancia o riqueza de la fauna.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### EFFECTOS DEL ÁREA DEL FRAGMENTO Y LA POSICIÓN BORDE/INTERIOR SOBRE LA FAUNA DE LA HOJARASCA

Se capturaron 25.221 individuos dentro de 52 grupos taxonómicos. La abundancia y riqueza de la fauna encontrada no difirió entre las bolsitas con o sin perforaciones ( $p=0,47$ ). Tanto la abundancia ( $p=0,51$ ) como la riqueza ( $p=0,3$ ) fueron independientes del área del fragmento. Por otra parte, la abundancia fue mayor en el borde ( $73\pm 6,49$ ; Media $\pm$ ES) en comparación con el interior ( $52\pm 4,40$ ; Media $\pm$ ES) ( $p=0,0001$ ; Fig. 1a), no observándose diferencias para la riqueza ( $p > 0,05$ ). La abundancia se incrementó con el tiempo de incubación ( $p < 0,0001$  Fig. 1a), y el valor máximo de riqueza se observó a los 120 días de incubación ( $p=0,03$  Fig. 1b).

Contrariamente a lo que esperábamos, tanto la abundancia como la riqueza fueron independientes del área del fragmento de Chaco Serrano. Existe evidencias que en bosques tropicales (Didham et al., 1998) y subtropicales secos (Lozano-Zambrano et al., 2009) algunos grupos y especies de insectos del suelo relacionados con la descomposición de hojarasca, parecen no responder a la reducción del área del fragmento. A su vez, distintos estudios experimentales demostraron que la mesofauna del suelo, en particular ácaros y colémbolos, también serían insensibles a la reducción del hábitat (Rantalainen et al., 2006, 2008). Distintos factores pueden ocasionar que la fauna del suelo no responda a la reducción del tamaño del fragmento, por ejemplo, si se tiene en cuenta que el tamaño de la fauna del suelo oscila entre  $100\ \mu\text{m}$  y más de  $>2\text{mm}$ , el gradiente de tamaño de los fragmentos utilizados en este trabajo ( $0,43\text{-}1000\ \text{ha}$ ) podría no imponer limitaciones para los requerimientos de estos organismos a lo largo de su ciclo de vida (Heiniger et al., 2014). Algunos resultados experimentales apoyan esta idea, ya que la fragmentación del hábitat provocó una reducción en la abundancia y/o riqueza de ácaros sólo en remanentes de hábitat extremadamente pequeños ( $2\text{cm}^2\text{-}200\text{cm}^2$ , dependiendo del estudio; Rantalainen et al., 2006; Gonzalez & Chaneton, 2002). Para corroborar esto sería necesario realizar estudios experimentales y emplear una escala espacial reducida a  $\text{m}^2$  o  $\text{cm}^2$ . Por otra parte, es posible que la fauna de suelo se vea afectada por factores distintos de los de la fragmentación, por ejemplo por disturbios locales en el suelo, ya que estos organismos están adaptados a vivir

en parches de hábitat relativamente pequeños, en un ambiente (suelo) que posee típicamente una distribución heterogénea de recursos a escala espacial y temporal (Lavelle & Spain 2001).

El efecto borde fue importante para las comunidades asociadas a la hojarasca en Chaco Serrano, ya que estas fueron más abundantes en el borde de los fragmentos ( $p = 0,0001$ ). Este patrón se condice con los resultados encontrados por Molina y colaboradores (2006) en los mismos fragmentos, para especies de insectos de suelo. El patrón encontrado podría deberse, entre otras causas a que la fauna del suelo se vea afectada positivamente por las condiciones microclimáticas del borde, es decir por una mayor temperatura, asociada a mayor radiación solar, y una menor humedad en comparación con el interior del bosque (Grimbacher et al., 2006; Bieringer et al., 2013, Moreno et al. 2015, Bernaschini com. pers. para el área de estudio). En apoyo a esto, se considera que, en general, el microclima del suelo es considerado como uno de los factores más importantes en el funcionamiento de las comunidades de fauna de suelo (David & Handa, 2010; Collison et al., 2013). No se puede descartar, además que para los macroinvertebrados del suelo, el ambiente borde podría favorecer la llegada de especies generalistas y oportunistas desde la matriz (Laurance et al., 2002; Ewers & Didham, 2006).

#### **INVERTEBRADOS DE LA HOJARASCA Y SU EFECTO EN LA REGULACIÓN DE LA DESCOMPOSICIÓN DE LA HOJARASCA EN FRAGMENTOS DE BOSQUE**

Después de 180 días de incubación, la descomposición del sustrato común varió entre 60 y 80% ( $71 \pm 1,41\%$ , Media $\pm$ ES). La descomposición de la hojarasca disminuyó a medida que disminuyó el área del fragmento ( $p = 0,05$ , Fig. 2), no observándose efectos de la ubicación ni del tratamiento exclusión ( $p > 0,05$ ). Por otro lado, el modelo de ecuaciones estructurales para evaluar la influencia del área del fragmento y del efecto borde sobre la descomposición mediados por cambios en la abundancia y riqueza de fauna de la hojarasca ( $p = 0,58$ ) mostró que, contrariamente con nuestras predicciones, el área del fragmento sólo influyó la descomposición directamente ( $\beta = 0,28$ ,  $P = 0,04$ ). Por su parte, el efecto borde afectó positivamente la abundancia de invertebrados ( $\beta = 0,45$ ,  $P = <0,0001$ ), pero estos cambios no impactaron en la descomposición ( $\beta = 0,18$ ,  $P > 0,05$ ).

En este trabajo, el tratamiento de exclusión no afectó la abundancia y riqueza de fauna, como tampoco la descomposición del sustrato común. Sin embargo, la descomposición disminuyó al reducirse el área del fragmento, aunque este efecto no se explicó por cambios en abundancia o riqueza de la fauna asociada. Cambios en la humedad del suelo podrían estar explicando la mayor descomposición del sustrato común en fragmentos más grandes (Moreno, 2015).

## CONCLUSIONES

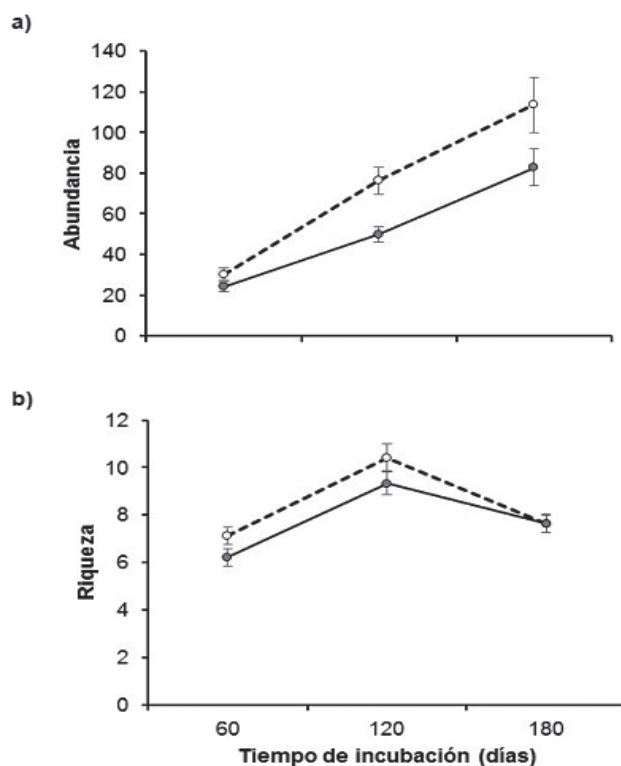
Este trabajo aporta el primer análisis de las relaciones entre la descomposición y los invertebrados asociados a la hojarasca, en el contexto de la fragmentación en bosques subtropicales secos. Más allá de las limitaciones metodológicas impuestas por la falta de efectividad del tratamiento de exclusión de macroinvertebrados, estos resultados evidencian efectos de la fragmentación del bosque sobre la descomposición y la comunidad de invertebrados asociados a la hojarasca, mostrando además la independencia de ambos efectos en Chaco Serrano fragmentado.

## BIBLIOGRAFÍA

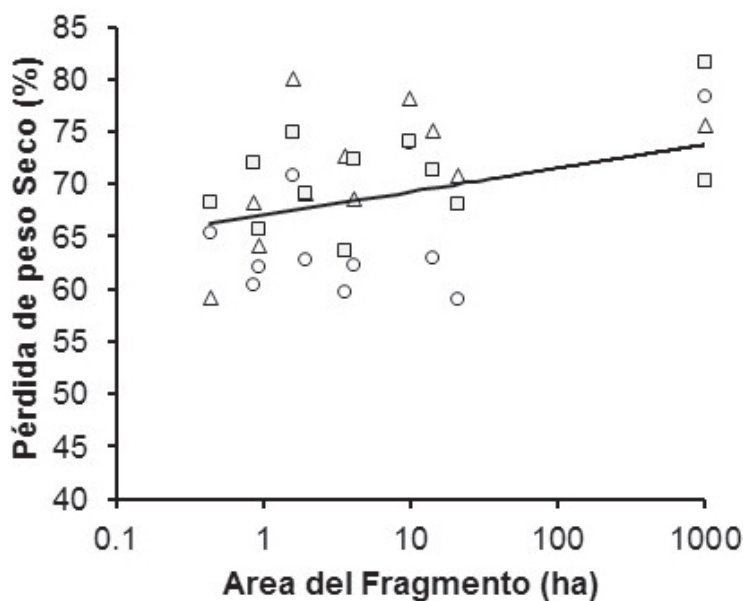
- Aguilar, R; Ashworth L.; Galetto, L; Aizen, M. A. 2006. *Ecol. Lett.* **9**, 968–980.
- Aide, T.M. *et al.* 2013. *Biotropica*. **45**, 262–271.
- Barrios, E. 2007. *Ecol. Econ.* **64**, 269–285.
- Bieringer, G.; Zulka, K.P.; Milasowszky, N; Sauberer, N. 2013. *Biodivers. Conserv.* **22**, 2269–2283.
- Borror, D.J.; Triplehorn, C.A.; Johnson, N.F. 1997. An introduction to the study of insects, 7th ed. Saunders College Publishing
- Carvalho, K.S.; Vasconcelos, H.L. 1999. *Biol. Conserv.* **91**, 151–157.
- Collison, E.J.; Riutta, T; Slade, E. M. 2013. *Acta Oecologica*. **47**, 30–36.
- Cuke, M; Srivastava, D. S. 2016. *Landsc. Ecol.* **31**, 1037–1050.
- David, J.F.; Handa; I. T. 2010. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* **85**, 881–89.
- Didham, R.K.; Hammond, P. M.; Lawton, J. H.; Eggleton, P; Stork, N. E. 1998. *Ecol. Monogr.* **68**, 295–323.
- Ewers, R. M.; Didham, R. K. 2006. *Biol. Rev. Camb. Philos. Soc.* **81**, 117–142.
- Gonzalez, A.; Chaneton, E. J. 2002. *J. Anim. Ecol.* **71**, 594–602.
- Grimbacher, P. S.; Catterall, C. P.; Kitching R. L. 2006. *Austral Ecol.* **31**, 458–470.
- C. Heiniger *et al.* 2014. *Pedobiologia*. **57**, 103–117.

- Klein, B.C. 1989. *Ecology*. **70**, 1715–1725.
- Laurance, W. F. *et al.* 2002. *Conserv. Biol.* **16**, 605–618.
- Lavelle, P.; Spain, A.V. 2001. *Soil Ecology*, 2001. Springer Netherlands, Dordrecht.
- Lozano-Zambrano, F. H.; Ulloa-Chacón, P.; Armebrecht, I. 2009. *Neotrop. Entomol.* **38**, 44–54.
- Molina, S.; Valladares, G.; Cagnolo, L; Salvo, A. 2006. Assessing Chaco Serrano woodland area effects on diversity of ground-dwelling insects at different taxonomic levels. En Workshop on Forest Fragmentation in South America.
- Momo, F.R.; Falco, B.2009. Biología y ecología de la fauna del suelo. Imago Mundi.
- Moreno, M. L.; Bernaschini, M. L.; Pérez-Harguindeguy, N; Valladares, G. 2015. *Acta Oecologica*. **60**, 26–29.
- Moreno, M.L. 2015. Descomposición de hojarasca en chaco serrano: efectos de la fragmentación y el rol de los insectos. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Córdoba.
- Murcia, C. 1995. *Trends Ecol. Evol.* **10**, 58–62.
- Petersen, H.; Luxton, M. 1982. *Oikos*, **39**, 287–376.
- Pinheiro, J.; Bates, D. 2000. Mixed effects models in S and S-Plus. Springer Verlag, New York.
- Rantalainen, M.L.; Haimi, J.; Fritze, H.; Pennanen, T.; Setälä, H. 2008. *Soil Biol. Biochem.* **40**, 853–863.
- Rantalainen, M.L.; Haimi, J.; Fritze, H.; Setälä, H 2006. *Appl. Soil Ecol.* **34**, 152–159.
- Rossetti, M. R.; Tschardtke, T.; Aguilar, R.; Batáry, P. 2017. *Ecol. Lett.* **20**, 264–272.
- Sobrinho, T. G.; Schoereder, J. H. 2006. *Biodivers. Conserv.* **16**, 1459–1470.
- Vasconcelos, H. L.; Laurance, W. F. 2005. *Oecologia*. **144**, 456–462.
- Zak, M. R.; Cabido, M.; Cáceres, D.; Díaz, S. 2008. *Environ. Manage.* **42**, 181–189.

**Figura 1.** Abundancia promedio fauna (a) y riqueza promedio de fauna (b) capturada en las bolsitas de descomposición en el borde e interior con relación a la fecha de recolección en los 12 fragmentos de bosque del Chaco Serrano. Barras indican  $\pm$ ES. Círculo vacío y línea punteada borde, círculo lleno y línea continua interior.



**Figura 2.** Descomposición del sustrato común incubado con relación al área de los 12 fragmentos del Chaco Serrano. Si bien se utilizó un modelo lineal mixto (Ver Resultados), en la figura se incluye una recta ajustada por mínimos cuadrados a fin de ilustrar el sentido de la relación. En círculo 60 días, triángulo 120 días y cuadrado 180 días de incubación.





## **ANÁLISIS DE LAS ESTRUCTURAS BIOGÉNICAS PRODUCIDAS POR LA MACROFAUNA EDÁFICA CON RELACIÓN AL USO DEL SUELO**

*Eduardo Barontini (1), Romina Iodice (2), Ayelén Nistal (1), Andrés Duhour (2)*

*1 Carrera de Ingeniería Agronómica, Universidad Nacional de Luján.*

*2 Departamento de Tecnología, Universidad Nacional de Luján*

*3 Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Nacional de Luján*

*Correo electrónico: aeduhour@yahoo.com.ar*

*Dirección postal: Av Constitución y Ruta 5 Luján, CP 6700 Provincia de Buenos Aires.*

### **RESUMEN**

Los invertebrados terrestres juegan un papel importante en la productividad de los sistemas agrícolas y ganaderos. La degradación física y química del suelo, probablemente, está íntimamente relacionada con la macrofauna edáfica y sus estructuras biogénicas. El objetivo del trabajo es estudiar la comunidad de lombrices y las estructuras biogénicas asociadas a su acción en sitios con distinto uso de la cuenca del río Luján. Se designa estructura biogénica a los poros y agregados producidos por acción de la fauna del suelo. Se estudiaron tres sitios por cada uno de los siguientes usos: AC: agrícola convencional (siembra directa + agroquímicos), AE: agroecológico (pastoreo de vacunos sin uso de agroquímicos) y SN: sitios naturales sin uso agropecuario. Para el estudio de estructuras biogénicas se tomaron 3 muestras por sitio de estudio con un cilindro de 7,5 cm de diámetro y 5 cm de altura. Se realizó una separación manual de las porciones de suelo con presencia de estructuras biogénicas de las que no las poseen, se llevaron a estufa a 105 °C durante 7 días y posteriormente se pesaron. Para el estudio de la macrofauna, se tomaron 3 muestras por sitio de estudio en las que se buscaron a simple vista las lombrices, que se contaron y se pesaron vivas. Los resultados muestran un promedio de agregados biogénicos por sitio de AE 19,9 g; AC 28,3 g y SN 71,8 g. Para el caso de las lombrices se encontró una biomasa y número por sitio de: AE 19,5 g/m<sup>2</sup> y 234,7 lombrices/m<sup>2</sup>; AC 47,5 g/m<sup>2</sup> y 330,7 lombrices/m<sup>2</sup>; SN 73,8 g/m<sup>2</sup> y 533,3 lombrices/m<sup>2</sup>. Estos resultados sugieren mayor presencia de fauna y estructuras biogénicas en sitios naturales, no registrándose diferencias significativas ( $p < 0,05$ , ANOVA y Test de Tukey). Se encontró una correlación positiva entre la biomasa de lombrices y el peso de estructuras biogénicas observadas.

**Palabras clave:** Estructuras biogénicas, macrofauna edáfica, lombrices.

## **INTRODUCCIÓN**

Los invertebrados terrestres juegan un papel muy importante en la productividad de los sistemas agrícolas y ganaderos, algunas especies toman el papel de plagas y reciben mucha atención para su control, otras especies son benefactoras ya que tienen la capacidad de controlar plagas y alterar el ambiente edáfico en la cual se desarrollan las plantas. Es probable que la degradación física y química del suelo, (perdida de estructura y fertilidad), este íntimamente relacionada con la macrofauna edáfica y sus estructuras biogénicas (Alzugaray et al., 2008). Uno de los grupos más abundantes, las lombrices de tierra, ingieren materia orgánica y suelo mineral, produciendo grumos y agregados biogénicos los cuales mantienen protegida la materia orgánica de su rápida degradación o de su pérdida por erosión, pudiendo convertirse luego en elementos estables del suelo. (Vaquero F. et al., 2013). En este contexto, los cambios observados en los sistemas de producción agropecuaria pueden afectar el desempeño de la macrofauna edáfica cambiando las funciones que ellas realizan perjudicando a la fertilidad y estructura del suelo. Este trabajo tiene como objetivo estudiar la comunidad de lombrices y las estructuras biogénicas asociadas a su acción en sitios con distinto uso de la cuenca del río Luján.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

La investigación se realizó en Luján, provincia de Buenos Aires. La zona corresponde a la región natural de la Pampa húmeda, particularmente a la cuenca media del río Luján y alrededores. Los suelos predominantes son Argiudoles típicos (Atlas de Suelos de la República Argentina, 1990). Se evaluaron predios agropecuarios según una escala de intensidad de uso en tres categorías: AC: agrícola convencional (siembra directa + agroquímicos), AE: agroecológico (pastoreo de vacunos sin uso de agroquímicos) y SN: sitios naturales sin uso agropecuario, evaluando tres lotes en cada tipo de uso. Se tomaron muestras para el estudio cuantitativo de los agregados producidos y modificados por la actividad de la macrofauna presente en esos suelos y para determinar cantidad de lombrices presentes.

Para el estudio de los agregados producidos por la actividad de la macrofauna se tomaron 3 muestras por sitio de estudio con un cilindro plástico con medidas de 7,5 cm de diámetro y 5 cm de altura, a las que se les realizó una separación manual de las porciones de suelo con presencia de estructuras biogénicas de las que no tenían estructuras biogénicas, se llevaron a estufa a 105 °C durante 7 días con el objetivo de secarlas y posteriormente se registró su peso (Velazquez et al., 2007).

La macrofauna fue determinada utilizando el método TSBF – Tropical Soil Biology and Fertility – (Lavelle, 1988; Anderson & Ingram, 1993). Se tomaron 3 muestras por sitio, tomando un bloque de suelo (monolito) de 25x25 cm y 30 cm de profundidad, el cual manualmente se disgregó y se recolectaron lombrices e insectos

Se realizó el análisis estadístico de los datos obtenidos por medio de análisis de varianza y comparación de medias por el test de Tukey. Se realizó el análisis de correlación entre el peso de estructuras biogénicas por cada punto de muestreo y la biomasa y abundancia de lombrices. Para los análisis se utilizó el programa R (R Core Team, 2016).

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

En el presente trabajo el peso de agregados biogénicos presentó mayores valores promedio en el sitio natural, presentando diferencias significativas entre sitios en el análisis de varianza y diferencias levemente significativas entre AE y SN ( $p=0,055$ ) (Tabla 1, Figura 1). Asimismo el número y biomasa de lombrices promedio fue mayor en el uso natural respecto de los usos agropecuarios, pero con una diferencia que no es significativa en el análisis de varianza (ANOVA biomasa:  $p=0,07$ ; ANOVA número:  $p=0,08$ ; ver Tabla 1 y Figuras 2 y 3). El análisis de correlación mostró una asociación significativa entre el peso de estructuras biogénicas y la biomasa de lombrines ( $r=0,65$ ,  $p<0,05$ ), mientras que no se observó correlación con el número de lombrices ( $r=0,31$ ,  $p>0,05$ ).

En un trabajo previo se encontró un mayor tamaño de organismos en sitios con menor impacto agropecuario (Duhour e Iodice, 2013). En función de ello se estima que existe una relación entre el número y la biomasa de lombrices y la generación de agregados y estructuras biogénicas en el suelo, resultados que son similares a los encontrados por otros autores (Vaquero et al., 2013; Lavelle et al. 1994). Efectivamente, la cantidad de estructuras biogénicas mostró en este trabajo una correlación positiva y significativa con la biomasa de lombrices encontrada en cada punto de muestreo.

## **CONCLUSIONES**

Las lombrices tienen una presencia importante en los suelos no alterados por sistemas de labranza y manejo de cultivos o animales teniendo un efecto importante sobre la cantidad de los estructuras biogénicas del suelo. Se observa una relación directa entre la biomasa de lombrices y agregados biogénicos, encontrando mayor presencia de estos en los sitios con más biomasa de lombrices. Con relación a ello, las prácticas de uso y manejo del suelo que promuevan las comunidades de lombrices tendrán un efecto positivo sobre la cantidad de estructuras biogénicas.

## BIBLIOGRAFÍA

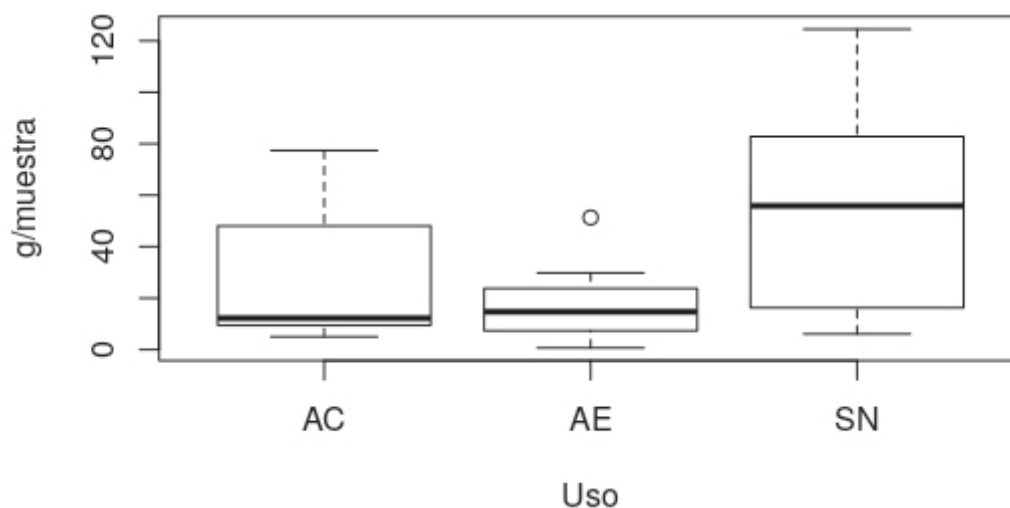
- Alzugaray, C.; Vilche, M. S.; Petenello, C. 2008. Labor profunda en siembra directa: Efecto sobre la condición biológica del suelo. *Cien. Inv. Agr.* 35(3): 265-276.
- Anderson, J.M.; Ingram J.S,I, 1993. Tropical Soil Biology and Fertility. A Handbook of Methods, second ed. CAB international.
- Duhour A.; Iodice R 2013. Fauna edáfica y tamaño de individuos en agroecosistemas de la pampa húmeda. III Congreso Nacional de Biología y Ecología del Suelo. Río Cuarto, Argentina
- Lavalle, P. 1988 Assessing the abundance and role of invertebrate communities in tropical soils: aims and methods. *J. Afr. Zool.* 102, 275-283
- Lavelle, P.; Fragoso, M. D.; Eschenbrenner, C.; Lopez-Hernandez, V.; Pashanasi, D.; Brussaard: L. 1994. Wooper, P. & Swift, M. (Eds.) The Biological Management of Tropical Soil Fertility. The relationship between soil macrofauna and tropical soil fertility *Wiley-Sayce.* 137-169.
- R Core Team (2016). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL: <https://www.R-project.org/>
- Vaquero, F.; Bedano, J. C.; Becker, A. 2013. Procesos ecosistémicos en suelos agrícolas de la Región Pampeana argentina: la contribución de las lombrices de tierra. III Congreso Nacional de Biología y Ecología del Suelo. Río Cuarto, Argentina.
- Velazquez, E., P. Lavelle, M. Grimaldi, M. Martins, D. Brunet, C. Pelosi, A.C. Rendeiro; E. Barrios. 2007. This ped is my ped: Visual separation and near infrared spectra allow determination of the origins of soil macroaggregates. *Pedobiologia* 51: 75-87.

**TABLAS Y FIGURAS**

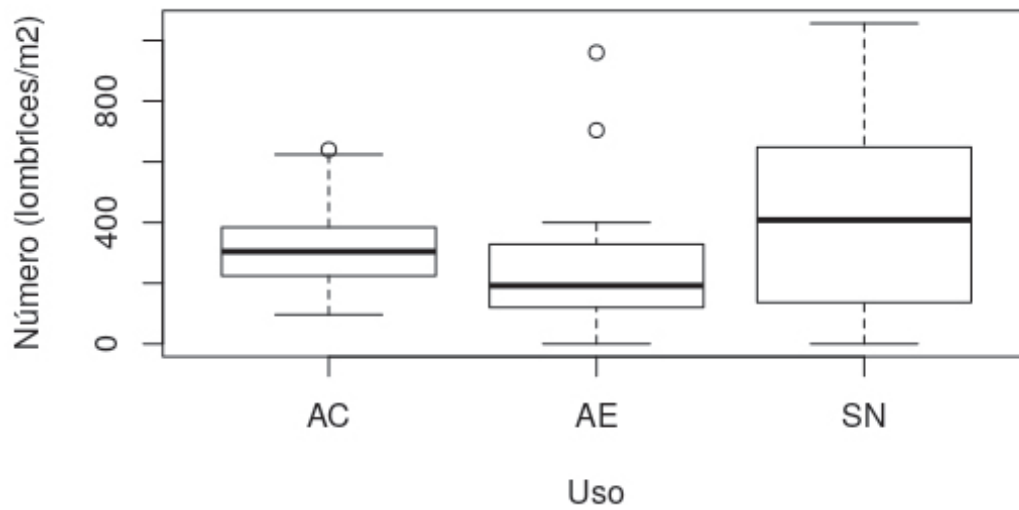
**Tabla 1.** Estructuras biogénicas en g/muestra y número y biomasa de lombrices por sitio de muestreo. Promedio de tres sitios por tipo de uso y promedio por tipo de uso más/menos error estándar. Letras distintas indican diferencias significativas entre tipos de uso ( $p < 0,05$ , ANOVA y test de Tukey).

Uso	Estructuras biogénicas	Número lombrices / m <sup>2</sup>	Biomasa (g/m <sup>2</sup> )
AE	24,1	421,3	36,6
AE	12,2	192,0	17,3
AE	23,5	90,7	4,7
AC	12,4	320,0	36,3
AC	23,2	256,0	23,8
AC	49,3	416,0	82,3
SN	106,7	544,0	91,6
SN	60,2	661,3	72,3
SN	48,4	394,7	57,2
AE	19,9±0,86a	14,7±4,34a	1,2±1,34a
AC	28,3±1,45a	20,7±2,99a	3,0±1,85a
SN	71,8±1,85a	33,3±3,85a	4,6±1,38a

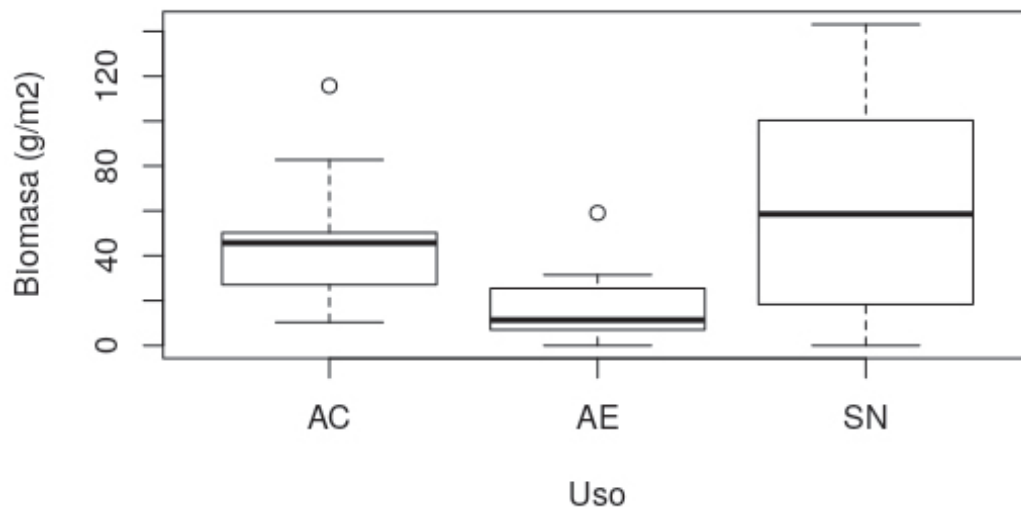
**Figura 1.** Peso de estructuras biogénicas encontradas en tres tipos de uso.



**Figura 2.** Número de lombrices por metro cuadrado para cada uso.



**Figura 3.** Biomasa de lombrices por metro cuadrado según tres tipos de uso.



## EVALUACIÓN DE LA MICROBIOTA GENERAL Y *ASPERGILLUS* SECCIÓN *FLAVI* EN SUELOS Y GRANOS DE MAÍZ EN TRES REGIONES MAICERAS DE ARGENTINA

*Benito Nicolás, Magnoli Karen, Aluffi Melisa, Regnicoli Juan P., Barberis Carla, Carranza Cecilia, Magnoli Carina.*  
Dpto. de Microbiología e Inmunología, Facultad de Ciencias Exactas, Fco.- Qcas. y Naturales,  
Universidad Nacional de Río cuarto.  
Ruta 36, Km 601, UNRC, Río Cuarto, Córdoba.

### RESUMEN

El suelo constituye la principal fuente de inóculo para especies del género *Aspergillus*, determinando la posterior colonización de los granos de maíz. La presencia de pesticidas podría incrementar la producción de micotoxinas por las cepas toxicogénicas presentes en los suelos. Los objetivos del trabajo son: Muestrear suelos y granos de maíz expuestos a plaguicidas; aislar, enumerar e identificar la microbiota presente; aislar, identificar y caracterizar cepas de *Aspergillus* sección *Flavi*. Se tomaron 26 muestras, 11 correspondieron a maíz y 15 a suelos. Se realizó el aislamiento de la microbiota de los suelos por diseminación en superficie en medio agar dichloran rosa de bengala cloranfenicol (DRBC) y se determinó el porcentaje de infección de los granos en medio agar dicloran glicerol al 18% (DG18). La identificación de especies del género *Aspergillus* se realizó en los medios agar extracto de malta (MEA), agar Czapek extracto de levadura (CYA) y agar Czapek extracto de levadura sacarosa (CY20S). La producción de esclerocios se observó en medio Czapek y la detección y cuantificación de la toxina se realizó por HPLC. En suelo, los recuentos variaron de 4.0 a 5.6 para la microbiota general y 2.0 a 4.8  $\log_{10}$  UFC  $g^{-1}$  para cepas de *Aspergillus* sección *Flavi*. En maíz, el porcentaje medio de granos infectados fue de 96,54%, la frecuencia de las muestras con *Aspergillus* sección *Flavi* fue del 72,7% y la severidad fue del 4,8%. Los géneros fúngicos prevalentes fueron *Aspergillus* spp., y *Trichoderma* spp en suelo; y *Fusarium* sp., *Penicillium* sp. y *Aspergillus* sp, en los granos. Con respecto a *Aspergillus* sección *Flavi*, más del 96% de las cepas pertenecieron a *A. flavus* y 4% a *A. parasiticus*. El 84% de las cepas produjo esclerocios L y solo el 16% produjo esclerocios S. La supervivencia en el suelo de estas cepas toxicogénicas representa un riesgo toxicológico para el agroecosistema suelo-maíz.

**Palabras clave:** *Aspergillus* sección *Flavi*, suelos, maíz, esclerocios.

## INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas, de uso extensivo en la agricultura, ocupan un lugar importante dentro de las sustancias a las que el hombre está expuesto. La economía argentina se basa tradicionalmente en la producción agrícola; esto trae aparejado la aplicación de significativas cantidades de plaguicidas que impactan sobre la salud y la calidad del ambiente (Villamil Lepori y col., 2013). La preservación de la integridad de la capacidad metabólica de la microbiota del suelo se considera un requerimiento fundamental para el mantenimiento de la calidad del suelo (Girvan y col., 2004). Las actividades humanas afectan tanto el tamaño como la estructura de la población microbiana del suelo, entre los que se encuentran los hongos. El uso de pesticidas es un factor importante en la agricultura actual, constituyendo una práctica esencial y generalizada. Por esta razón, el control de malezas constituye uno de los principales factores antropogénicos con potencialidad de alterar la microbiota de los suelos agrícolas (Sannino y Gianfreda, 2001).

En nuestro país, los sistemas de siembra más comúnmente utilizados en el área de producción de maíz y soja son labranza convencional, labranza reducida y labranza cero. Cada sistema produce diferentes efectos en el suelo (Scursoni y col., 2010). En estos sistemas agrícolas con intenso uso de pesticidas, la producción de micotoxinas es un tema de gran relevancia. La implementación de siembra directa, cultivos transgénicos y pesticidas para el control de plagas ha aumentado considerablemente durante los últimos años (argenbio, 2017).

En estudios previos se informó que el suelo constituye la principal fuente de inóculo para *Aspergillus* sección *Flavi* determinando la posterior colonización de los granos. Las cepas toxigénicas presentes en el suelo están expuestas a la contaminación con compuestos organofosforados, lo cual determina la posibilidad de producir incrementos en la capacidad de producir micotoxinas. Bajo el sistema productivo actual, la presencia de pesticidas en el suelo implica una selección de hongos presente en el mismo. Las especies de *Aspergillus* sección *Flavi* toxicogénicas son frecuentemente aisladas de suelos agrícolas (Barros y col., 2005; Carranza y col., 2014). En estudios *in vitro* se ha observado que la presencia de pesticidas tales como glifosato incrementan la producción de aflatoxinas (Barberis y col., 2013).

## OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Realizar un muestreo de suelos destinados al cultivo de maíz y granos del mismo en tres regiones maiceras de la Argentina.
- b) Aislar, enumerar e identificar la microbiota presente en las muestras.



c) Aislar, identificar y caracterizar cepas de *Aspergillus* sección *Flavi* presentes en las muestras.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Muestreo de suelo: Se tomaron 6 muestras de granos de maíz del Norte de Argentina y 10 de suelo maicero de la región Córdoba y 5 muestras de maíz y de suelo de la región Córdoba sur durante las cosechas 2014/2015 y 2015/2016.

Aislamiento, recuento e identificación de la microbiota de suelo: El análisis de los suelos para el estudio de la microbiota general, se realizó utilizando el método de diseminación en superficie (Pitt y Hocking, 2009). Se tomaron 10 g de cada muestra de suelo y se homogeneizaron en agitación con 90 mL de agua peptonada al 0,1% por 30 minutos. Luego, se realizaron diluciones decimales de  $10^{-1}$  a  $10^{-4}$  a partir de las cuales, alícuotas de 0,1 mL se sembraron sobre el medio agar diclorán rosa de bengala cloranfenicol (DRBC). Las placas se incubaron a 28°C durante 5 a 7 días. Al final del período de incubación, se seleccionaron las placas que contenían entre 10 y 100 colonias y se realizó el recuento de la microbiota general y de cada género fúngico. Los resultados se expresaron en unidades formadoras de colonias por gramo de suelo (UFC/g). Cada colonia fue subcultivada en Agar de Extracto de Malta (MEA) para su posterior identificación a nivel de género. Además, las cepas de *Aspergillus* sección *Flavi* se identificaron a nivel de especie. Se realizó una identificación morfológica (macroscópica y microscópica) siguiendo claves taxonómicas de Pitt y Hocking (2009), Samson (2010) y Varga y col., (2011).

Aislamiento e identificación de la microbiota en granos de maíz: El porcentaje de infecciones se determinó según Perrone y col. (2014) con algunas modificaciones. De cada muestra, se sumergieron 100 g de granos de maíz en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 3 minutos y luego, para eliminar el exceso de hipoclorito se realizaron tres lavados en agua destilada estéril. Se sembraron 100 granos de maíz para cada muestra en agar dicloran glicerol 18% (DG18). Las placas se incubaron a 28°C durante 7 días. Después de la incubación, se registró el número de granos con crecimiento fúngico visible y se determinó la incidencia de hongos para cada muestra. Los resultados se expresaron como severidad (porcentaje de granos infectados) y frecuencia (porcentaje de muestras infectadas) de la microbiota general y *Aspergillus* sección *Flavi*. La identificación se realizó como se explica anteriormente.

Identificación de las especies del género *Aspergillus*: se realizó en los medios agar extracto de malta (MEA), agar Czapek extracto de levadura (CYA) y agar Czapek extracto de levadura sacarosa (CY20S). A partir de cada cepa desarrollada en MEA se realizó una suspensión de conidios en agar semisólido y desde allí se inocularon los medios de cultivo en tres puntos equidistantes entre sí y entre

el borde y el centro de la placa. Finalmente, la identificación se realizó teniendo en cuenta las características macro y microscópicas de cada cepa, siguiendo las claves taxonómicas de Klich (2002) y Samson (2010).

Producción de esclerocios y aflatoxina B<sub>1</sub> (AFB<sub>1</sub>): Para el análisis de producción de esclerocios se inocularon placas que contenían agar Czapek-Dox con micelio y se incubaron en la oscuridad durante 14 días a 30°C. Los esclerocios se obtuvieron raspando la superficie de la placa y transfiriendo el contenido sobre un papel de filtro Whatman N° 2. Para evaluar los diámetros, los esclerocios se extendieron en línea en la placa y se registraron mediciones de 30 esclerocios por repetición. Las cepas se identificaron como "S" (esclerocios <400 µm de diámetro) o "L" (esclerocios > 400 µm de diámetro) (Novas y Cabral, 2002). La detección y cuantificación de la toxina se realizó por HPLC en fase reversa, siguiendo la metodología descrita por Trucksess y col., (1994).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Luego de realizada la siembra de las muestras en los medios de cultivos correspondientes, se observó que en su totalidad presentaron contaminación por diferentes géneros fúngico. En las muestras de suelo, cepas pertenecientes a *Aspergillus sp.* y *Trichoderma sp.* fueron las que se aislaron con mayor frecuencia. Los recuentos variaron de 4.0 a 5.6 y 2.0 a 4.8 log<sub>10</sub> UFC/g para la microbiota general y para cepas de *Aspergillus* sección *Flavi*, respectivamente. En los granos de maíz, los géneros más prevalentes fueron *Fusarium sp.* con una severidad del 73 %, *Penicillium sp.* con un 45% y *Aspergillus sp.* El porcentaje medio de infección de los granos dado por la microbiota total fue de 96,54%, al mismo tiempo la frecuencia de *Aspergillus* sección *Flavi* fue del 72,7% y la severidad fue del 4,8% (Tabla 1).

Los géneros fúngicos *Fusarium sp.*, *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.* y *Trichoderma sp.* aislados con alta frecuencia en este estudio son considerados los principales grupos fúngicos aislados de suelo y de granos producidos en nuestro país. Varios autores han informado sobre la prevalencia de estos hongos en suelos (Almeida y col. 2002, Pitt y Hocking 2009) y suelos de maíz cultivados bajo las condiciones de labranza convencional y labranza cero (Nesci y col. 2006, Carranza y col., 2014). Las especies de *Aspergillus* sección *Flavi* no se han aislado de suelos agrícolas sin labranza y sin exposición a pesticidas (Barberis y col., 2016).

De la misma manera, la abundancia relativa de estos hongos en sustratos agrícolas se ha atribuido a su composición orgánica y a las condiciones ambientales que se presenten durante el período en que se lleve a cabo la toma de muestra. (Nesci y col. 2006,)

Como se observa en la Figura 1, en el suelo, los recuentos fúngicos totales de la región Córdoba centro fueron de 5,11 log<sub>10</sub> UFC/g y los recuentos de

*Aspergillus* sección *Flavi* fueron de 3,03 log<sub>10</sub> UFC/g. Por otro lado, en la región Córdoba sur únicamente los recuentos de hongos totales fueron inferiores a los observados en la región central (media 4,59 log<sub>10</sub> UFC/g) (P <0.05), mientras que los recuentos de *Aspergillus* sección *Flavi* fueron similares (media 3,18 log<sub>10</sub> UFC/g). Al comparar las regiones, en Córdoba centro, se registraron los mayores recuentos y este hecho se puede atribuir a que durante los meses de cosecha se registraron las mayores precipitaciones y temperaturas; ya que en estas regiones se aplica el mismo sistema productivo. Nesci y col., (2006) informaron recuentos similares en suelos de maíz no rizósferos de la región Córdoba sur durante la cosecha 2000/2001 y 2001/2002.

Respecto al análisis de severidad en granos de maíz, en las dos regiones analizadas (norte de la Argentina y Córdoba sur) los valores tuvieron una tendencia similar. La severidad de la infección por hongos en ambas regiones fue de aproximadamente del 100% (100% en Córdoba sur y 94,6% para la región Norte). Mientras que la severidad de *Aspergillus* de la sección *Flavi* no superó los 9 y 2,5% en la región Norte y Córdoba sur, respectivamente; y sin observar diferencias significativas entre ambas regiones (P <0,05) (Figura 1).

En todas las muestras, del total de cepas pertenecientes a la sección *Flavi*, más del 96% se clasificaron dentro del grupo morfológico *A. flavus* y menos del 4% correspondieron al grupo morfológico *A. parasiticus*. Respecto de otras especies de *Aspergillus*, se encontró un 2% de severidad por cepas de *Aspergillus* sección *Nigri* en muestras de maíz del Norte de Argentina. *Aspergillus* sección *Fumigati* se encontró con una frecuencia de 75% y una severidad de 21,3% en granos de maíz en Córdoba sur. Además, en esta región se encontró una frecuencia de 17% de cepas de *Aspergillus* sección *Nigri* en muestras de suelo.

Los resultados sugieren que varias especies fúngicas de los suelos, bajo ciertas condiciones, pueden infectar los granos tanto durante su desarrollo como también al momento de la cosecha. La presencia de *Aspergillus*, *Fusarium* y *Penicillium* como géneros dominantes de la microbiota infectiva de los granos de maíz durante la cosecha no sólo predispone a su biodeterioro (Bhattacharya y Raha, 2002), sino también a la formación de micotoxinas (Kumar y col., 2017).

De las cepas pertenecientes a la sección *Flavi* analizadas, el 85% fueron capaces de producir esclerocios a 30°C en medio CZ. De estas, el 84% produjo esclerocios L y solo el 16% produjo los característicos esclerocios S. Mientras que el 15% no produjo esclerocios. Como se observa en la Figura 2, en la región Norte de Argentina, un 75% de las cepas aisladas produjeron esclerocios grandes (L); y el 25% restante no produjo esclerocios, en estas últimas cepas se observa que algunas produjeron altos niveles de AFB<sub>1</sub> (rango de 6,5 a 138,5 µg / g). De las zonas de la provincia de Córdoba, en la región Córdoba sur se aisló el mayor porcentaje de cepas productoras de esclerocios L (95%) y el menor número de cepas S (5%).

Siendo las cepas L las que mostraron la mayor capacidad toxicogénica (hasta 61 µg/g). Mientras que en la región Córdoba centro, el 61% de las cepas produjeron esclerocios L, y en un porcentaje similar (alrededor del 20%) se obtuvieron cepas con esclerocios S y cepas no productoras. Contrariamente a lo observado en la región Norte, las cepas con mayor capacidad toxicogénica fueron las que produjeron esclerocios S (hasta 208,7 µg / g). Mundialmente, las cepas L de varios sustratos también son informadas como más frecuentes que las cepas S (Giorni y col., 2007, Ehrlich y col., 2007, Atehnkeng y col., 2008, Astoreca y col., 2011). En cuanto a los niveles de AFB<sub>1</sub> y tipo de esclerocios producidos, se observó una gran variabilidad entre cepas analizadas. La diferencia en la capacidad de producir AFB<sub>1</sub> se ha relacionado con el tamaño de los esclerocios. Varios estudios han reportado una mayor capacidad aflatoxigénica en cepas productoras de esclerocios pequeños (Novas y Cabral, 2002, Barros y col., 2005), mientras que otros informaron que no existió correlación entre el tamaño esclerótico y la capacidad de producción de AFs (Giorni y col., 2007), y que las cepas L y las no productoras de esclerocios fueron las que produjeron los niveles más altos de AFB<sub>1</sub> (Astoreca y col., 2011)

## CONCLUSIÓN

Estos resultados proporcionan información importante acerca de la presencia, caracterización y distribución de la microbiota total y de las especies aflatoxigénicas de *Aspergillus* sección *Flavi* en suelo y en granos de maíz provenientes de las principales regiones productivas de Argentina.

## FONDOS

- Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica (ANPCyT)-PICT - 0943/14.
- Secretaría de Ciencia y Técnica Universidad Nacional de Río Cuarto (SECyT-UNRC), PPI/Resolución N°161/16.

## BIBLIOGRAFÍA

- Almeida AP, Fonseca H, Fancelli AL, Direito GM, Ortega EM, Correa B (2002) Mycoflora and fumonisin contamination in Brazilian corn from sowing to harvest. *J Agric Food Chem* 50: 3877-3882.
- Argenbio, 2017. Evolución de la superficie de cultivos GM como % del total de cada cultivo. [http://www.argenbio.org/adf/uploads/2017/Argentina\\_Evolucion\\_superficie\\_cultivos\\_GM\\_total\\_cada\\_cultivo.pdf](http://www.argenbio.org/adf/uploads/2017/Argentina_Evolucion_superficie_cultivos_GM_total_cada_cultivo.pdf) (Fecha de acceso 10/10/2017).

- Astoreca AL, Dalcerro AM, Fernández Pinto V, Vaamonde G (2011) A survey on distribution and toxigenicity of *Aspergillus* section *Flavi* in poultry feeds. *Int J Food Microbiol* 146: 38–43.
- Atehnkeng J, Ojiambo PS, Donner M, Ikotun T, Sikoras R, Cotty PJ, Bandyopadhyay R (2008) Distribution and toxigenicity of *Aspergillus* species isolated from maize kernels from three agroecological zones in Nigeria. *Int J Food Microbiol* 122: 74–84.
- Barberis C. L., Carranza C. S., Chiacchiera S. M. y Magnoli C. E. (2013). Influence of herbicide glyphosate on growth and aflatoxin B1 production by *Aspergillus* section *Flavi* strains isolated from soil on in vitro assay. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 48: 1070-1079.
- Barberis C.L., Aluffi M.E., Magnino Y. M., Monge M.P., Carranza C.S., Magnoli C.E., (2016). Evaluación de la micobiota cultivable aislada de suelos agrícolas con y sin historial de exposición a glifosato. Congreso Latinoamericano y argentino de microbiología. Rosario, Santa Fe, Argentina, 2016.
- Barros G, Torres A, Chulze S (2005) *Aspergillus flavus* population isolated from soil of Argentina's peanutgrowing region. Sclerotia production and toxigenic profile. *J Sci Food Agric* 85: 2349–2353
- Bhattacharya K, Raha S (2002) Deteriorative changes of maize, groundnut and soybean seeds by fungi in storage. *Mycopathologia* 155: 135-141.
- Carranza CS, Bergesio MV, Barberis CL, Chiacchiera SM, Magnoli CE (2014) Survey of *Aspergillus* section *Flavi* presence in agricultural soils and effect of glyphosate on nontoxigenic *A. flavus* growth on soil-based medium. *J Appl Microb* 116: 1229-1240.
- CONICET, Comisión Nacional de Investigación sobre Agroquímicos. (2009).
- Donner M, Atehnkeng J, Sikora RA, Bandyopadhyay R, Cotty PJ (2009) Distribution of *Aspergillus* section *Flavi* in soils of maize fields in three agroecological zones of Nigeria. *Soil Biol Biochem* 41: 37-44.
- Ehrlich KC, Kobbeman K, Montalbano BG, Cotty PJ (2007) Aflatoxin producing *Aspergillus* species from Thailand. *Int J Food Microbiol* 114: 153-159.
- Giorni P, Magan N, Pietri A, Bertuzzi T, Battilani P (2007) Studies of *Aspergillus* section *Flavi* isolated from maize in northern Italy. *Int J Food Microbiol* 113: 330-338.
- Girvan M.S., Bullimore J., Ball A.S., Pretty J.N., y Osborn A.M. (2004). Responses of active bacterial and fungal communities in soils under winter wheat

- to different fertilizer and pesticide regimens. Applied and Environmental Microbiology 70(5): 2692-2701.
- Klich MA (2002) Identification of common *Aspergillus* species. Centraalbureauvoor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands. pp. 116.
- Kumar P, Mahato DK, Kamle M, Mohanta TK, Kang SG (2017) Aflatoxins: A Global Concern for Food Safety, Human Health and Their Management. Front Microbiol 7: 1-7.
- Nesci A, Barros G, Castillo C, Etcheverry M (2006) Soil fungal population in preharvest maize ecosystem in different tillage practices in Argentina. Soil Till Res 91: 143-149.
- Novas MV, Cabral D (2002) Association of mycotoxin and sclerotia production with compatibility groups in *Aspergillus flavus* from peanut in Argentina. Plant Dis 86: 215-219.
- Perrone G, Gallo A, Logrieco AF (2014b) Biodiversity of *Aspergillus* section *Flavi* in Europe in relation to the management of aflatoxin risk. Front Microbiol 5: 1-5.
- Pitt JI, Hocking AD (2009) Fungi and food spoilage, 3rd Ed, CSIRO Division of Food Science and Technology, Sydney Academic Press, Australia.
- Razzaghi-Abyaneh M, Shams-Ghahfarokhi M, Allameh A, Kazeroon-Shiri A, Ranjbar-Bahadori S, Mirzahoseini H, Rezaee MB (2006) A survey on distribution of *Aspergillus* section *Flavi* in corn field soils in Iran: population patterns based on aflatoxins, cyclopiazonic acid and sclerotia production. Mycopathologia 161: 183-192.
- Ronco A. E., Marino D. J. G, Abelando M., Almada P. and C. D. Apartin (2016) Water quality of the main tributaries of the Paraná Basin: glyphosate and AMPA in surface water and bottom sediments. Environ Monit Assess 188:458 DOI 10.1007/s10661-016-5467-0
- Samson RA, Houbraken J, Thrane U, Frisvad JC, Andersen B (2010) Food and indoor fungi, Utrecht, The Netherlands, Centraalbureau VoorschimmelculturesUtrecht. 390 pp. (CBS Laboratory Manual Series; No. 2).
- Sannino F. y Gianfreda L. (2001). Pesticide influence on soil enzymatic activities. Chemosphere 45: 417-425.
- Scursoni, J.A.; Satorre, E.H. Glyphosate management strategies, weed diversity and soybean yield in Argentina. Crop Prot 2010, 29, 957-962.

Sebők F, Dobolyi C, Zágoni D, Risa A, Krifaton C, Hartman M, Cserháti M, Szoboszlay S, Kriszt B (2016) Aflatoxigenic *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* strains in Hungarian maize fields. *Acta Microbiol Immunol Hung* 63:491-502.

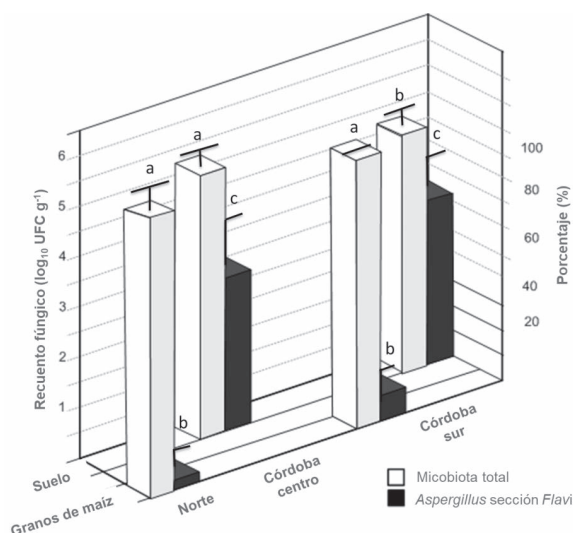
Varga J, Frisvad JC, Samson RA (2011) Two new aflatoxin producing species and an overview of *Aspergillus* section *Flavi*. *Stud Mycol* 69: 57-80.

Villamil Lepori E. C., Bovi Mitre G. y Nassetta M. (2013). Situación actual de la contaminación por plaguicidas en Argentina. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 29: 25-43.

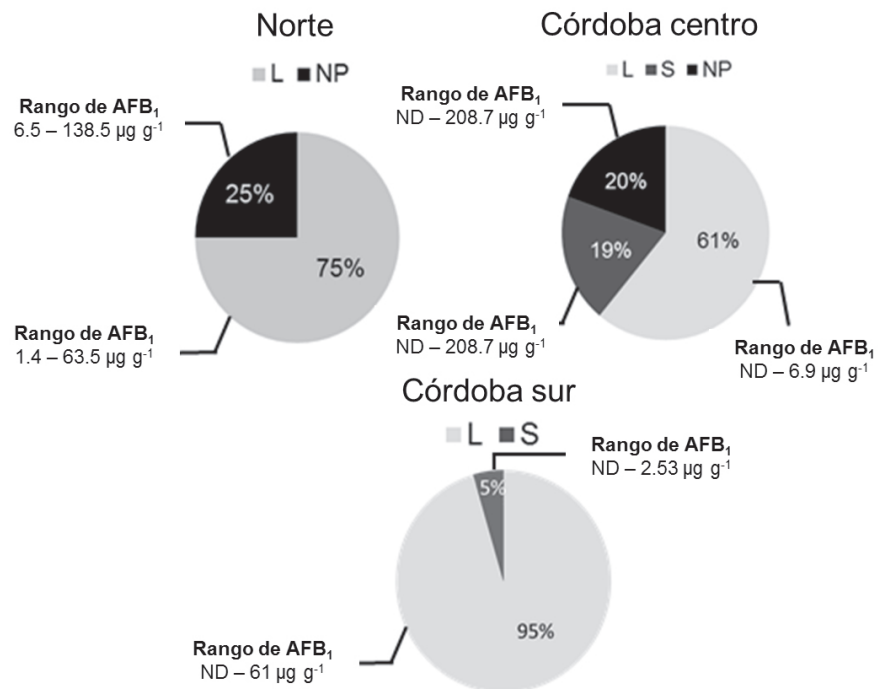
**Tabla 1.** Incidencia y distribución de *Aspergillus* sección *Flavi* en muestras de suelo y maíz de Argentina

Muestras	N° de positivos/ Muestras evaluadas	Media			
		% infección por micobiota total	% infección por <i>Aspergillus</i> <i>sp</i>	Log <sub>10</sub> de la micobiota total (UFC/ml)	Log <sub>10</sub> <i>Aspergillus sp.</i> (UFC/ml)
Suelo	14/15			2.9 X 10 <sup>4</sup> ± 23.9	3.5 X 10 <sup>3</sup> ± 8.6
Maíz	8/11	96.54	4.81		

**Figura 1.** Media de los recuentos y porcentaje de infección (%) de la micobiota total y *Aspergillus* de la sección *Flavi* en suelo y maíz de las diferentes regiones analizadas. Las letras en común para cada análisis individual no son significativamente diferentes según la prueba de LSD de Fisher. (P <0, 05).



**Figura 2.** Distribución de las cepas según el tipo de esclerocios producidos en el medio Czapek-Dox, el rango de producción AFB<sub>1</sub> y la región correspondiente. L: esclerocios grandes. S: pequeños esclerocios. NP: esclerocios no productivos. ND: no detectado.





## LA COINOCULACIÓN DE ENDOSIMBIOTES FÚNGICOS, AÉREOS Y RADICULARES, MEJORA EL CRECIMIENTO DE GRAMÍNEAS PERENNES

**María Josefina Bompadre**, *Betina Inés Stephan,*  
*Laura Fernández Bidondo, Alejandro Guillermo Pardo*  
*Laboratorio de Micología Molecular. Departamento de Ciencia y Tecnología. Universidad*  
*Nacional de Quilmes, CONICET. Roque Sáenz Peña 352. B1876BXD.*  
*Bernal. Buenos Aires. Argentina.*

### RESUMEN

Gramíneas del género *Lolium* presentan simbiosis con el género fúngico *Neotyphodium*. El hongo vive de manera asintomática en los vástagos de los pastos y su transmisión ocurre a través de las semillas. Su presencia confiere a la planta una resistencia adicional ante la sequía y herbivoría. En el suelo encontramos hongos formadores de micorrizas arbusculares que se asocian de manera simbiótica con las raíces del 80% de las plantas, confiriéndole resistencia a factores bióticos y abióticos además de otorgarles nutrientes esenciales a sus hospedantes.

El objetivo fue estudiar el efecto de la presencia de endófitos aéreos y de raíz en el crecimiento de *L. multiflorum*. Hipótesis: la presencia de ambos endófitos mejoraría el crecimiento de *L. multiflorum* comparadas con la ausencia de uno o ambos.

Se germinaron semillas de *L. multiflorum* colonizadas con *N. lolii* y carentes del mismo. Se colocó una semilla por maceta con sustrato estéril. La mitad del ensayo fue inoculado con sustrato colonizado con *Rhizophagus intraradices* y la otra mitad con el mismo sustrato autoclavado como control. Se midió micorrización, altura, peso fresco y biomasa.

La colonización intraradical no se vio modificada por la presencia de *N. lolii*. La presencia de los endofitos, tanto individualmente como coinoculados, mejoraron el estatus hídrico de *L. multiflorum*. Las plantas con ambos endofitos resultaron de menor altura. La presencia de endofitos fúngicos en simbiosis podría generar un costo adicional al hospedante, de ahí que la altura resultó menor en las mismas. Ese costo tiene su beneficio en cuanto al ajuste osmótico que le otorgan las micorrizas al poder explorar lugares dentro de las partículas de suelo donde las raíces de las plantas no pueden acceder. Es por eso que las plantas de *L. multiflorum* inoculadas con *R. intraradices* presentaron un mayor contenido de agua que el resto de los tratamientos.

**Palabras clave:** *Lolium multiflorum*, *Rhizophagus intraradices*, *Neotyphodium lolii*.

## INTRODUCCIÓN

Muchas gramíneas, particularmente especies del género *Lolium*, presentan en su parte aérea una asociación con el género fúngico *Neotyphodium*. Estos hongos son endosimbiontes obligados que viven de manera asintomática en los vástagos de los pastos. Obtienen nutrientes de su hospedante vegetal, y se multiplican y dispersan gracias a éste a través de las semillas (transmisión vertical). Por su parte, las gramíneas infectadas ven incrementado su contenido de alcaloides (Gundel *et al.* 2008). La presencia de estos hongos confiere a la planta una resistencia adicional frente a factores abióticos, como la sequía, y bióticos, como herbivoría y predación de semillas, respecto a las plantas no infectadas.

Por otra parte, en la rizósfera podemos encontrar a los hongos formadores de micorrizas arbusculares (MA) que se asocian de manera simbiótica con las raíces de aproximadamente el 80% de las plantas, incluyendo a las gramíneas. Estos hongos también confieren resistencia frente a factores bióticos y abióticos a sus hospedantes a través de la competencia por los puntos de acceso, y la mejora en el estado hídrico además de colaborar en la adquisición de nutrientes esenciales como fósforo y nitrógeno (Ruiz-Lozano 2003).

El objetivo de este trabajo es estudiar los posibles efectos de la presencia combinada de estos endófitos fúngicos en las raíces y vástagos de una gramínea hospedante. Para lo cual se evaluaron parámetros de crecimiento y desarrollo de la gramínea perenne *Lolium multiflorum*. Se planteó analizar la hipótesis de que ambos endofitos tendrían un efecto positivo sinérgico sobre los parámetros analizados de *L. multiflorum* en comparación con la ausencia de uno de ellos o de ambos. Que la presencia de *N. lolii* no afectaría el desarrollo de la colonización de hongos MA.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### INÓCULO FÚNGICO

El hongo MA *Rhizophagus intraradices* (anteriormente *Glomus intraradices*) se propagó usando trébol (*Trifolium repens*) como hospedante vegetal en macetas de 1,5 l con una mezcla tinalizada (100 °C por 1 h, 3 días consecutivos) de perlita y suelo (3:1, v:v). Las características del suelo fueron: pH 7.1; C total 12,08 g kg<sup>-1</sup>, N 1,1 g kg<sup>-1</sup>; P 34,2 mg kg<sup>-1</sup>; K 0,9 cmol kg<sup>-1</sup>; Ca 7,5 cmol kg<sup>-1</sup>; Mg 1,7 cmol kg<sup>-1</sup> y Na 0,2 cmol kg<sup>-1</sup>. Las plantas se mantuvieron por 4 meses en condiciones

de invernadero ( $450 \mu\text{E} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-2}$ , 400 – 700 nm; 16/8 luz-oscuridad; 25/18°C día/noche; 60 – 70 % humedad relativa). Todas las plantas se regaron cada 15 días con solución nutritiva de Hewitt (1952). Luego de este tiempo se dejaron de regar y se secaron para obtener el inóculo micorrízico seco.

## **DISEÑO EXPERIMENTAL**

Se pre-germinaron semillas de *L. multiflorum* colonizadas con el endofito aéreo *N. lolii* (tratamiento E+) y semillas carentes del mismo (tratamiento E-). Se colocó una semilla por maceta de 110 ml con una mezcla de sustrato estéril perlita:suelo (2:1, v:v). A la mitad de las macetas (160 plantas) se les agregaron 2 g de inóculo de *R. intraradices* (tratamiento Ri+), y la otra mitad de las macetas (160 plantas) fueron inoculadas con la misma cantidad de inóculo autoclavado a modo de control (tratamiento Ri-). Los tratamientos resultantes fueron los siguientes: E+Ri+; E-Ri+; E+Ri-; E-Ri-. Las plantas se dejaron crecer durante un período de 25 días, transcurrido este tiempo fueron transplantadas a macetas de 5 l de capacidad con la misma formulación de sustrato estéril. A continuación se mantuvieron por 30 días en condiciones de invernadero y fueron fertilizadas con solución nutritiva Hewitt (1952) sin fósforo cada 15 días.

Al final del ensayo se midieron el porcentaje de micorrización en raíz (discriminado en porcentaje de colonización intraradical, presencia de arbusculos y vesículas) según se describe en Phillips y Hayman (1970), la altura, el número de espigas, el peso fresco y la biomasa de las plantas completas.

El experimento fue realizado en un diseño experimental al azar con igual número de réplicas para cada tratamiento (80 plantas). Los datos fueron sujetos al análisis de varianza (ANOVA). Las comparaciones entre las medias por tratamiento fueron realizadas a través del test de Tukey (HSD) (Clewer y Scarisbrick 2001) mediante el software estadístico InfoStat.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La colonización intraradical con *R. intraradices* no se vio modificada por la presencia de *N. lolii* pero el porcentaje de vesículas resultó significativamente menor (Figura 1). Se han reportado casos en los que la presencia de endófito aéreo promueve la colonización intraradical de las micorrizas arbusculares (Novas *et al* 2009). Las plantas con ambos endofitos resultaron más bajas en altura que las plantas no inoculadas (Figura 2). La presencia de los endofitos tanto individualmente como coinoculados incrementó el contenido de agua de las plantas de *L. multiflorum* (Figura 3) pero no así su biomasa seca (Figura 4). La presencia de endofitos fúngicos en simbiosis podría generar un costo adicional al hospedante, de ahí que la altura resultara menor en las mismas (Hignight

y Rush 2004; Larimer *et al* 2010). Ese costo extra se vería compensado por el beneficio en cuanto al ajuste osmótico que le otorgan las micorrizas MA al poder explorar lugares dentro de las partículas de suelo donde las raíces de las plantas no podrían acceder (Liu *et al* 2010). Es por eso que las plantas de *L. multiflorum* inoculadas con *R. intraradices* presentaron un mayor contenido de agua que el resto de los tratamientos. Por otro lado, no se encontraron diferencias en el número de espigas (Figura 5) entre los distintos tratamientos. Si bien existen reportes en los que se menciona un adelanto en la floración para muchas plantas colonizadas con micorrizas (Nowak 2004; Perner *et al* 2007; Püschel *et al* 2014), en las plantas de *L. multiflorum* no se observó esta diferencia.

## CONCLUSIONES

La inoculación con ambos endófitos fúngicos tuvo un efecto detrimental sobre el desarrollo de las plantas en cuanto a su altura y biomasa, sin embargo mejoró el estatus hídrico de *L. multiflorum*. Por otra parte, el desarrollo de *R. intraradices* no se vio afectado por la presencia de *N. lolii* lo que demuestra la compatibilidad de su coinoculación. Se prevé a futuro la posibilidad de evaluar esta combinación fúngica con el fin de evaluar el posible efecto protector frente a condiciones de estrés hídrico.

## BIBLIOGRAFÍA

- Clewer AG, Scarisbrick DH (2001) Factorial Experiments. En: Practical Statistics and Experimental Design for Plant and Crop Science. John Wiley and Sons Ltd (ed) The Atrium, Southern Gate, Chichester, West Sussex England, pp 159-181.
- Gundel PE, Batista WB, Texeira M, Martínez-Ghersa MA, Omancini M, Ghersa CM (2008) Neotyphodium endophyte infection frequency in annual grass populations: relative importance of mutualism and transmission efficiency. Proc R Soc B 275:897-905.
- Hewitt EJ (1952) Sand and water culture methods in the study of plant nutrition. Tech Com Agric Bur 22.
- Hignight KW y Rush DL (2004) <http://www.google.si/patents/US6815591>.
- Larimer AL, Bever JD, Clay K (2010) The interactive effects of plant microbial symbionts: A review and meta-analysis. Symbiosis 51:139-148.
- Liu Q, Parsons AJ, Xue H, Newman JA, Rasmussen S (2010) Effect of resource supply on interactions between foliar endophytic and root mycorrhizal fungi in perennial ryegrass. Proceedings of the New Zealand Grassland Association.

Novas VM, Iannone LJ, Godeas AM, Cabral D (2009) Positive association between mycorrhiza and foliar endophytes in *Poa bonariensis*, a native grass. *Mycological Progress* 8:75-81.

Nowak, J (2004) Effects of arbuscular mycorrhizal fungi and organic fertilization on growth, flowering, nutrient uptake, photosynthesis and transpiration of geranium (*Pelargonium hortorum* L.H. Bailey 'Tango Orange'). *Symbiosis* 37: 259-266.

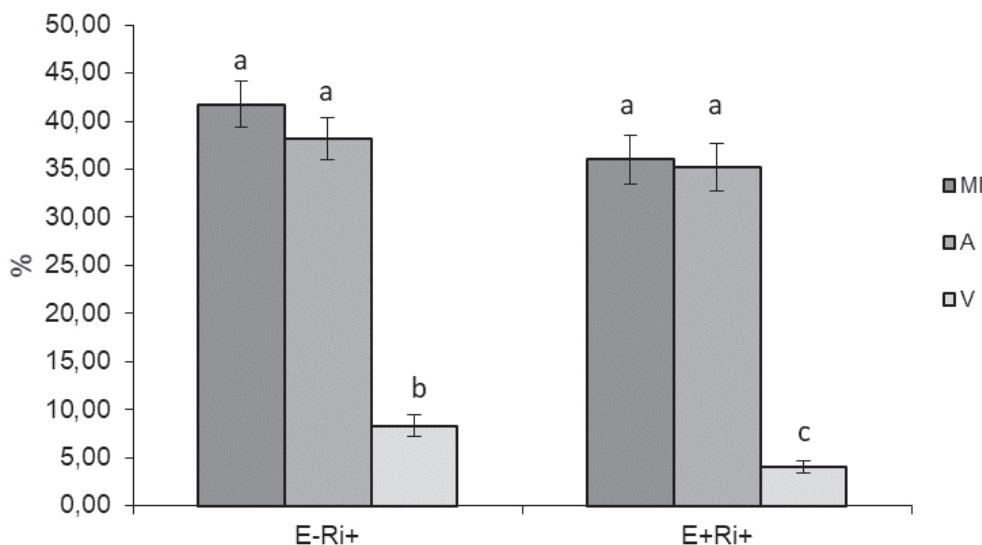
Perner H, Schwarz D, Bruns C, Mäder P, George E (2007) Effect of arbuscular mycorrhizal colonization and two levels of compost supply on nutrient uptake and flowering of pelargonium plants. *Mycorrhiza* 17: 469-474.

Phillips JM, Hayman DS (1970) Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infections. *Transaction of the British Mycological Society* 55:158-161.

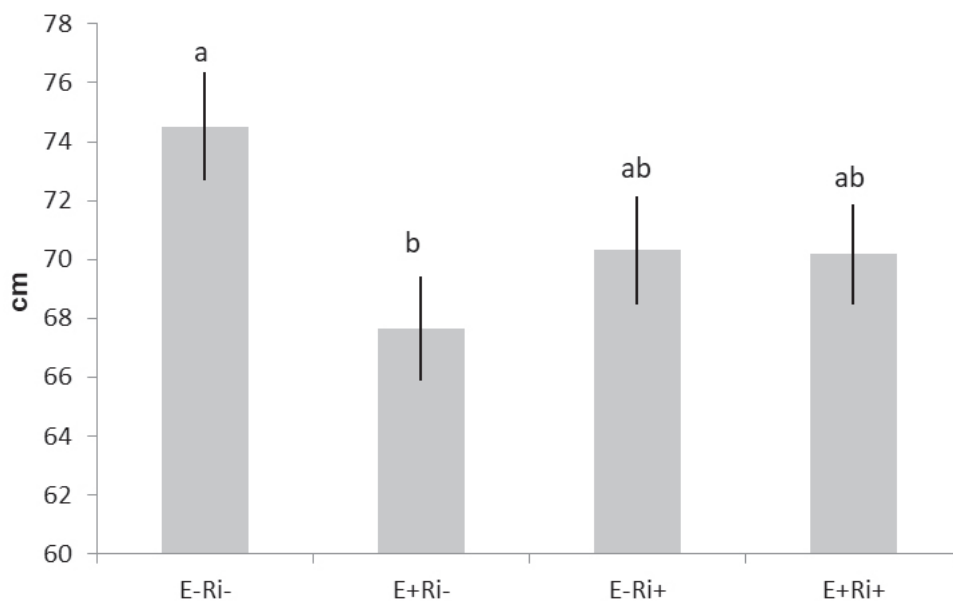
Püschel D, Rydlová J, Vosátka M (2014) Can mycorrhizal inoculation stimulate the growth and flowering of peat-grown ornamental plants under standard or reduced watering? *Applied Soil Ecology* 80: 93-99.

Ruiz-Lozano JM (2003) Arbuscular mycorrhizal symbiosis and alleviation of osmotic stress. *New perspectives for molecular studies*. *Mycorrhiza* 13: 309-317.

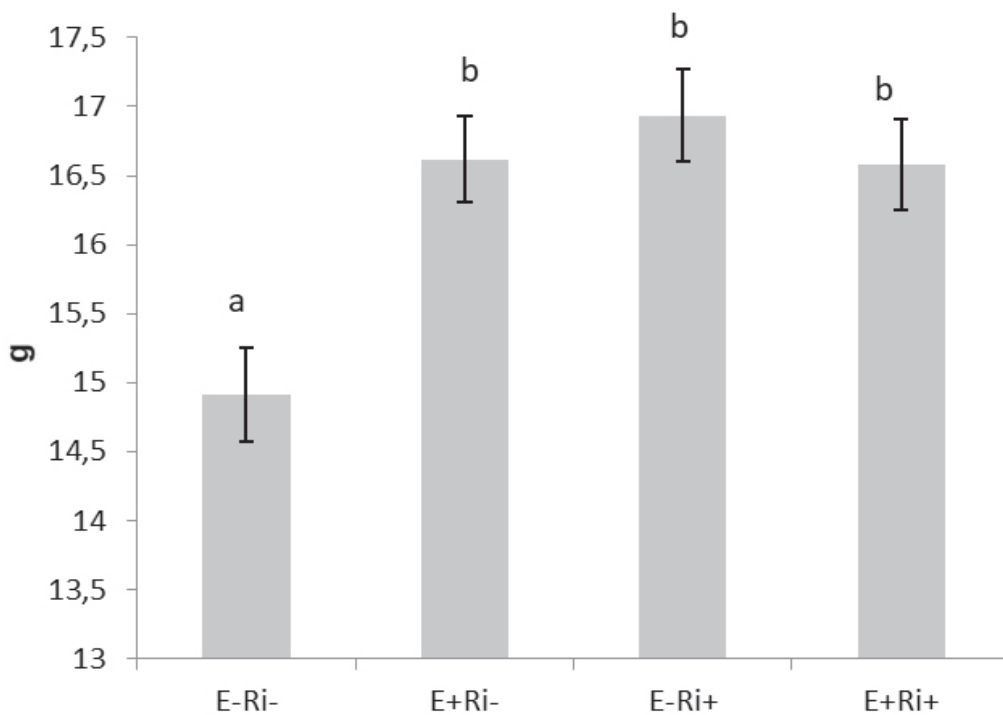
**Figura1.** Porcentaje de micorrización.



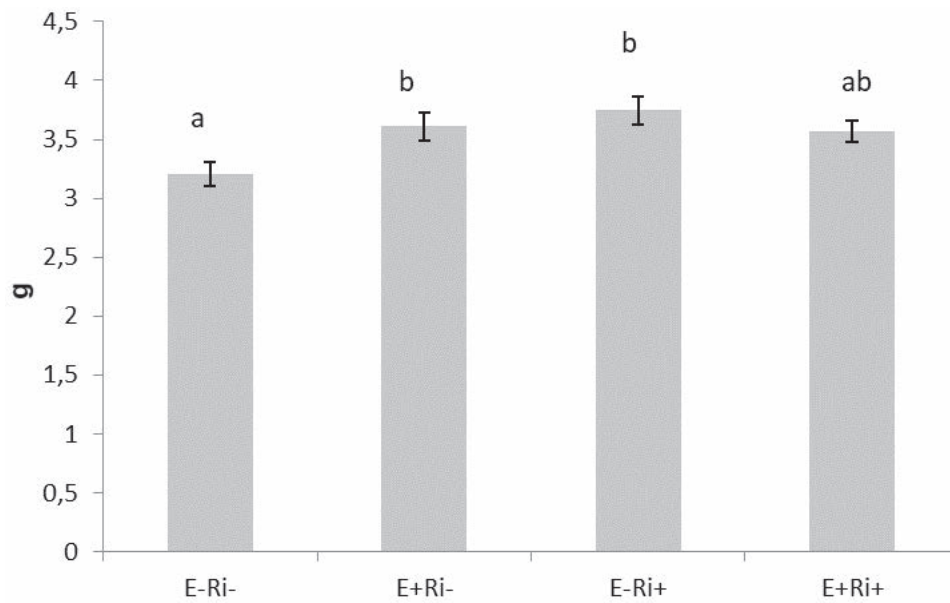
**Figura 2.** Altura (cm) de las plantas de *L. multiflorum* para cada tratamiento.



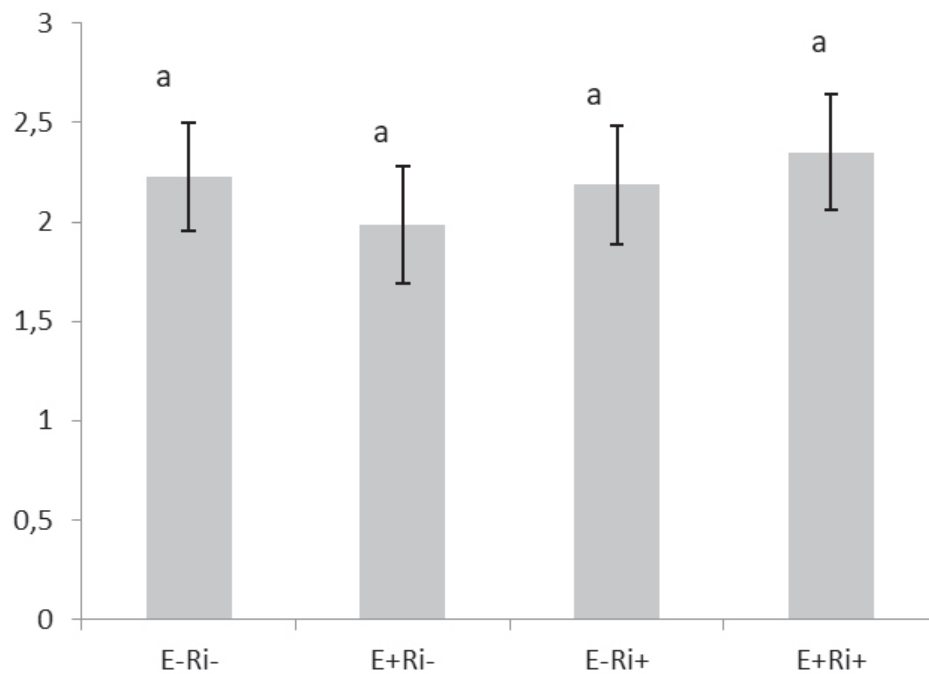
**Figura 3.** Peso fresco (g) de las plantas de *L. multiflorum* para cada tratamiento.



**Figura 4.** Biomasa seca (g) de las plantas de *L. multiflorum* para cada tratamiento.



**Figura 5.** Número de espigas por planta de *L. multiflorum* para cada tratamiento.



# **MORFOLOGÍA, FISIOLOGÍA, TAXONOMÍA Y SISTEMÁTICA**



## **AMPLIANDO EL CONOCIMIENTO DE LA OLIGOQUETOFAUNA URUGUAYA: PRIMER TRABAJO DE RECONOCIMIENTO DE ESPECIES EN URUGUAY QUE COMPLEMENTA MÉTODOS MORFOLÓGICOS CON MÉTODOS MOLECULARES**

*Gabriella Jorge-Escudero (1,2,3,\*); Jan Lagerlöf (3); Claudio Martínez Debat (4); Carlos A. Pérez (5)*

*1 Departamento de Suelos y Aguas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, 12900 Montevideo, Uruguay.*

*2 Departamento de Sistemas Ambientales, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, 12900 Montevideo, Uruguay*

*3 Departamento de Ecología, Universidad Sueca de Agricultura (SLU), P.O Box 7044, SE-75007, Uppsala, Suecia.*

*4 Sección Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Iguá 4225 Esq. Mataojo C.P. 11400 Montevideo, Uruguay.*

*5 Departamento de Protección Vegetal, EEMAC, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Ruta 3 km 363, 60.000 Paysandú, Uruguay.*

*\*gjorge@fagro.edu.uy*

### **RESUMEN**

En el marco de una investigación abocada a evaluar si las lombrices locales pueden ser utilizadas en el control biológico de fitopatógenos que afectan la producción agrícola, se propuso realizar una prospección de lombrices en agroecosistemas. Este estudio se basó en una colección generada a partir de muestreos en suelos agrícolas y zonas aledañas del sur y litoral oeste del Uruguay. La identificación de especies de lombrices se realizó mediante caracteres morfológicos y técnicas moleculares. Los individuos adultos colectados se identificaron por morfología mayormente externa, siguiendo descripciones y claves. Luego se seleccionaron ejemplares representativos de cada morfoespecie para extraer su ADN genómico, para amplificar y secuenciar la región mitocondrial COI. Se buscó la similitud de las secuencias obtenidas con las secuencias anotadas en el banco de datos en línea (GenBank). La mayoría de las especies exóticas contaban con secuencias anotadas en dicha base de datos y se observó una alta similitud para éstas ( $\geq 97\%$ ), con excepción de las del género *Lumbricus* (74% - 87%). En cambio, para las nativas, sólo se encontró una especie anotada, lo cual evidencia la necesidad de desarrollar esta área en el futuro, de gran importancia a nivel regional. Se observó que en el sur las exóticas dominaron por sobre las nativas en riqueza y abundancia, mientras que en el litoral oeste las nativas dominaron en estas dos variables. Los escasos antecedentes de prospección de la oligoquetofauna en Uruguay, y ausencia de trabajos nacionales que hayan identificado especies por secuencias de ADN, hacen que este estudio represente un puntapié inicial para una línea de investigación tan innovadora como necesaria.

## Palabras claves: COI, secuenciación, lombrices nativas

### INTRODUCCIÓN

La historia de la investigación sobre oligoquetofauna en Uruguay puede considerarse relativamente breve. El primer investigador de oligoquetos en Uruguay fue el Profesor Ergasto Cordero, nacido a fines del siglo XIX, quien describió varios géneros y especies nativas. Realizó contribuciones a la sistemática, taxonomía y biogeografía, en particular de la familia Glossoscolecidae, estableciendo su distribución y filogenia (Cordero 1931, 1943, 1945; en Grosso y cols., 2006). No tuvo seguidores, por lo que los estudios en lombrices en este país se vieron interrumpidos, retomándose recién medio siglo después con los trabajos de Grosso y cols. (2006) y Grosso y Brown (2007), Zerbino (2005; 2010; 2012), y Zerbino y cols. (2006). Debido a los pocos investigadores que han estudiado las lombrices en Uruguay, resulta difícil constatar por ejemplo si las especies nativas han sido desplazadas, ya que no ha habido un estudio sistemático de las lombrices nativas presentes en los distintos ecosistemas naturales, que pudiera generar una línea de base (Grosso y cols, 2006), y por ello no se conoce aún cuál es el universo de lombrices locales. Hasta el momento se han reportado 21 especies de lombrices en Uruguay (y no todas ellas fueron identificadas a nivel de especie), siendo un poco más de la mitad de estas exóticas (Grosso y Brown, 2007). Muy probablemente con un mayor esfuerzo de muestreo e investigación este inventario pueda extenderse, particularmente dentro del grupo de las nativas, ya que la mayoría de los estudios se han realizado en agroecosistemas, donde se ha visto que las exóticas son más competitivas (Grosso y cols. 2006; Zerbino 2005; 2010; 2012; Zerbino y cols. 2006).

En Montevideo se han encontrado diez especies de la familia Lumbricidae, de origen euroasiático y algunas del género *Amyntas* de la familia Megascolecidae, también exótica. A su vez, *Microscolex dubius* Fletcher, 1887 y *Eukerria stagnalis* Beddars, 1895 son las dos especies nativas encontradas en dicho departamento (Grosso y Brown 2007). En contraste, en las prospecciones realizados en tres unidades de vegetación de las regiones centro norte (cuesta basáltica), sólo fueron colectados Oligochaeta nativos, que pertenecen a las Familias Ocnerodrilidae, Acanthodrilidae y Glossoscolecidae (Zerbino, 2010). Este contraste entre estas dos zonas refleja la cercanía de la primera con el puerto que fuera entrada de la inmigración principalmente europea, con la cual también llegaron de manera no intencional las lombrices exóticas.

Actualmente la identificación de especies por morfología puede ser complementada con técnicas moleculares, la cual facilita el trabajo cuando las diferencias inter-específicas dependen de caracteres internos o se distinguen solamente en individuos maduros sexualmente. En particular, se ha generalizado

la utilización del “código de barras de ADN” (*DNA barcoding*), basado en una región estandarizada del gen mitocondrial citocromo oxidasa I (COI) utilizada como marcador genético para discriminar especies (Herbert y cols., 2003). Esta metodología ha resultado exitosa para la identificación de especies en Asia, Europa y América (Chang 2009; Decaënsy cols., 2013; Decaënsy cols. 2016). No obstante, al momento de establecer relaciones filogenéticas no es concluyente, por lo que es recomendable utilizar más de un marcador genético (Decaënsy cols., 2013; Fernández y cols., 2016; James y Davidson, 2012). No existen antecedentes de identificación de especies de lombrices por métodos moleculares en Uruguay.

Este estudio se propone incursionar en esta novel metodología para nuestro país. Debido a que el material a identificar proviene de muestreos realizados en el marco de un proyecto que propone evaluar la potencialidad de las lombrices en el control biológico de *Fusarium* en el rastrojo de trigo, todos los muestreos se enfocaron en agroecosistemas con este cultivo en la rotación. Se intentó cubrir un abanico de diversos manejos, los cuales incluyen rotaciones de diversa intensidad, con laboreo, siembra directa y producción orgánica.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

Se tomaron muestras en un ensayo de rotación de cultivos de la Estación Experimental “Mario A. Cassinoni” (EEMAC) de la Facultad de Agronomía, departamento de Paysandú, y en chacras particulares que producen trigo ecológico o convencional, en el área rural del departamento de Montevideo (Fig. 1). Los sitios a muestrear se seleccionaron siguiendo el criterio de contar con trigo como cultivo actual o antecesor y un sitio de control en un campo alledaño con bajo nivel de perturbación, preferentemente bajo el alambrado.

Los muestreos se realizaron en otoño y primavera de 2014 y en primavera de 2015 dado que en estas estaciones es cuando aumenta la actividad de las lombrices por las condiciones ambientales de temperatura y humedad favorables (Edwards yLofty 1976; Lavelle y Fragoso 2000; en Zerbino 2005). En otoño de 2015 no se realizó muestreo debido a una gran sequía que azotó al país, por lo que según lo descrito por Curry (1998), no se esperaba encontrar lombrices en los primeros 20 cm del suelo. En cada sitio se realizó un muestreo de la oligoquetofauna, así como del suelo para análisis de propiedades físicas y químicas. Los datos del suelo no son reportados en este trabajo.

El método de muestreo fue similar al recomendado por Anderson e Ingram (1993). Se tomaron 5 unidades muestrales por sitio. Cada unidad muestral se marcó en el suelo colocando un cuadro de 25 cm x 25 cm en el sitio a muestrear. Primero se retiró todo el material vegetal vivo, se colectaron los

residuos vegetales y luego se colectó el monolito de suelo de 25 cm x 25 cm x 20 cm de profundidad. El monolito de tierra obtenido, se embolsó y trasladó al laboratorio para la separación manual de las lombrices. Trasladar la tierra embolsada al laboratorio para su procesamiento, permite tomar muchas muestras en poco tiempo y evitar algún desvío en la población asociado a la hora de muestreo.

Las lombrices fueron separadas manualmente del monolito de tierra en el laboratorio, enjuagadas con agua destilada y anestesiadas gradualmente en alcohol hasta llegar a una concentración del 20% para su posterior fijación (Righi, 1990). Se identificaron todos los individuos adultos por taxonomía morfológica principalmente externa, en base al inventario de lombrices descritas para nuestro país de Grosso y Brown (2007), y siguiendo claves y descripciones disponibles (Andersen, 1997; Reynolds, 1996; Righi, 1979; Sims y Gerard, 1999). Al no existir una clave específica para nuestro país, ni tampoco conocerse aún el universo de especies que existen en Uruguay, estas claves no se utilizaron estrictamente siguiendo todas las opciones dicotómicas, sino que fueron usadas en forma de guía.

Se seleccionaron individuos representativos de cada sitio y morfoespecie para su identificación por métodos moleculares mediante la amplificación y secuenciación de la región COI del ADN mitocondrial, y el resto fueron fijados en formol 4%. Para la identificación molecular se tomó una sección caudal de cada individuo seleccionado, la cual se conservó en etanol absoluto a -20°C, mientras que la sección anterior fue conservada en formol 4% para futura corroboración morfológica<sup>1</sup>. La extracción de ADN, amplificación de una región del gen mitocondrial COI se realizó en el laboratorio LaTraMA, de la Sección Bioquímica de Facultad de Ciencias, Montevideo. Se extrajo el ADN total de dichas muestras de tejido, siguiendo un protocolo de uso regular en LaTraMA, que es, a su vez, una modificación de Dellaporta y cols. (1983). Los segmentos del gen mitocondrial del complejo citocromo oxidasa I (COI) se amplificaron con los cebadores LCO1490 y HCO2198 (Folmer y cols., 1994), aplicando una adaptación de protocolos estándar (Huang, 2007) sugerida por George G. Brown (*com. pers.*). Los productos amplificados por PCR se enviaron a MacroGen (Corea) para su purificación y secuenciación. Las secuencias se editaron manualmente con el software Chromas Lite (<http://technelysium.com.au/wp/chromas/>). Luego de editadas las mismas fueron sujetas a búsqueda con el algoritmo BLAST de GenBank, donde se tomaron como referencias las secuencias que cumplieran con los siguientes requisitos: mayor similitud, mayor cobertura, y publicadas en revistas indexadas.

<sup>1</sup> <http://www.earthwormbol.org/protocols.php>

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el conjunto de los sitios muestreados se pudo identificar un total de 16 especies, tres de las cuales no coinciden con especies ya descritas para Uruguay y requiere de mayor estudio para su correcta identificación. En Montevideo predominaron las especies exóticas por sobre las nativas, siendo la relación de abundancia exóticas:nativas 10:1 considerando todos los sitios muestreados; 100:1 considerando sólo los sitios menos perturbados; y 3:1 para los campos cultivados con trigo. Las especies nativas encontradas en este departamento fueron *E. stagnalis* (fam. Ocnerodrilidae) y *M. dubius* (fam. Acanthodrilidae), coincidentemente con lo reportado por Grosso y Brown (2007). *Eukerria stagnalis* fue colectada solamente en campos cultivados, mientras que *M. dubius* fue mayormente encontrada en campos cultivados, y algunas en los sitios imperturbados. En Paysandú, en general dominaron las especies nativas, variando la relación entre sitios y estación del año, pero, considerando todos los sitios muestreados, la relación nativas:exóticas fue 2,4:1. Se encontraron especies nativas de las tres familias reportadas para ese departamento (Zerbino, 2010).

La mayoría de las secuencias COI de las lombrices exóticas se encontraron en el banco de secuencias genéticas disponible en línea, repositorio de referencia GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>), con lo cual pudo corroborarse la identificación morfológica con la molecular anotada en el banco. Éstas fueron *Allolobophora chlorotica* Savigny, 1893, *Amyntas corticis* Kinberg, 1867, *Aporrectodea caliginosa* Savigny, 1826, *A. rosea* Savigny, 1826, *A. trapezoides* Dugès, 1828, *Lumbricus terrestris* Linnaeus 1758, *L. friendi* Cognetii, 1904, *Octolasion cyaneum* Savigny, 1826 y *O. tyrteum* Savigny, 1826 (Tabla 1). Sólo una de las especies nativas encontradas, tiene la secuencia COI anotada en la base de datos, con apenas dos ejemplares. Esto es un número bajo considerando que, por ejemplo, *Aporrectodea caliginosa* cuenta con 357 secuencias de COI en el banco y muchas de ellas publicadas en revistas indexadas, lo que da mayor rigor científico y confiabilidad a la información. Existe una base de datos de referencia (RefSeq<sup>2</sup>) con secuencias curadas, es decir revisadas por especialistas con garantía que sean bien anotadas y no redundantes. Si bien al 2016, RefSeq ya contaba con secuencias de más de 55000 organismos, al día de hoy sólo puede encontrarse la secuencia COI de una especie de lombriz: *Metaphire sieboldi* (O'Leary y cols., 2016), por lo que por el momento no sirve de referencia para los estudios de oligoquetos terrestres. A partir de este trabajo y otros futuros complementarios, podrá completarse el banco con nuevas secuencias de especies nativas, una vez corroborada la identificación morfológica con expertos internacionales.

<sup>2</sup> <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>

El porcentaje de similitud de las secuencias obtenidas con las anotadas en GenBank fue mayor a 97% para los géneros *Allolobophora*, *Amyntas*, *Aporrectodea* y *Octolasion*. El género *Lumbricus* mostró valores menores de similitud con las secuencias anotadas, entre 74 % y 87 % (Tabla 1). Dado que solamente se secuenciaron 3 individuos del género *Lumbricus*, es necesario profundizar el estudio con más especímenes de forma de poder detectar si existe alguna diferenciación que implique la presencia de especies crípticas, tal como se ha descrito para este género en otros países (Martinsson y Erseus, 2017; Spurgeon y cols., 2016).

## CONCLUSIONES

En los muestreos realizados en 2014 y 2015, en los departamentos de Montevideo y Paysandú, en suelos agrícolas y zonas aledañas menos perturbadas, se encontraron 14 de las 21 especies descritas para Uruguay, más dos especies sin registro previo en este país. El hecho de encontrar especies no registradas en tan pocos sitios muestreados, evidencia la poca cobertura de muestreos en paisajes antrópicos y naturales del país. Estos resultados evidencian un desafío a futuro de seguir descubriendo la riqueza de oligoquetofauna nacional, lo cual implicará no sólo un mayor esfuerzo de muestreo, sino también ampliar la diversidad de ambientes y ecosistemas muestreados. Complementar la identificación morfológica con técnicas moleculares permitirá descubrir si existen especies crípticas y establecer relaciones filogenéticas, así como completar el banco de datos en línea con secuencias de especies nativas. No obstante, debe destacarse la importancia de mantener la formación de taxónomos, ya que la adopción de técnicas moleculares no implica que se pueda prescindir de la taxonomía tradicional basada en caracteres morfológicos.

## BIBLIOGRAFÍA

- Andersen, C., 1997. Regnorme. *Natur og Museum*, 36(4), 35pp.
- Anderson, J. M. e Ingram, J. S. I. 1993. *Tropical soil biology and fertility. A handbook of methods*. 2nd. Ed. Wallingford, CAB International. 221 pp.
- Chang, C.-H., Rougerie, R., Chen, J.-H., 2009. Identifying earthworms through DNA barcodes: Pitfalls and promise. *Pedobiologia*, 52, 171–180.
- Curry JP (1998) Factors affecting earthworm abundance in soils. En: Edwards CA (ed) *Earthworm ecology*. St. Lucie Press, Boca Raton, p 389.
- Decaëns, T., Porco, D., James, S.W., Brown, G. G., Chassany, V., Dubs, F., Dupont, L., Lapied, E., Rougerie, R., Rossi J.P., Roy, V., 2016. DNA

- barcoding reveals diversity patterns of earthworm communities in remote tropical forests of French Guiana. *Soil Biology and Biochemistry*, 92, 171-183.
- Decaëns, T., Porco, D., Rougerie, R., Brown, G G. y James, S W. 2013. Potential of DNA barcoding for earthworm research in taxonomy and ecology. *Applied Soil Ecology*. 65:35-42.
- Dellaporta, S.L., Wood, J. y Hicks, J.B. *Plant MolBiol Rep* (1983) 1: 19.
- Edwards CA and Lofty JR 1976: *Biology of Earthworms*, Bookworm Publishers. Ontario, 283pp.
- Fernández, R., Novo, M., Marchán, D.F., Díaz Cosín, D.J., 2016. Diversification patterns in cosmopolitan earthworms: similar mode but different tempo. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 94: 701–708.
- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R. 1994 DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294–299.
- Grosso E.G. y Brown. 2007. Biodiversidad y ecología de las lombrices de tierra en el Uruguay. . En: Brown GG, Fragoso C. [Eds.]. *Minhocas na América Latina: Biodiversidade e ecologia*. Londrina: EMBRAPA. pp. 287-296.
- Grosso, E.G.; Jorge, G. y Brown, G.G. 2006. Exotic and Native Earthworms in Various Land Use Systems of Central, Southern and Eastern Uruguay. *Caribbean Journal of Science*. 42 (3):294-300.
- Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L., deWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. Roy. Soc. Lond. B* 270, 313–321.
- Huang, J., Xu Q, Sun, Z.J., Tang G.L. y Su. Z. Y. 2007. Identifying earthworms through DNA barcodes. *Pedobiologia*. 51:301-309.
- James S. W. y Davidson, S. K., 2012. Molecular phylogeny of earthworms (Annelida :Crassiclitellata) based on 28S, 18S and 16S gene sequences. *Invertebrate Systematics*, 26, 213–229.
- Katoh, K., Misawa, K., Kuma, K y Miyata, T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Res.* 30: 3059-3066.
- Klarica, J., Kloss-Brandstatter, A., Traugott, M. and Juen, A. 2012. Comparing four mitochondrial genes in earthworms - Implications for identification, phylogenetics, and discovery of cryptic species. *Soil Biol. Biochem.* 46: 23-30.

- Martinsson, S. y Erseus, C., 2017. Cryptic speciation and limited hybridization within *Lumbricus* earthworms (Clitellata: Lumbricidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 106, 18–27.
- Novo M, Cunha L, Maceda-Veiga A, Talavera JA, Hodson ME, Spurgeon D, Bruford, MW, Morgan AJ, y Kille P. 2015. Multiple introductions and environmental factors affecting the establishment of invasive species on a volcanic island. *Soil Biol. Biochem.* 85: 89–100.
- O'Leary y cols., 2016. Reference sequence (RefSeq) database at NCBI:current status, taxonomic expansion, and functional annotation. *Nucleic Acids Research*, 44, 733–745.
- Porco, D., Decaëns, T., Deharveng, L., James, S., Skarzynski, D., Erséus, C., Butt, K., Richard, B., Hebert, P.N., 2013. Biological invasions in soil: DNA barcoding as a monitoring tool in a multiple taxa survey targeting European earthworms and springtails in North America. *Biol. Invasions* 15, 899–910.
- Reynolds, J.W. 1996. *Earthworm Biology and Ecology*. Course manual for Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. 196pp.
- Righi G. 1979. Introducción al estudio de las lombrices del suelo (oligoquetos megadrilos) de la Provincia de Santa Fe (Argentina). *Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral Colección Climax*, 2:89–155.
- Righi, G. 1990. *Minhocas de Mato Grosso e de Rondônia*. Programa Polomordeste. Relatório de Pesquisa nº12. SCT/PR-CNPq, Programa do Trópico Úmido. 157pp.
- Sims RW, Gerard BM. 1999. Earthworms. Notes for the identification of British species. *Synop. Br. Fauna NS*, 31:1-169
- Spurgeon, D. J., Liebeke, M., Anderson, C., Kille, P., Lawlor, A., Bundy, J. G. y Lahive, E. 2016. Ecological drivers influence the distributions of two cryptic lineages in an earthworm morphospecies. *Applied Soil Ecology*, 108, 8–15.
- Zerbino, M. S. 2005. Evaluación de la densidad, biomasa y diversidad de la macrofauna del suelo en diferentes sistemas de producción. Tesis de Magister en Ciencias Ambientales, Facultad de Ciencias, Universidad de la República, Montevideo. 92pp.
- Zerbino M. S. 2010. Evaluación de la macrofauna del suelo en rotaciones cultivo-pasturas con laboreo convencional. *Acta Zoológica Mexicana*. 26:189-202.



Zerbino, M.S., 2012. Efecto de rotaciones cultivo-pasturas en siembra directa, con pastoreo, sobre comunidades de Oligochaeta. *Agrociencia Uruguay*. 16(1):15-23.

Zerbino M. S., Rodríguez, C., Altier, N., 2006. Oligochaeta communities in Uruguayan Agro-ecosystems. *Caribbean Journal of Science*, 42: 315 – 324.

### **Agradecimientos**

ANII, Uruguay, por financiar la Beca de Posgrados Nacionales de la primera autora. A CSIC-UdelaR, Uruguay y Ekshagastiftelsen, Suecia, por el apoyo financiero.

A productores de Montevideo y a Oswaldo Ernst, responsable del Ensayo de largo plazo de EEMAC. Al personal de campo de la EEMAC, a estudiantes y compañeros de los Departamentos de Suelos y Aguas y de Sistemas Ambientales que colaboraron en los muestreos y procesamiento de muestras. A Samuel James, George G. Brown y Marie C. Bartz por asesoramiento en identificación morfológica. A Elodie da Silva, Mailén Arleó y Claudio Borteiro por asesoramiento en técnicas moleculares y análisis de secuencias.

### **Modalidad de presentación: ORAL**

**Fig. 1.** Ubicación de los sitios muestreados en el mapa de la República Oriental del Uruguay.



**Tabla 1.** Especies exóticas encontradas en Montevideo y Paysandú con secuencias anotadas en la base de datos en línea\*

ID	Sitio	Departamento	Especie	Similitud con secuencia de la base de datos en línea*		Número de accesión	Cita
23	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Allolobophora chlorotica</i>	501/518	97%	JQ908733	Porco y cols., 2013
69	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Amyntas corticis</i>	615/617	99%	KP214578	Novo y cols., 2015
75	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Aporrectodea caliginosa L2</i>	523/523	100%	JQ908781	Porco y cols., 2013
43	Estación Experimental: cultivo continuo de anuales	Paysandú	<i>Aporrectodea caliginosa L3</i>	523/523	100%	JQ908832	Porco y cols., 2013
65	Chacra Convencional con Siembra Directa	Montevideo	<i>Aporrectodea caliginosa L3</i>	627/630	99%	JQ908832	Porco y cols., 2013
87	Estación Experimental: rotación Cultivo-Pasturas	Paysandú	<i>Aporrectodea caliginosa L3</i>	625/630	99%	JQ908848	Porco y cols., 2013
50	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Aporrectodea caliginosa L3</i>	608/608	100%	KT073940	Martinsson y cols., 2015
20	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Aporrectodea rosea</i>	641/646	99%	JN869891	Klarica y cols., 2012
51	Chacra Convencional con Siembra Directa	Montevideo	<i>Aporrectodea rosea</i>	614/615	99%	KF441970	Fernández y cols., 2016
71	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Aporrectodea trapezoides</i>	546/549	99%	KT073953	Martinsson y cols., 2015
70	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Lumbricus friendi</i>	275/315	87%	GU014034	Sin publicar
22	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Lumbricus terrestris</i>	440/514	86%	HM388353	Porco y cols., 2013
72	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Lumbricus terrestris</i>	342/403	85%	KU888593	Souleman et al., 2016
76	Chacra Convencional con Siembra Directa	Montevideo	<i>Octolasion cyaneum</i>	616/616	100%	JQ909151	Porco y cols., 2013
30	Chacra en Transición a Ecológica con Laboreo	Montevideo	<i>Octolasion tyrtaeum</i>	280/281	99%	JX531567	Shekhovtsov y cols., 2014
52	Chacra Convencional con Siembra Directa	Montevideo	<i>Octolasion tyrtaeum</i>	617/617	100%	JQ909144	Porco y cols., 2013

\*GenBank: base de datos en línea, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>