

## **CARACTERIZACION DE SITIOS CON DISTINTO MANEJO AGRICOLA MEDIANTE ANALISIS DE NEMATODOS Y LIPIDOS DEL SUELO**

Varela C.P.<sup>1</sup>, M.F. Achinelly <sup>2</sup>, A.E. Ferrari <sup>1\*</sup>, L.G. Wall <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidad Nacional de Quilmes, Laboratorio de Biología del Suelo, R. Sáenz Peña 352 (B1876BXD) Bernal, Provincia de Buenos Aires.

<sup>2</sup> Centro de Estudios Parasitológicos y de Vectores (CEPAVE), Universidad Nacional de La Plata.

\*Pilar 180 (1846) Adrogué, Provincia de Buenos Aires; alejandroferrari@gmail.com

### **RESUMEN**

Los indicadores biológicos de calidad del suelo son considerados los que responden más rápidamente a los cambios en el uso de la tierra. En este trabajo, caracterizaremos manejos agrícolas en siembra directa, en la región pampeana, utilizando dos tipos de indicadores biológicos: las comunidades de nematodos y el perfil de lípidos totales del suelo. Se comparó el manejo tradicional de rotaciones soja-maíz de baja diversidad (con predominio de soja) y barbecho invernal; con un manejo intensificado basado en rotaciones intensas de cultivos de verano (maíz, soja, sorgo) y cultivos de cobertura invernal (trigo, vicia, arveja). Los suelos de la rotación intensiva tuvieron mayor riqueza y diversidad de nematodos, mayor abundancia de nematodos predadores (indicadores de suelos poco disturbados) y resultaron más equilibrados en cuanto a los diferentes grupos tróficos de nematodos. El perfil de lípidos del suelo mostró que la rotación intensificada se pareció más a las pasturas, o sea a sitios de bajo disturbio agrícola, y tuvieron concentraciones más elevadas de los marcadores lipídicos de hongos de micorrizas arbusculares. Los perfiles de lípidos y nematodos son biomarcadores funcionales diferentes, ya que los nematodos registran la situación actual del suelo durante el muestreo, mientras que los lípidos extraídos retienen memoria de eventos ocurridos en los últimos tres años de manejo agrícola. Las dos herramientas se mostraron muy efectivas para distinguir entre suelos con manejos agrícolas parecidos, siendo herramientas complementarias para la caracterización de estos suelos.

**Palabras clave:** bioindicadores, calidad del suelo, manejo agrícola

### **INTRODUCCIÓN**

Los agroecosistemas sufren perturbaciones periódicas como la labranza, el uso de fertilizantes y la aplicación de plaguicidas, alterando la estructura microbiana del suelo. Los cambios en la calidad del suelo pueden monitorearse mediante el uso de indicadores de calidad apropiados. Tradicionalmente se emplearon indicadores físicos y químicos, pero se ha demostrado que los indicadores biológicos brindan una respuesta más rápida a los cambios en el uso del suelo. Entre los indicadores biológicos, los nematodos y los microorganismos del suelo son particularmente sensibles a las perturbaciones antrópicas, estos últimos pueden medirse mediante el análisis de lípidos del suelo, como componentes de toda célula viva.

Los nematodos edáficos ocupan diferentes eslabones funcionales en la red trófica y se clasifican en cinco grupos tróficos: bacteriófagos, fungívoros, omnívoros, predadores y fitófagos. Entre ellos los bacteriófagos y fungívoros, presentan ciclos de vida relativamente cortos, lo cual les permite responder rápidamente a cambios del ambiente. Los lípidos están ampliamente distribuidos en toda célula viva, cumpliendo funciones de almacenamiento de energía y como componente principal de la membrana celular, la técnica WSFA (*whole soil fatty acids*) permite extraer y analizar tanto lípidos celulares como aquellos que se encuentran libres y protegidos de la descomposición por la materia orgánica del suelo (Ferrari et al., 2018), es un método rápido, económico y sensible para estudios de caracterización de las comunidades microbianas del suelo. El objeti-



vo general del trabajo es la evaluación conjunta de dos comunidades de suelo consideradas bioindicadoras de los procesos edáficos (lípidos microbianos y nematodos) en agroecosistemas con diferentes tipos de agricultura, en una zona agrícola de alta productividad de la región pampeana.

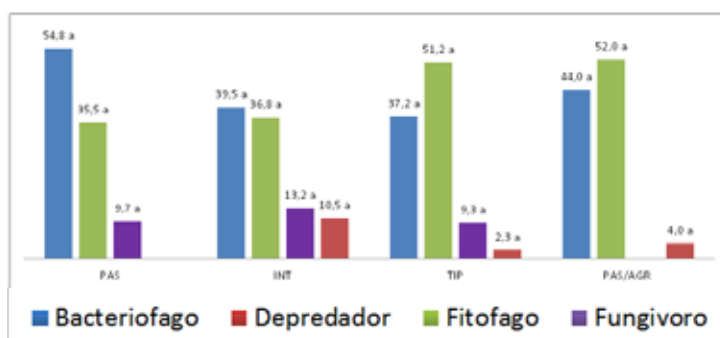
## MATERIALES Y MÉTODOS

En abril de 2019 se tomaron muestras de suelo en el campo San Nicolás (provincia de Santa Fe), por quintuplicado y en el perfil 0-5 cm, como parte del proyecto Chacras Pergamino (Rodríguez et al 2020). La parcela se dividió en 4 subparcelas con distintos tratamientos agrícolas: 1) Rotación típica (TIP): sistema agrícola que históricamente predominó en la región pampeana. Es una rotación donde se alternan en verano soja y maíz y en invierno el campo es dejado en barbecho o con ocasional siembra de trigo; 2) Rotación intensificada (INT): sistema agrícola con mayor variedad de cultivos y sin barbecho, considerada hoy en día como una práctica agraria más sustentable. Consiste en rotaciones soja-maíz incluyendo cultivos de cobertura invernales como trigo, vicia, cebada, arveja o avena. 3) Pastura (PAS): pastura mixta de gramíneas y leguminosas, sin historia agrícola destinada a la alimentación de ganado. 4) Conversión de pastura a agricultura (PAS/AGR): pastura sin historia agrícola convertida en rotación intensificada en 2016. El análisis de lípidos totales por la técnica WSFA fue realizado por una adaptación (Ferrari et al 2018) de la técnica original para identificación de cultivos microbianos. Los ácidos grasos fueron clasificados en distintas familias taxonómicas: bacterias Gram-positivas (GRAMPOS), bacterias Gram-negativas (GRAMNEG), actinomicetes (ACT), hongos saprófitos (HON) y hongos de micorrizas arbusculares (HMA) Para el aislamiento de nematodos se utilizó la técnica tradicional de centrifugación del suelo en sacarosa (Salas 2019). Los nematodos obtenidos se identificaron morfológicamente a nivel de género bajo microscopio estereoscópico y óptico. La determinación taxonómica se realizó bajo la utilización de la clave de Chaves et al., (2019).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Nematodos

Los grupos bacteriófagos y fitófagos fueron los grupos dominantes en los 4 tratamientos, con más del 35% para cada uno. Solo el sitio INT mostró un elevado recuento de nematodos depredadores, aunque no se encontraron diferencias significativas por el test Kruskal-Wallis ( $p > 0,05$ ). El suelo INT presentó mayor abundancia de depredadores que la rotación TIP, sugiriendo un suelo más estable y menos disturbado. La rotación TIP tuvo mayor abundancia de nematodos bacteriófagos que la rotación INT, sugiriendo también un suelo más disturbado, enriquecido.



Los nematodos encontrados pertenecieron a las clase colonizador-persistente (ver tabla de abundancias relativas), siendo los valores mas altos indicadores de presencia de nematodos más sensibles a la presencia de disturbios ambientales (exceso de fertilizantes, plaguicidas, contaminantes). El sitio INT tuvo el menor porcentaje del grupo cp1 y el sitio TIP tuvo el 95% de sus nematodos repartidos entre los grupos cp1 y cp2. El tratamiento INT tuvo el mayor porcentaje de nematodos del grupo cp4. La escala de colonizadores-persistentes muestra una clara dominancia (>65% de abundancia relativa) de los tipos c-p1 (colonizadores, asociados a suelos disturbados) en PAS y PAS/AGR, mientras que la rotación INT mostró una distribución más uniforme de los 4 grupos c-p y con una elevada proporción de los c-p4 (indicadores de suelos estables). El tratamiento menos uniforme fue PAS/AGR, con más del 90% de abundancia del grupo c-p1, lo que habla de



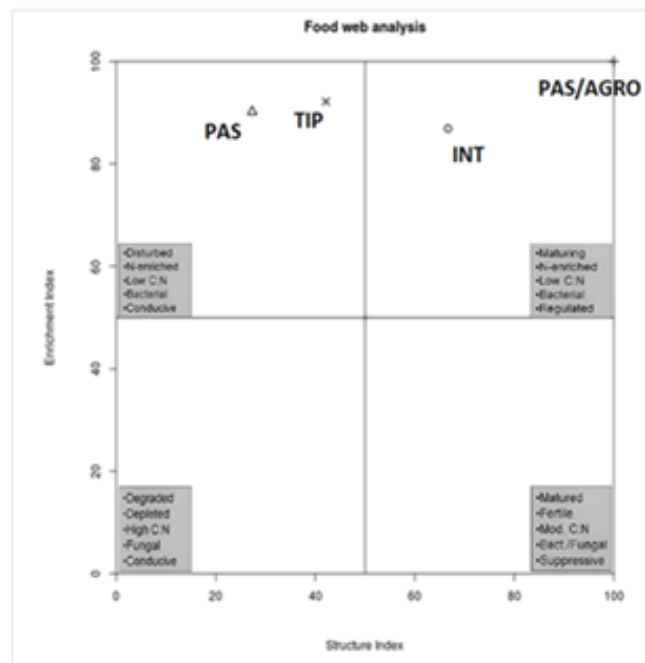
un disturbio del suelo más reciente (conversión de pasturas a agricultura en 2016).

SITIOS	Cp 1	Cp 2	Cp3	Cp4
PAS	65%	30%	5%	0
INT	50%	33%	0	16%
TIP	71%	24%	0	5%
PAS/AGR	92%	0	0	8%

El tratamiento INT tuvo mayor riqueza y diversidad de nematodos que el tratamiento TIP, como se observa en la tabla, y no hubo diferencias en el índice de equitatividad, demostrando que la rotación intensiva presenta una comunidad de nematodos más diversa.

SITIOS	Riqueza (S)	H Shannon- Weaver	Equitatividad (E)
PAS	10,0 b	2,0 bc	0,96 a
INT	11,3 c	2,25 c	0,89 a
TIP	10,0 b	1,90 b	0,82 a
PAS/AGR	4,1 a	1,39 a	0,87 a

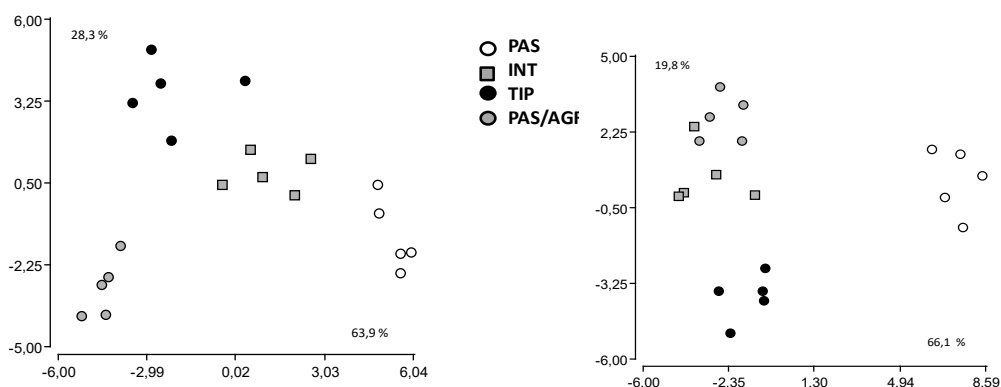
El análisis de la red alimentaria según ... muestra datos de los índices de enriquecimiento y estructura, los tratamientos INT y PAS/AGR se ubicaron en el segundo cuadrante, lo que sugiere un suelo más estabilizado que los tratamientos PAS y TIP (primer cuadrante).



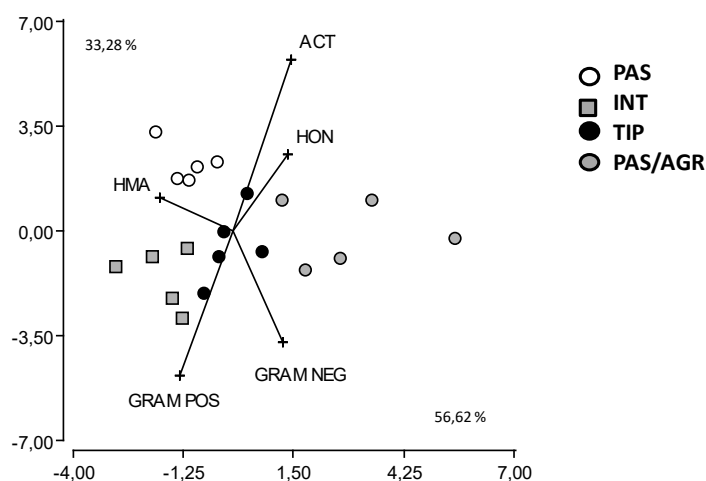
### Lípidos

El análisis discriminante basado en el perfil de lípidos individuales (izquierda) y lípidos relevantes (derecha), lípidos con mayor contribución a los ejes discriminantes, muestra una separación de los 4 tratamientos.





Se observa una clara separación de la pastura permanente (PAS) y la pastura convertida (PAS/AGR) respecto de los suelos con agricultura continua. La discriminación entre PAS y PAS/AGR, dos sitios con idéntica historia de pasturas, demuestra que esos sitios se separaron por la presencia de un cultivo en pie en el caso de PAS/AGR. Tres años después del cambio de manejo, los tratamientos INT y PAS/AGR continuaron levemente separados entre sí, a pesar de tener el mismo cultivo al momento del muestreo. A pesar de que las diferencias entre los dos tratamientos agrícolas INT y TIP son sutiles (ambos son suelos en siembra directa con rotación de cultivos), el perfil de lípidos permitió separar ambos tratamientos cuando se aplicaron métodos multivariados. El análisis discriminante basado en lípidos individuales muestra a los sitios INT en una posición intermedia entre PAS y PAS/AGR, mientras que el análisis basado en los lípidos relevantes muestra a INT asociado a PAS/AGR. En cambio, el análisis discriminante basados en lípidos clasificados en grupos taxonómicos muestra al tratamiento INT asociado a la pastura permanente (figura). Es notable que ningún análisis multivariado mostró una asociación de la rotación INT con la rotación TIP, discriminándose entre sí claramente. La asociación de INT con la pastura demuestra que esta rotación presenta comunidades microbiana más parecidas a un ambiente natural, o de bajo disturbio. Se observa que el marcador de micorrizas arbusculares (16:1w5c) se relacionó con los sitios PAS e INT.



Los resultados del ANOVA muestran diferencias significativas para los ácidos grasos 16:1w5c y 18:3w6c, y para el grupo de bacterias Gram-negativas, siempre con valores más elevados en INT que en TIP. El ácido graso 16:1w5c es un indicador de micorrizas arbusculares, que contribuyen a la nutrición mineral de las plantas y su presencia indica suelos no perturbados en cuanto a los componentes subterráneos. Tradicionalmente se las encuentran en suelos prístinos o de bajo disturbio, como bosques, pastizales y pasturas. La relación hongos/bacterias fue menor en los sitios agrícolas (TIP e INT) que en los suelos con pastura o historia de pastura (PAS y PAS/AGR), aunque la diferencia fue significativa solo entre INT y PAS. Se ha citado que la relación hongo/bacteria es más elevada en pastizales no disturbados y en sistemas agrícolas bajo siembra directa y en los casos de agregado de enmiendas orgánicas (Borjesson et al 2012). Existen reportes de que los suelos prístinos y poco disturbados tienen mayor presencia de hongos que de bacterias. El ácido graso



18:3w6c se considera en general como un marcador de origen vegetal, podría estar relacionado con el ingreso de materia vegetal al suelo vía hojarasca y residuos de la cosecha (rastraje). En este sentido, su concentración fue más baja en TIP, ya que se caracteriza por inviernos en barbecho (campo desnudo); en cambio en los tratamientos INT, PAS y PAS/AGR el terreno está siempre cubierto. Los ácidos grasos 18:1w9c y 18:2w6c son de origen fúngico (Ruess y Chamberlain 2010), y tuvieron valores elevados en PAS y en la transición PAS/AGR, aunque la diferencia fue significativa solo en este último tratamiento. Los ácidos grasos 20:1w7c, 20:1w9c y 20:4w6c, indicadores de nematodos (Ruess et al 2007), no mostraron diferencias entre los tratamientos. Esto podría deberse a que, por las características del proyecto, las muestras de suelo se extrajeron del perfil superficial (0 a 5 cm), que no es el más apropiado para la extracción de nematodos, que requieren mayor profundidad. En general, tanto los marcadores de bacterias como de hongos saprofitos fueron más elevados en PAS/AGR, sin embargo la relación hongos/bacterias fue significativamente más alta en PAS y en PAS/AGR, es decir en los sitios con pastura o historia de pastura.

## CONCLUSIONES

Este trabajo constituye la primera caracterización de suelos agrícolas de la región pampeana, y de sus cambios de manejo agrícola, mediante la utilización conjunta de dos conocidos indicadores de calidad del suelo: el perfil de lípidos y los nematodos. En este sentido se esperaba una situación diferente en cuanto a ambos indicadores, ya que el análisis de nematodos refleja la situación actual del suelo, mientras que los lípidos totales conservan la "memoria" de eventos pasados, o sea de la historia de uso del campo. Los dos métodos basados en indicadores biológicos fueron capaces de distinguir los distintos manejos agrícolas en la campo San Nicolás, así como el cambio de manejo a los tres años. En conclusión, los dos indicadores biológicos y bioquímicos utilizados demostraron ser eficientes y complementarios para caracterizar suelos con distinto tipo de manejo agrícola y distinta historia de uso, como una herramienta de muy buen potencial para estudios futuros.

## BIBLIOGRAFÍA

- Börjesson, G; L Menichetti; H Kirchmann & T Kätterer. 2012. Soil microbial community structure affected by 53 years of nitrogen fertilization and different organic amendments. *Biol Fertil Soils*, 48, 245-257.
- Chávez, E, MM Echeverría; H Merlo Álvarez & A Salas. 2019. Clave para determinar géneros de nematodos del suelo de la Republica Argentina
- Chen, J.; H Ferris; M Scow & KJ Graham. 2001. Fatty acid composition and dynamics of selected fungal-feeding nematodes and fungi. *Comp Biochem Physiol B* 130: 135-144.
- Ferrari, AE; S Ravnskov & LG Wall. 2018. Crop rotation in no-till soils modifies the fatty acid signature. *Soil Use Manage* 34: 427-436
- Rodríguez, MP; A Dominguez; M Moreira Ferroni; LG Wall & JC Bedano. 2020. The diversification and intensification of crop rotations under no-till promote earthworm abundance and biomass. *Agronomy*, 10, doi:10.3390/agronomy10070919
- Ruess, L & PM Chamberlain. 2010. The fat that matters: Soil food web analysis using fatty acids and their carbon stable isotope signature. *Soil Biol Biochem* 42: 1898-1910.
- Ruess, L.; K Schutz; S Migge-Kleian; MM Haggblom; E Kandeler & S Scheu. 2007. Lipid composition of Collembola and their food resources in deciduous forest stands – Implications for feeding strategies. *Soil Biol Biochem* 39: 1990-2000
- Salas, A. 2019. Estudio de la diversidad de nematodos asociados al sustrato como indicadores de la calidad del suelo en agro-ecosistemas. Trabajo de tesis doctoral, Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de La Plata.
- Sánchez-Moreno, S & M. Talavera. 2013. Los nematodos como indicadores ambientales En: *Agroecosistemas* 22(1): 50–55.

