

Cultivo de caña en Famaillá: Estudio de caso. Parte 2: Aspectos microbiológicos del suelo.

Omar Tesouro¹ / Marcos Roba¹ / Ángel Romito¹ / Enrique Fernández de Ullivarri² / Lidia Donato¹ / Otto Neiman¹ / Olga Correa³ / Micaela Tosi³ / Jimena Vogrig³ / Oksana Sydorenko³ / Marcela Montecchia³

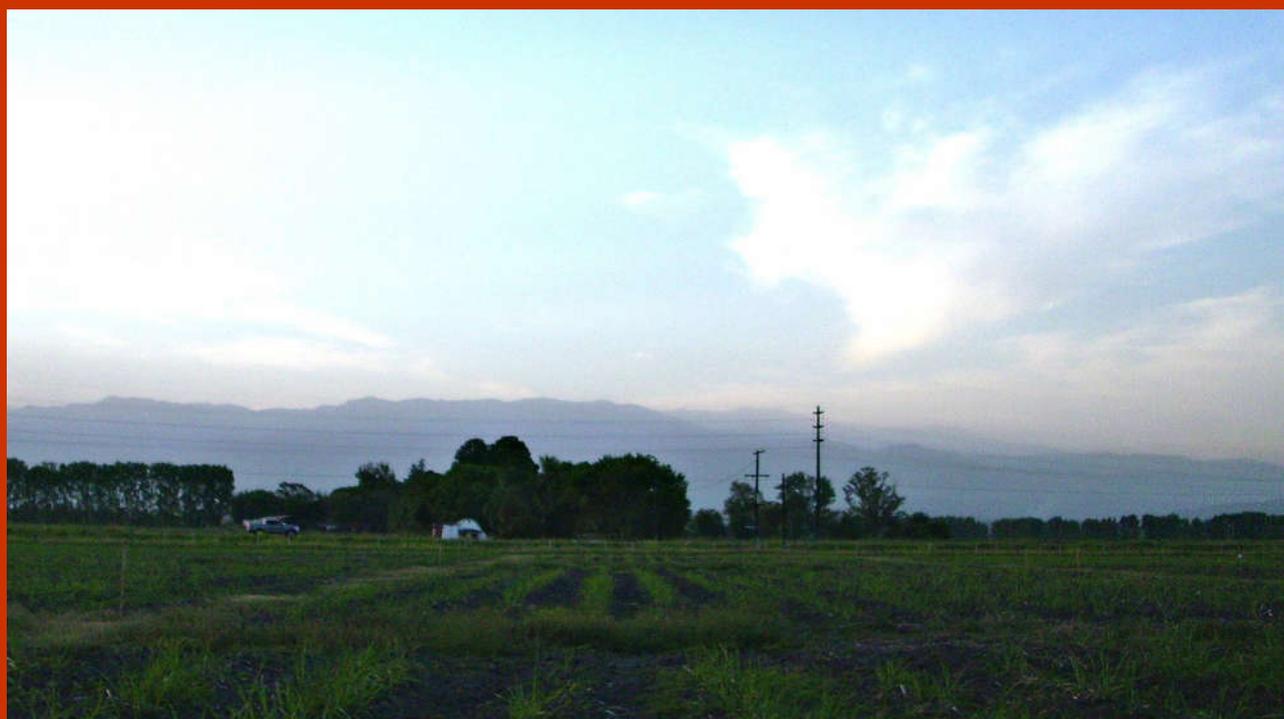
Instituto de Ingeniería Rural - CIA - CNIA - INTA Castelar

¹Laboratorio de Terramecánica e Implantación de Cultivos

²EEA Famaillá (Tucumán)

³Cátedra de Microbiología Agrícola - FAUBA

Informe Técnico N° 26
Junio 2015



Ediciones

Instituto Nacional de
Tecnología Agropecuaria



Informe Técnico Nº 26
ISSN 1852-3080
Junio 2015

Cultivo de caña en Famailá: Estudio de caso.
Parte 2: Aspectos microbiológicos del suelo.

Programa Nacional de Cultivos Industriales

Proyecto Integrador
Estrategias de manejo de sistemas productivos resilientes

Proyecto Específico
Optimización del ciclo de vida de los cultivos industriales

Módulo
Alternativas tecnológicas y optimización de los sistemas de manejo en cultivos industriales.

Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA)

Instituto de Ingeniería Rural

Editor responsable: Ing. Agr. Mario Omar Tesouro

Av. Pedro Díaz 1798
Hurlingham - Buenos Aires - Argentina
C.C. 25 B1712 JHB Castelar
Tel/fax 4665-0495

iir.cd@inta.gob.ar
www.inta.gob.ar/unidades/222000

ÍNDICE GENERAL

Resumen	2
1. Introducción	3
2. Materiales y Métodos	4
3. Resultados y Discusión	7
4. Consideraciones Finales	13
5. Bibliografía	14

Cultivo de caña en Famaillá: Estudio de caso. Parte 2: Aspectos microbiológicos del suelo.

RESUMEN

Entre los meses de junio y julio de 2013 se inició un ensayo de larga duración en la EEA Famaillá (Tucumán) a fin de probar diferentes tecnologías de cultivo en caña de azúcar. El área experimental posee suelos argiudoles ácuicos, con un prolongado historial de monocultivo de caña con el manejo tradicional de la zona.

Este estudio fue realizado con el objetivo de caracterizar diferentes aspectos de la microbiología del suelo del área experimental, en forma previa al inicio del ensayo. La evaluación precisa del punto de origen es fundamental, dado que el suelo es un sistema heterogéneo y las variables microbianas son altamente sensibles a las condiciones ambientales.

Se midió la actividad microbiana, la abundancia de microorganismos y se evaluó la actividad microbiana potencial con dos aproximaciones diferentes. El muestreo inicial en zonas no disturbadas permitió tener un primer acercamiento para entender el comportamiento de las comunidades microbianas. De acuerdo a lo presentado en este informe, es esperable que en las parcelas experimentales los estratos superficiales presenten mayor biomasa y actividad microbiana e incluso, una respuesta más rápida a los tratamientos a implementarse. Resta conocer si la composición de las comunidades también difiere en profundidad.

1. INTRODUCCIÓN

Los suelos con historial de monocultivo de caña de azúcar suelen caracterizarse como suelos de pobre estructura y de alta densidad aparente, como resultado de la combinación de las labranzas durante la época de cultivo y la compactación causada por el tránsito pesado e intensivo en el momento de la cosecha. (Bell et al., 2007; Pankhurst et al., 2003). Según Braunack et al. (2006) los efectos sobre las propiedades del suelo son acumulativos y son los brotes de las socas más viejas los más susceptibles a reducir su rendimiento.

Entre los meses de junio y julio de 2013 se inició un ensayo de larga duración en la EEA Famaillá (Tucumán) a fin de probar diferentes tecnologías de cultivo en caña de azúcar. Debido a que el suelo es un sistema heterogéneo y las variables microbianas son altamente sensibles a las condiciones ambientales resulta de primordial importancia poder evaluar de manera precisa la situación inicial en este aspecto. De acuerdo a esto, se realizaron en septiembre de 2013, análisis microbiológicos en muestras no disturbadas del campo experimental y en tres profundidades de muestreo a fin de caracterizar zonas no disturbadas, las cuales constituirán una situación de referencia al momento de interpretar los resultados del ensayo de implantación de caña de azúcar.

Los primeros resultados obtenidos corresponden a dos variables: una de ellas es la hidrólisis del diacetato de fluoresceína (HDF), estimadora de la actividad enzimática global y, por ende íntimamente ligada a la actividad microbiana. El diacetato de fluoresceína utilizado en la reacción puede actuar como sustrato de esterasas intracelulares no específicas, así como de lipasas, esterasas y proteasas extracelulares (Shaw y Burns, 2006), todas ellas enzimas involucradas en la descomposición de la materia orgánica del suelo (Nannipieri et al., 2003). La otra variable medida es el carbono de la biomasa microbiana (CBM), la cual caracteriza la abundancia de microorganismos a partir de la fracción del carbono extractable correspondiente a biomasa microbiana (Vance et al., 1987).

Los resultados más recientes corresponden a mediciones de actividad respiratoria basal (RB) y algunos resultados de actividad de la enzima deshidrogenasa (ADH), cuya determinación aún está en curso. Ambas corresponden a mediciones de actividad microbiana potencial con dos aproximaciones diferentes: la producción de dióxido de carbono y la actividad de una enzima intracelular, respectivamente. Esta última fue ensayada en presencia de glucosa y ambas variables, analizadas en conjunto, permitieron una mejor interpretación del metabolismo

microbiano en estos suelos. Asimismo, estos resultados se interpretaron contrastados con la actividad enzimática global por hidrólisis de diacetato de fluoresceína (HDF) y abundancia de microorganismos por carbono de la biomasa microbiana (CBM).

Al momento también se están realizando las extracciones de ácidos grasos de los fosfolípidos, con la cual se elaborarán perfiles de grupos microbianos, una manera de caracterizar la estructura de la comunidad microbiana. Ya fue realizado el acondicionamiento de las muestras y se ha comenzado con las extracciones de carbono para biomasa microbiana y con un ensayo de perfiles de utilización de sustratos carbonados (funcionalidad potencial).

El objetivo de este trabajo fue caracterizar la situación de base en el área experimental al inicio de un ensayo de larga duración en cultivo de caña, considerando los aspectos microbiológicos del suelo.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Las muestras fueron tomadas el 9 y 10 de septiembre de 2013 en zonas del campo experimental que no fueron disturbadas al menos desde el inicio del ensayo actual. Se tomaron siete muestras compuestas (pertenecientes a tres zonas no disturbadas) a tres profundidades: 0-10, 10-20 y 20-30 cm. Las muestras se transportaron al laboratorio en bolsas de polietileno, colocadas dentro de una caja conservadora para procurar el menor disturbio posible. Una vez llegadas al laboratorio, las muestras fueron tamizadas a 2 mm y pre-incubadas a 14°C durante 7 días, una práctica de estandarización rutinaria para ensayos de tipo microbiológico en suelos (Bloem et al., 2006), almacenadas luego a 4°C y, en cada instancia de medición, fueron sometidas a 24 horas de incubación a temperatura ambiente.

La HDF se midió utilizando una modificación del método descrito por Alef (1995). El procedimiento consistió en la incubación de muestras de suelo de 1 g con diacetato de fluoresceína (acetona en el caso de los testigos), en un medio de buffer fosfato 60 mM. Luego de incubar 3 horas a 37°C se determinó por espectrofotometría el producto final, la fluoresceína, a una longitud de onda de 490 nm. Los datos se presentaron como µg de fluoresceína por gramo de suelo seco y por hora.

El CBM se determinó con la clásica metodología de fumigación-extracción (Vance et al., 1987; ISO-standard 14240-2:1997) modificada por Figueiro Aureggi et al. (2012). Brevemente, el carbono

orgánico (CO) se extrajo con K₂SO₄ 0,5 M en muestras de 25 g de suelo, fumigadas y no fumigadas con cloroformo, cuya diferencia representa el CO microbiano liberado por la lisis de células durante la fumigación. Los extractos pasaron luego por una digestión ácida con agregado de dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇), parte del cual se reduce por la oxidación del CO, para luego determinar su remanente por titulación con sulfato ferroso amoniacal. Finalmente, el valor de CBM se obtuvo por corrección con un factor kEC=0,4, según Kaschuk et al. (2010).

Ambos análisis se realizaron trabajando por triplicado, a una humedad del 60% de la capacidad de campo, referenciando luego los valores al peso seco de cada muestra. Se calcularon medidas resumen y, para cada una de las variables medidas, se realizaron análisis de varianza con comparaciones medias de Tukey ($\alpha=0,05$), con el objetivo de evaluar el efecto de la profundidad de muestreo. Adicionalmente, se graficaron los diferentes sitios de muestreo en función de ambas variables (CBM y HDF), de manera de poder visualizar si existía algún patrón de agrupamiento por zona del campo.

La respiración basal se midió como producción de dióxido de carbono (CO₂) según el método de Isermeyer (1972) (Alef, 1995), modificado para la norma ISO 1607:2002E. Esta metodología consiste en la incubación de muestras de suelo en envases herméticos con una solución de hidróxido de sodio (NaOH) que captura el CO₂, el cual puede ser determinado por titulación inversa con HCl, previa adición de cloruro de bario (BaCl₂) para precipitar el CO₂ en solución. El término basal se refiere a que no se incorporó ningún sustrato carbonado. Se utilizaron tres réplicas de 25 g de suelo por cada tratamiento, todas a un contenido de humedad de 60% CC. Se realizaron incubaciones de 72 horas, a 25°C y en oscuridad. Cada tanda de incubación se acompañó de cuatro muestras blanco, sin suelo, que se utilizaron para determinar, por diferencia, la cantidad de CO₂ proveniente de la respiración. Utilizando soluciones de NaOH y HCl 0,1 M, el valor de respiración para cada tratamiento resultó de:

$$RB \text{ (mg CO}_2 \text{ * gss}^{-1} \text{ * h}^{-1}) = [(V_0 - V_1) * 2,2] / [pf * pss * 72]$$

Donde: V₀ = promedio de HCl (ml) utilizado en la titulación de los tratamientos blanco, V₁ = HCl (ml) utilizado en la muestra de suelo, pf = peso fresco y pss = peso seco de un gramo de suelo húmedo. Para facilitar su interpretación, los datos se pasaron a mg CO₂ * kg⁻¹ * día⁻¹.

Relacionando los valores de respiración con los datos de carbono de la biomasa microbiana (CBM) se calculó el cociente metabólico (qCO₂) por medio de la siguiente fórmula:

$$q\text{CO}_2 \text{ (mg CO}_2 \text{ * gr}_{\text{biomasa}}^{-1} \text{ * h}^{-1}) = \text{RS * CBm}^{-1}$$

El $q\text{CO}_2$ expresa la respiración por unidad de biomasa microbiana y es considerado un indicador de la eficiencia metabólica de las comunidades del suelo y, por ende, de su nivel de estrés o del estado de madurez del ecosistema edáfico (Anderson, 2003; Bastida et al., 2008).

Para medir actividad deshidrogenasa (ADH) se utilizó el método de Thalmann (1968), con modificaciones según Ölingher (1995). El método está basado en la incubación de las muestras con un sustrato artificial específico, el cloruro de trifeniltetrazolio (TTC, de sus siglas en inglés) y la determinación colorimétrica del producto resultante de su reducción, el trifeniltetrazolio formazán (TPF). Para este ensayo se utilizaron dos muestras de 5 g de suelo por cada tratamiento, dado que se había probado la consistencia de esta determinación en ensayos preliminares y se determinó que no era necesario realizar triplicados. Brevemente, las muestras se incubaron con 5 ml de solución TTC 1% y 2 ml de solución de glucosa 1%, durante 24 h, en oscuridad y a 30°C. Al finalizar la incubación, la reacción se interrumpió con 25 ml acetona y 2 h de agitación. Finalmente, se estimó la concentración de TPF midiendo con espectrofotómetro (Ab546 nm).

Los análisis estadísticos de las variables Respiración basal y $q\text{CO}_2$ se realizaron con el software R versión 3.0.3. Se calcularon medidas resumen y, para cada una de las variables medidas, se realizaron análisis de varianza con comparaciones de medias por Tukey (alfa=0,05), con el objetivo de evaluar el efecto de la profundidad de muestreo. Se tuvo en cuenta el anidamiento para las tres zonas que seleccionamos en el muestreo (A, B y C). Adicionalmente, se graficaron los diferentes sitios de muestreo en función de ambas variables (CBM y HDF), de manera de poder visualizar si existía algún patrón de agrupamiento por zona del campo.

Tabla 1: Medidas resumen para carbono de la biomasa microbiana (CBM, en $\mu\text{g de C} \cdot \text{g}_{\text{suelo seco}}^{-1}$) y actividad enzimática global (HDF, en $\mu\text{g de fluoresceína} \cdot \text{g}_{\text{suelo seco}}^{-1} \text{ h}^{-1}$) del suelo en condiciones iniciales, a tres rangos de profundidad de muestreo.

Variable	Profundidad (cm)	Media	DE	CV (%)	Mínimo	Máximo
CBM	0-10	193,9 a	52,6	27,1	123,6	253,0
	10-20	126,5 b	33,0	26,1	79,4	168,0
	20-30	87,7 b	37,3	42,6	40,0	135,0
HDF	0-10	135,2 a	13,5	10,0	121,6	161,2
	10-20	119,5 ab	10,2	8,5	106,4	130,5
	20-30	114,5 b	17,2	15,0	100,9	151,4

DE=desvío estándar, CV=coeficiente de variación. Letras distintas indican diferencias significativas entre distintos rangos de profundidad según test de Tukey ($\alpha=0.05$)

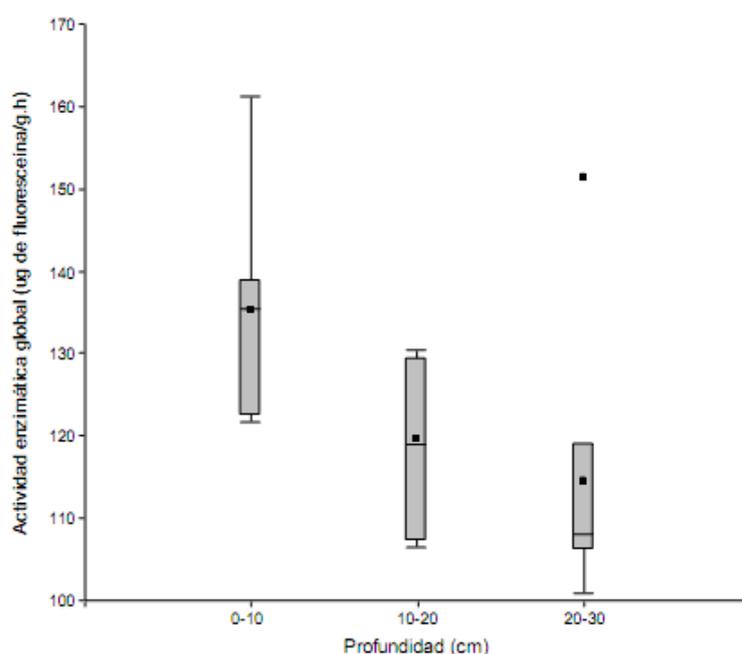


Figura 1. Box-plot de la actividad enzimática global, medida como hidrólisis de diacetato de fluoresceína (HDF), del suelo en condiciones iniciales y a tres rangos de profundidad.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La actividad enzimática global, medida como hidrólisis de diacetato de fluoresceína (HDF), presentó diferencias de acuerdo a la profundidad de muestreo (Tabla 1 y Figura 1). El estrato superior (0-10 cm) presentó una actividad significativamente mayor a la del estrato de 20-30 cm ($p=0,0317$). Todos los sitios excepto uno presentaron esta tendencia decreciente con la profundidad, tal como observaron Schnürer y Rosswall (1982). El fenómeno se fundamenta con el hecho de que los estratos superiores suelen presentar mayor contenido de materia orgánica, mayor oxigenación y, según las condiciones climáticas, mayor temperatura. La interacción con la vegetación también se considera un factor determinante de la alta actividad microbiana en los suelos rizosféricos y/o de estratos superiores, pero en este caso no sería una explicación del todo válida porque los suelos estaban casi desnudos al momento del muestreo.

El carbono de la biomasa microbiana (CBM), presentó un patrón similar al de la HDF (Tabla 1 y Figura 2), sugiriendo una mayor abundancia de microorganismos en el estrato superior (0-10 cm) ($p=0,0006$). Resultados similares, con fuertes gradientes decrecientes en profundidad, fueron encontrados por Lavahun et al. (1996) en suelos no arados. La explicación para este patrón concuerda con lo expuesto anteriormente para HDF, dado que en general se espera una mayor

multiplicación de los microorganismos si las condiciones son favorables para su actividad. Adicionalmente, se podría esperar que el efecto positivo de la temperatura y la oxigenación, sea contrarrestado por el menor contenido de humedad que encontramos en el estrato superficial (datos no presentados), y que suponemos consecuencia de una mayor evaporación. Pero, si bien no se puede aislar el efecto de cada factor ambiental, se puede afirmar que de haber existido un efecto del contenido hídrico, éste no logró que se equilibren o inviertan los niveles de actividad o biomasa entre el estrato inferior y el superior.

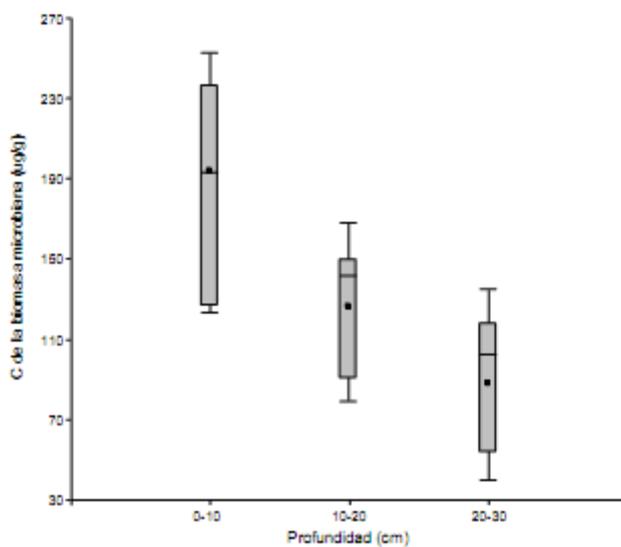


Figura 2. Box-plot del carbono de la biomasa microbiana (CBM) del suelo en condiciones iniciales y a tres rangos de profundidad de muestreo.

Es importante remarcar que no necesariamente debe esperarse la relación positiva encontrada entre las dos variables medidas: es decir, una mayor HDF no implica una mayor cantidad de organismos activos. Al momento de la interpretación de los resultados debe tenerse presente que la HDF no expresa únicamente actividad intracelular, sino también la acción de enzimas extracelulares, muchas de ellas estabilizadas en los coloides del suelo, que son capaces de mantener la capacidad hidrolítica.

Una herramienta para ayudar a esclarecer esta situación la constituyen las determinaciones de actividad intracelular, como las que se están midiendo actualmente para estos suelos.

Con el objetivo de analizar la relación entre las dos variables, se calculó el cociente entre la HDF y el CBM, aunque no permitiera más que una interpretación somera de la situación. Se encontró que en los dos primeros estratos el cociente exhibió valores más bajos, es decir, menor actividad por biomasa, mientras que a 20-30 cm los valores fueron más altos y mucho más variables (Figura

3). De esto se podría inferir que hacia la superficie, la mayor actividad enzimática podría responder a la presencia de un mayor número de microorganismos, mientras que en estratos inferiores su magnitud parece ser menos dependiente de este factor.

Dado que se encontró una variabilidad considerable dentro de cada estrato de muestreo (Tabla 1, Figuras 1 y 2), se decidió también graficar, para cada uno de ellos, los distintos sitios en función de ambas variables, identificándolos según su zona dentro del campo experimental. En este procedimiento se encontró que los sitios no se agruparon de acuerdo a las zonas muestreadas (datos no presentados), lo que sugiere que no existe un patrón espacial concreto en el comportamiento de las comunidades, al menos según estas dos variables.

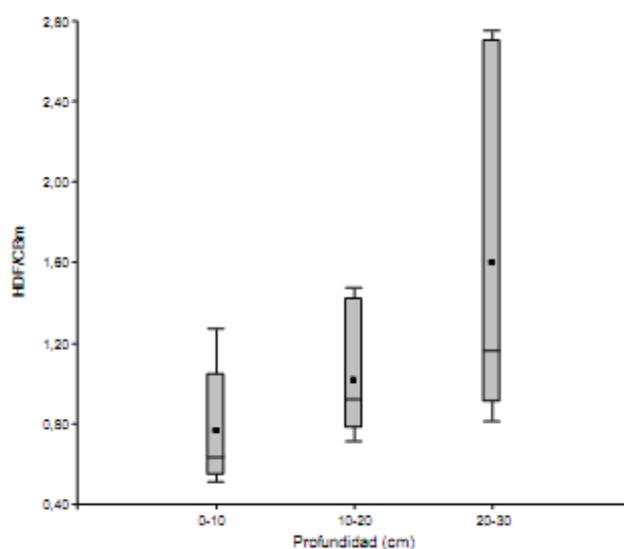


Figura 3: Box-plot de la relación entre hidrólisis de diacetato de fluoresceína (HDF) y carbono de la biomasa microbiana (CBM) del suelo en condiciones iniciales y a tres rangos de profundidad de muestreo.

Conocer a priori las diferencias entre distintos estratos de profundidad y la variabilidad dentro del campo experimental facilitará el análisis de resultados posteriores, en los que entrará en juego el efecto de los tratamientos. Es fundamental tener en cuenta que el suelo es un sistema heterogéneo y que las variables microbianas son altamente sensibles a las condiciones ambientales (Nannipieri et al., 2003), las cuales fluctuarán significativamente a lo largo de las estaciones, dado el clima de la zona. Esta variación intra-anual puede interactuar con la profundidad de muestreo, siendo esperable una mayor fluctuación de las condiciones ambientales en los estratos más superficiales. No obstante, los cambios en los distintos estratos no necesariamente imprimirán alteraciones diferenciales sobre el comportamiento de las comunidades microbianas, tal como encontraron Blume et al. (2002).

En todos los sitios el estrato superior (0-10 cm) presentó una actividad respiratoria basal significativamente mayor a la de los estratos 10-20 y 20-30 cm (Figura 4). Una mayor actividad probablemente esté explicada por una mayor abundancia de microorganismos en el estrato superior y/o una mayor disponibilidad de nutrientes y fuentes carbonadas. En este caso, la biomasa microbiana tuvo un aporte importante sobre la actividad medida, dado que al calcular el cociente microbiano (qCO_2) encontramos que éste no presentaba diferencias en profundidad. En otras palabras, la respiración específica o por unidad de biomasa fue similar en todas las profundidades.

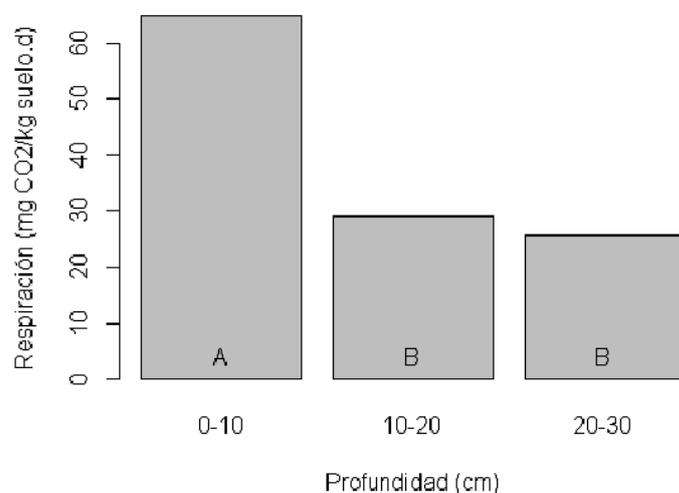


Figura 4. Actividad respiratoria basal (RB) del suelo en condiciones iniciales y a tres rangos de profundidad de muestreo (0-10, 10-20 y 20-30 cm). Letras distintas indican diferencias significativas.

En las muestras procesadas hasta el momento, la actividad deshidrogenasa también mostró un patrón decreciente con la profundidad, con un gradiente bien claro (Figura 5). Dado que el ensayo se hizo con agregado de glucosa, se puede observar que se mantuvo el gradiente en la actividad aún en una condición sin limitación de sustrato. Este resultado sugiere que el gradiente de actividad microbiana en profundidad no se explica por una menor abundancia de sustrato. De hecho, el carbono lábil estimado a partir del extracto de las muestras no fumigadas en el ensayo de carbono de la biomasa microbiana no mostró un patrón en profundidad.

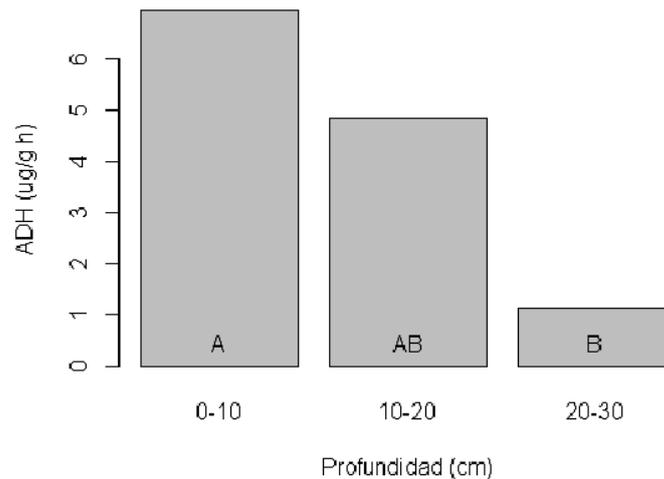


Figura 5. Actividad deshidrogenasa (ADH) del suelo en condiciones iniciales y a tres rangos de profundidad de muestreo (0-10, 10-20 y 20-30 cm). Letras distintas indican diferencias significativas.

Los resultados de este estudio preliminar muestran patrones en profundidad ya reportados por otros autores (e.g.: Lavahun et al., 1996). Fang y Moncrieff (2005) realizaron un estudio de la dinámica del carbono y la actividad microbiana en profundidad. Encontraron una disminución de la tasa respiratoria y de los pools de carbono a mayor profundidad, y la distribución relativa de estas variables en el perfil fue similar entre los distintos sitios analizados. El cociente metabólico no mostró ningún patrón en profundidad pero la actividad por unidad de carbono disuelto fue significativamente mayor en los primeros centímetros. Un estudio similar en suelos agrícolas de Venezuela encontraron diferencias de respiración y biomasa entre 0-10 cm y profundidades mayores a 10 cm (Cañizales-Paredes et al., 2012). Los beneficios de los estratos superficiales para el crecimiento de microorganismos se explican por factores ampliamente conocidos y debatidos: principalmente, un mayor contenido de materia orgánica, mayor oxigenación y, según las condiciones climáticas, mayor temperatura. La interacción con la vegetación también se considera un factor determinante de la alta actividad microbiana en los suelos rizosféricos y/o de estratos superiores, aunque los sitios no disturbados presentaban una cobertura vegetal muy pobre al momento del muestreo.

En cuanto a la variabilidad espacial, se encontró que la actividad no fue homogénea entre zonas. La zona A presentó mayor qCO_2 que la zona C, y mayor respiración basal que las otras dos zonas. La actividad enzimática global, presentada en el informe anterior, también fue superior en la zona A.

Es interesante que la actividad deshidrogenasa, sin agregado de sustrato, no presentara diferencias entre zonas. Esto sugiere que las diferencias podrían tener que ver con una mayor disponibilidad de fuentes carbonadas (y probablemente mayor materia orgánica) en la zona A. Dada la coincidencia entre las zonas no disturbadas del ensayo y los bloques del diseño experimental, se podrá controlar esas diferencias en futuros análisis estadísticos. Quizás las diferencias observadas se deban a las que motivaron el bloqueo en el campo.

La importancia de este ensayo preliminar, en el que se explora el comportamiento de las comunidades microbianas en profundidad y en tres zonas diferentes, reside en el hecho de crear un punto de referencia para la interpretación de los resultados del ensayo de labranzas. Es importante tener en cuenta esta dinámica dado que el suelo es un sistema heterogéneo, con variaciones en profundidad y en superficie, al cual los microorganismos responden sensiblemente, alterando su abundancia, composición y actividad (Nannipieri et al., 2003). Se ha reportado, por ejemplo, que la profundidad a la que el CO₂ es producido (producto de la respiración microbiana) puede variar entre sitios y entre estaciones del año dentro de un sitio (Davidson et al., 2008). Otros autores encontraron que los cambios de estaciones alteraron significativamente la actividad de las comunidades microbianas de estratos superficiales pero no de estratos más profundos, aún cuando la biomasa no se afectó en ninguno de los dos (Blume et al., 2002).

4. CONSIDERACIONES FINALES

Se ha conseguido tener un panorama general de las condiciones iniciales de las comunidades microbianas del suelo del campo experimental. Se ha corroborado la existencia de diferencias en la profundidad de muestreo, que serán tenidas en cuenta a futuro, a la hora de evaluar los tratamientos puestos a prueba en el ensayo.

El estrato superficial mostró una mayor capacidad hidrolítica global, probablemente ligada a la mayor abundancia de microorganismos que alberga. Esto se condice con lo discutido en la bibliografía, sobre las condiciones favorables que presentan los primeros centímetros del suelo para promoción del crecimiento y desarrollo microbianos. Los datos de las variables HFD y CBM, presentaron variabilidad dentro del campo experimental, como es esperable en variables sensibles como son las biológicas. No obstante, no se halló ningún patrón espacial evidente, que pueda interferir en la interpretación de resultados futuros.

El muestreo inicial en zonas no disturbadas permitió tener un primer acercamiento para entender el comportamiento de las comunidades microbianas en el lugar de implementación del ensayo. De acuerdo a lo presentado en este informe, es esperable que en las parcelas experimentales los estratos superficiales presenten mayor biomasa y actividad microbiana, e incluso quizás una respuesta más rápida a los tratamientos a implementarse. Resta analizar los perfiles de ácidos grasos de los fosfolípidos, a fin de conocer si la composición de las comunidades también difiere en profundidad.

5. BIBLIOGRAFÍA

Alef, K. 1995. Estimation of the hydrolysis of fluorescein diacetate. En: Alef, K.; Nannipieri, P. (Eds.). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press. Pp. 232-234.

Alef, K. 1995. Soil respiration. En: Alef, K.; Nannipieri, P. (Eds.). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press. Pp. 214-216.

Anderson, T. H. 2003. Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agric. Ecosys. Environ.* 98: 285–293.

Bastida, F.; A. Zsolnay; T. Hernández and C. García. 2008. Past, present and future of soil quality indices: A biological perspective. *Geoderma* 147: 159-171.

Bell, M.J.; G.R. Stirling and C.E. Pankhurst. 2007. Management impacts on health of soils supporting Australian grain and sugarcane industries. *Soil & Tillage Research* 97: 256–271.

Bloem, J.; A.J. Schouten; S.J. Sørensen; M. Rutgers; A. van der Werf and A.M. Breure. 2006. Monitoring and evaluating soil quality. En: Bloem, J.; Hopkins, D.W.; Benedetti, A. (Eds.). *Microbiological methods for assessing soil quality*. CAB international. Pp. 73-77.

Blume, E.; M. Bischoff; J.M. Reichert; T. Moorman; A. Konopka and R.F. Turco. 2002. Surface and subsurface microbial biomass, community structure and metabolic activity as a function of soil depth and season. *Appl. Soil Ecol.* 20 (3): 171-181.

Braunack, M.V.; J. Arvidson and I. Håkansson. 2006. Effect of harvest traffic position on soil conditions and sugarcane (*Saccharum officinarum*) response to environmental conditions in Queensland, Australia. *Soil & Tillage Research* 89: 103-121

Cañizales-Paredes, N.; A. Tolón-Becerra; X.B. Lastra-Bravo and F.M. Ruiz-Dager. 2012. Evaluation of the Effects of Soil Depth on Microbial Activity in Three Agroecosystems in Venezuela. *Com. Soil Sci. Plant Analysis* (43): 1273-1290.

Davidson, E.A.; E. Belk and R.D. Boone. 1998. Soil water content and temperature as independent or confounded factors controlling soil respiration in a temperate mixed hardwood forest. *Global Change Biology* 4(2): 217-227.

Fang, C. and J.B. Moncrieff. 2005. The variation of soil microbial respiration with depth in relation to soil carbon composition. *Plant and Soil* 268: 243-253.

Figueiro Aureggi, S.A.; D.J. Cosentino y M.A. Taboada. 2012. Actividad microbiológica asociada a la estabilidad estructural en un suelo Argiudol. XIX Congreso Latinoamericano y XXIII CACS. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina. 16 al 20 de abril de 2012.

Kaschuk, G.; O, Alberton and M. Hungria. 2010. Three decades of soil microbial biomass studies in Brazilian ecosystems: Lessons learned about soil quality and indications for improving sustainability. *Soil Biol. & Biochem.* 42: 1–13.

Lavahun, M.F.E.; R.G. Joergensen and B Meyer. 1996. Activity and biomass of soil microorganisms at different depths. *Biol. Fert. Soils* 23 (1): 38-42.

Nannipieri, P.; J. Ascher; M.T. Ceccherino; L. Landi; G. Pietramellara and G. Renella. 2003. Microbial diversity and soil functions. *Eur. J. Soil Sci.* 54 (4): 655-670.

Ölingher, R. 1995. Dehydrogenase activity with the Substrate TTC. En: Schinner, F.; Ohlinger, R.; Kandeler, E.; Margesin, R. *Methods in soil biology.* Springer-Verlag.

Pankhurst, C.E.; R.C. Magarey; G.R. Stirling; B.L. Blair; M.J. Bell and A.L. Garside. 2003. Management practices to improve soil health and reduce the effects of detrimental soil biota associated with yield decline of sugarcane in Queensland, Australia. *Soil & Till. Res.* 72: 125-137.

Schnürer, J. and T. Rosswall. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Appl. Environ. Microbiol.* 43: 1256-1261.

Shaw, L.J. and S.D. Burns. 2006. Enzyme activity profiles and soil quality. En: Bloem, J.; Hopkins, D.W.; Benedetti, A. (Eds.). *Microbiological methods for assessing soil quality.* CAB international, 2006.

Thalman, A. 1968. Zur Methodik der Bestimmung der Dehydrogenaseaktivität im Boden mittels Triphenyltetrazoliumchlorid (TTC). *Landwirtsch Forsch* 21: 249-258.

Vance, E.D.; P.C. Brookes and D.S. Jenkinson. 1987. An extraction method for measuring microbial biomass C. *Soil Biol. Biochem.* 19: 703-707.

La presente publicación integra una serie de Informes Técnicos editada por el Laboratorio de Terramecánica e Implantación de Cultivos del Instituto de Ingeniería Rural. Estos informes tienen como finalidad poner a disposición de los profesionales oficiales y privados, la información generada en los trabajos de investigación llevados a cabo por el mismo.



Ministerio de Agricultura,
Ganadería y Pesca
Presidencia de la Nación