

FSIS.92



XXVI
Congreso Argentino
de la Ciencia del Suelo
Suelo: legado social de estacion avanzada
Tucumán 2018

C2P6. COMPOSICION Y ABUNDANCIA DE POBLACIONES FUNGICAS Y BACTERIANAS Y SUS ACTIVIDADES: RESPUESTA AL MANEJO AGROECOLOGICO

Chavarría, Diego N. ¹; Pérez Brandan, Carolina ²; Serri, Danae L. ¹; Meriles, José M. ³; Restovich, Silvina B. ⁴; Andriulo, Adrian E. ⁴; Jacquelin, Luis ⁴ y Vargas Gil, Silvina ¹

1 CONICET-Instituto de Patología Vegetal (IPAVE-CIAP, INTA) Camino 60 cuadras, Km 5,5, Córdoba, Argentina.

2 INTA EEA Salta, Ruta Nacional 68 km. 172 C.P. 4403 Cerrillos, Salta, Argentina.

3 CONICET-Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV – UNC); Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (F.C.E.Fy Nat – UNC), Av. Vélez Sarsfield 1611, Córdoba, Argentina.

4 INTA-EEA Pergamino, Av. Frondizi (Ruta 32), Km 4.5, 2700 Buenos Aires, Argentina.

chavarría.diego@inta.gob.ar

RESUMEN

La agroecología propone la autorregulación para lograr un equilibrio agrícola sustentable. Por lo tanto, considerando la rápida respuesta de las comunidades microbianas ante los pequeños cambios en el uso del suelo, el objetivo de este estudio fue evaluar su respuesta ante el manejo agroecológico versus convencional de la agricultura extensiva. El muestreo del suelo se llevó a cabo en 2016 y 2017 en tres tratamientos diferentes utilizando la secuencia soja/maíz (*Glycine max* L./*Zea mays* L.) como cultivo principal: Agroecológico (AE), convencional con cultivos de cobertura (CC) y convencional sin cultivos de cobertura (control). Las especies utilizadas como cultivos de cobertura fueron trigo (*Triticum aestivum*), vicia (*Vicia sativa* L.), avena (*Avena sativa* L.) y nabo forrajero (*Raphanus sativus* L.). El tratamiento CC mostró el mayor valor de hidrólisis de fluoresceína de diacetato, con valores 63,2% y 12,1% mayores que AE y el control, respectivamente. Sin embargo, el tratamiento AE registró la mayor relación hongo:bacteria (44,8) y el cociente metabólico más bajo (1,14), lo que indica una mejora en la eficiencia metabólica y la calidad del suelo. No se registraron diferencias significativas en la abundancia de las comunidades fúngicas y bacterianas entre los tratamientos. Los resultados sugieren que el manejo agroecológico se caracterizó por el predominio de los hongos del suelo y una mayor eficiencia metabólica microbiana en comparación con el manejo convencional. Se evidenció un uso más eficiente de los sustratos de carbono en los sistemas agroecológicos, lo que podría contrarrestar el efecto negativo de la falta de fertilización sintética y la labranza reducida en el largo plazo. Este trabajo demuestra que las herramientas agrícolas sustentables con un manejo adecuado se pueden utilizar efectivamente para preservar la calidad del suelo.

Palabras clave: Agroecología; sustentabilidad; eficiencia metabólica – *Enfoque metodológico de campo y laboratorio*

INTRODUCCIÓN

El crecimiento de la población mundial ha generado un aumento en la demanda de recursos impuestos a los sistemas agrícolas, generando un mayor uso global de los recursos naturales y una disminución significativa en los servicios ecosistémicos (Gianinazzi et al., 2010). Como consecuencia, los monocultivos y el mayor uso de insumos sintéticos, como fertilizantes químicos y pesticidas, han reducido la fertilidad del suelo (Foley et al., 2005). En contraposición, la agroecología representa una base científica, metodológica y tecnológica para una nueva "revolución agraria" en todo el mundo (Ferguson y Morales, 2010), ya que los sistemas de producción agroecológicos son resilientes, energéticamente eficientes, biodiversos, socialmente justos y proporcionan la base para la soberanía productiva y alimentaria (Altieri et al., 2012).

Como la sostenibilidad de los sistemas agrícolas se basa en prácticas conservadoras que abarcan toda la cadena productiva dentro de un marco de uso eficiente de los recursos (Ferreira et al., 2011), los procesos microbiológicos que ocurren en el suelo constituyen la base sobre la que se sustenta la agricultura agroecológica (Faria y Franco, 2002). Esto se debe a que las comunidades microbianas del suelo desempeñan un papel fundamental en el ciclo de nutrientes y la descomposición de la materia orgánica y, considerando sus interacciones con los cultivos, el estudio de la microbiología proporciona un medio preciso para analizar diferentes sistemas de manejo agrícola (Burton et al., 2010). Por lo tanto, la capacidad de las comunidades microbianas para responder rápidamente a los cambios en el uso de la tierra (Singh et al., 2015) puede emplearse para comparar los efectos del manejo agroecológico con el manejo convencional.

El objetivo de este estudio es comparar la respuesta de la estructura y funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo en un sistema agroecológico y un sistema agrícola convencional que incluye una mezcla de cultivos de cobertura. Se propone como hipótesis que la agricultura agroecológica genera una modificación en la estructura y



funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo, lo que está relacionado con una mayor eficiencia metabólica microbiana.

MATERIALES Y MÉTODOS

Experimento a campo

El estudio se llevó a cabo en la Estación Experimental Pergamino del Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) (33 ° 51'S, 60 ° 40'O), provincia de Buenos Aires, Argentina, en 2016 y 2017. Se evaluaron dos ensayos de larga duración, un ensayo agroecológico y un ensayo convencional. Aunque ambos ensayos estuvieron físicamente separados entre sí para garantizar que el tratamiento agroecológico no estuviera expuesto al contacto de agroquímicos, se consideraron como un único ensayo para el diseño estadístico y el análisis de datos. El clima en este sitio es templado húmedo, con una temperatura media anual de 16,5°C y precipitaciones que ocurren principalmente en otoño y primavera (Hall et al., 1992), con una precipitación media anual de 971 mm para el período 1910-2010 (Agroclimatological Base de datos de red, INTA; <http://climayagua.inta.gob.ar/>). El suelo en el sitio de estudio es predominantemente Typic Argiudoll (USDA Soil Taxonomy) de la serie Pergamino con un horizonte franco limoso A sin fase erosionada (pendiente <0,3%). El diseño experimental se basó en un diseño factorial unidireccional con tres repeticiones. El experimento consistió en tres tratamientos con tres repeticiones de cada uno, totalizando nueve parcelas. Los tratamientos fueron: 1) manejo agroecológico (AE), 2) manejo convencional con cultivos de cobertura (CC), 3) manejo convencional sin cultivos de cobertura (control). Las parcelas agroecológicas se manejaron sin el uso de insumos sintéticos externos, como herbicidas, pesticidas, fertilización mineral o cultivos genéticamente modificados. Las parcelas se sembraron con la secuencia soja/maíz (*Glycine max* L./*Zea mays* L.) como cultivos comerciales, en rotación con trigo (*Triticum aestivum*) y vicia (*Vicia sativa* L.) como cultivos de cobertura, siendo los cultivos sembrados mediante labranza reducida. Estas parcelas incluyeron la presencia de ganado para adicionar estiércol de ganado al suelo. El control de malezas se realizó utilizando métodos mecánicos, tales como arado de cincel y la destrucción de cultivos de cobertura mediante rastra de disco, incorporando los residuos vegetales al suelo. Las parcelas convencionales se manejaron con la aplicación de herbicidas, fertilizantes minerales y pesticidas, y el uso de cultivos genéticamente modificados. Estas parcelas también se sembraron con la secuencia soja/maíz como cultivos comerciales, siendo los cultivos sembrados bajo siembra directa. El maíz fue fertilizado durante la siembra con superfosfato de calcio (150 kg ha⁻¹) y entre V5-V6 con 32 kg N ha⁻¹. Las especies utilizadas como cultivos de cobertura en el tratamiento CC fueron: avena (*Avena sativa* L.), vicia (*Vicia sativa* L.) y nabo forrajero (*Raphanus sativus* L.), sembradas como una mezcla de especies (avena, vicia y nabo forrajero). En el tratamiento con CC, los cultivos de cobertura fueron secados utilizando glifosato y sus residuos se dejaron en la superficie sin incluir al suelo.

Muestreo de suelo

El muestreo de suelo se realizó en precosecha de soja y maíz en 2016 y 2017, según un estudio previo (Restovich et al., 2012). Seis muestras de suelo compuestas se recogieron por parcela desde el horizonte A, a una profundidad de 10 cm, en seis estaciones de muestreo. Las muestras se pasaron a través de un tamiz de 2 mm y se almacenaron a 4°C hasta el su análisis. Una submuestra de 20 g de cada muestra se almacenó a -20°C para el análisis molecular.

Actividades enzimáticas del suelo

La actividad microbiana se estimó por hidrólisis de la actividad del diacetato de fluoresceína (FDA), de acuerdo con Adam y Duncan (2001). Se colocaron 2 g de suelo y 15 ml de buffer fosfato de potasio 60 mM, pH 7,6, en un erlenmeyer de 50 ml. Se añadió sustrato (FDA, 1000 mg ml⁻¹) para comenzar la reacción. Los erlenmeyer se colocaron en una incubadora orbital a 30°C y 100 rpm durante 20 min. Una vez retirado de la incubadora, se añadieron inmediatamente 15 ml de cloroformo / metanol (2: 1 v / v) para finalizar la reacción. El contenido de los erlenmeyer se centrifugó luego a 2000 rpm durante 5 minutos. El sobrenadante se filtró y se analizó a 490 nm usando un espectrofotómetro.

La fosfatasa ácida (FA) se analizó utilizando 1 g de suelo, 4 ml de buffer universal 0,1 M (pH 6,5) y 1 ml de fosfato p-nitrofenílico 25 mM (Tabatabai y Bremner, 1969). Después de la incubación a 37 ± 1 °C durante 1 h, la reacción enzimática se detuvo mediante la adición de 4 ml de NaOH 0,5 M y 1 ml de CaCl₂ 0,5 M para evitar la dispersión de sustancias húmicas. La absorbancia se midió en el sobrenadante a 400 nm.



Biomasa y respiración microbiana

El carbono de biomasa microbiana (CBM) se determinó usando la técnica de inoculación-fumigación con cloroformo de acuerdo con Jenkinson y Powlson (1976). La respiración microbiana del suelo se determinó como carbono potencialmente mineralizable (respiración $\text{CO}_2\text{-C}$) según Alef (1995). La cantidad de CO_2 liberado se midió a partir de muestras de suelo tratadas con cloroformo y sin tratar (aproximadamente 20 g).

Abundancia de genes fúngicos y bacterianos

El ADN se extrajo de 0,5 g de suelo. La extracción se realizó con el suelo NucleoSpin® Soil Kit para el suelo (Macherey-Nagel) usando el protocolo del fabricante. El rendimiento y la pureza del ADN se midieron usando un fluoroespectrómetro de microvolumen (NanoDrop Technologies, Delaware). Se determinaron los números de copias del gen ARNr 16S bacteriano (conjunto de cebadores 338F / 518R) (Fierer et al., 2005) y números de copias del gen 18S ARNr (conjunto de cebadores NS1-F / Fung R) (May et al., 2001) siguiendo el protocolo de Liu et al. (2009). La amplificación por PCR se cuantificó en un Line-Gene 9600 Plus mediante monitorización fluorométrica con una mezcla maestra Power SYBR Green PCR (Applied Biosystems). La reacción se realizó en un volumen de 25 μl que contenía 10 ng de ADN, 0,2 mg ml^{-1} de BSA, 0,2 μM de cada cebador y 12,5 μl de premezcla SYBR EX Taq™ (Takara Shuzo, Shiga, Japón). Las curvas estándar se construyeron por separado para bacterias y hongos usando plásmidos de genes de ARNr clonados (Takara). También se incluyeron controles de ADN positivo (agua ultrapura) y positivo (*Pseudomonas aeruginosa*, dilución en serie de 10 veces). El número de copias de los estándares se calculó a partir de la concentración de ADN de plásmido extraído.

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el empleo del programa InfoStat (Di Rienzo et al 2015). Las variables se estudiaron mediante análisis de varianza (ANOVA) para probar las diferencias entre parámetros microbianos empleando el test de Fisher (LSD) ($p < 0.05$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Actividades enzimáticas del suelo

Se observaron diferencias interesantes en las actividades enzimáticas del suelo entre los diferentes sistemas agrícolas (Tabla 1). Con respecto a la hidrólisis de FDA, el tratamiento CC mostró el valor más alto, siendo 63,2% y 12,1% mayor que el AE y el control, respectivamente; AE presentó el valor más bajo para esta variable. En cuanto a los valores de AP, el tratamiento control mostró la actividad enzimática más baja, siendo 8,3% y 14,2% más bajos que AE y CC, respectivamente.

La actividad microbiana general del suelo, determinada por la hidrólisis de la FDA, se redujo significativamente por el manejo agroecológico en este trabajo. Esto sugiere que la diversificación de cultivos y el estiércol del ganado no proporcionaron suficientes fuentes de energía para apoyar la actividad microbiana en AE en comparación con el manejo convencional. Los microorganismos sintetizan enzimas extracelulares que descomponen la materia orgánica para obtener carbono (Hargreaves & Hofmockel, 2014). Por lo tanto, el uso de labranza reducida y su efecto perjudicial sobre la materia orgánica podría haber contribuido a la reducción de las fuentes de energía en las parcelas AE, promoviendo una reducción en la actividad microbiana general. Al contrario de los resultados de FDA, la actividad FA se incrementó por el manejo agroecológico y convencional con cultivos de cobertura en nuestro estudio. De acuerdo con esto, Marinari et al. (2006) estudiaron el efecto de siete años de manejo orgánico en la fertilidad del suelo y encontraron una mayor actividad FA y un mayor contenido de fósforo disponible en comparación con el manejo convencional, a pesar del uso de labranza reducida. Dado que diferentes especies de plantas estimulan el crecimiento de diferentes especies de microorganismos (el Zahar Haichar et al., 2014), el uso de cultivos de cobertura probablemente promovió una mayor diversidad de funciones microbianas, estimulando la actividad FA en parcelas bajo cultivos de cobertura. Este efecto se observó en parcelas agroecológicas a pesar de la falta de fertilizantes sintéticos y el uso de métodos de labranza reducida.

Tabla 1. Valores medios \pm errores estándar para la hidrólisis de fluoresceína de diacetato (FDA), fosfatasa ácida (AP), respiración microbiana, carbono de biomasa microbiana (MBC) y qCO_2 , medidos en 2016 y 2017 con tres sistemas de manejo diferentes: Agroecológico (AE), convencional con cultivos de cobertura (CC), convencional sin cultivos de cobertura (control). Letras diferentes indican valores significativamente diferentes ($p < 0,05$).



Tratamientos	FDA (ug FDA g ⁻¹ h ⁻¹)	FA (ug p-nitrofenil g ⁻¹ h ⁻¹)	Respiración (mg g ⁻¹)	CBM (mg g ⁻¹)	qCO ₂
AE	74,13±2,55 c	649,81±21,21 a	0,43±0,03 a	0,47±0,02 a	1,14±0,54 b
CC	121,03±2,55 a	684,63±21,21 a	0,43±0,03 a	0,29±0,02 b	2,21±0,54 a
control	108,00±2,55 b	599,58±21,21 b	0,41±0,03 a	0,26±0,02 b	3,17±0,54 a
Valor p	<0,0001	0,0230	0,9169	0,0073	<0,0001

Componentes del cociente metabólico

Los valores de respiración microbiana no mostraron diferencias significativas entre los tratamientos (Tabla 1). Por el contrario, el CBM estuvo claramente influenciado por el manejo agroecológico, con un tratamiento AE del 62,1% y 80,7% mayor que CC y el control, respectivamente. El cociente metabólico, calculado como la relación entre la respiración microbiana y CBM, mostró el valor más bajo con AE, siendo 93,8% y 178,1% más bajo que CC y control, respectivamente.

En este sentido, Masciandaro et al. (1998) demostraron que un qCO₂ más bajo refleja condiciones biofísicas mejoradas del suelo, mientras que un qCO₂ alto indica degradación de suelo bajo uso agrícola intensivo. Por lo tanto, considerando los altos valores de qCO₂ reportados en los tratamientos CC y control, nuestros resultados indican una menor eficiencia metabólica de las comunidades microbianas del suelo con el manejo convencional en comparación con el manejo agroecológico. De acuerdo con nuestros resultados, Fließbach et al. (2007) compararon el manejo orgánico y convencional y encontraron que la respiración microbiana no variaba entre sistemas agrícolas, pero qCO₂ era significativamente más alta en suelos convencionales en comparación con suelos orgánicos, lo que sugiere un mayor requerimiento de mantenimiento de biomasa microbiana en suelos de sistemas convencionales. Probablemente, el mayor suministro de nutrientes de los fertilizantes sintéticos en las parcelas convencionales en nuestro estudio promovió una mayor actividad microbiana, pero con una baja eficiencia de uso de los compuestos de carbono que estaban mal fijados por la biomasa microbiana.

Composición y abundancia de comunidades fúngicas y bacterianas

El análisis PCR cuantitativo no mostró una variación significativa entre los tratamientos en la composición y abundancia de las comunidades fúngicas y bacterianas (Fig. 1). El valor medio de copias bacterianas varió entre 1,2 E+17 (AE) y 1,7 E + 17 (control) copias del gen 16S ADNr g⁻¹. El valor medio de copias fúngicas varió entre 1,5 E+09 (control) y 3,7 E+09 (AE) copias del gen 18S ADNr g⁻¹. La relación de H:B (Fig. 1 - C) fue menor en el tratamiento control en comparación con los demás tratamientos, siendo el control 20,1% y 58,3% menor que CC y AE, respectivamente.

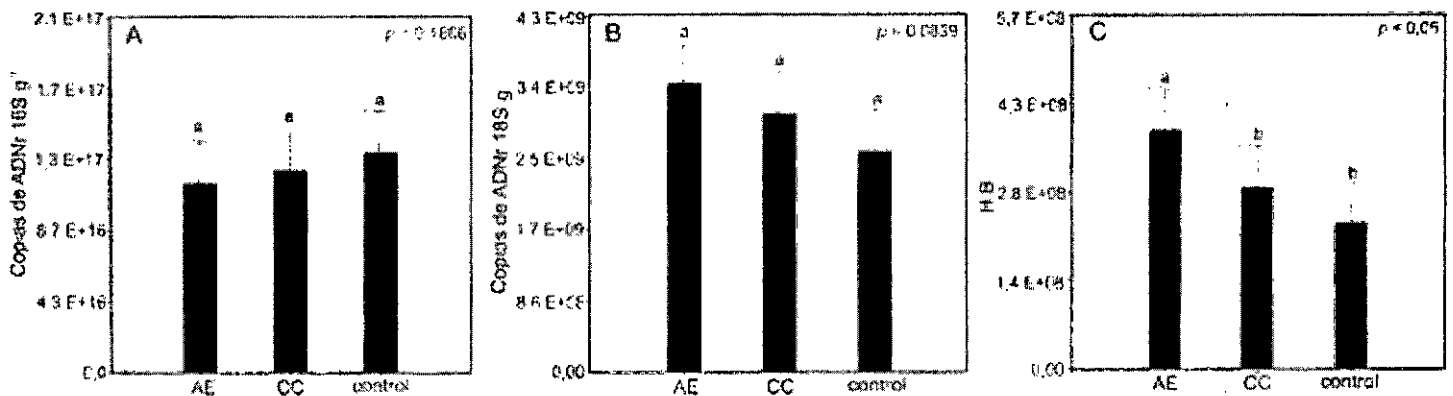


Fig. 1. Valores medios de ADN bacteriano (16S) (A) y fúngico (18S) (B) número de copias g⁻¹ y de hongos: índice bacteriano (F: B) (C), medido en 2016 y 2017 con tres administraciones diferentes sistemas: Agroecológico (AE), convencional con cultivos de cobertura (CC), convencional sin cultivos de cobertura (control). Las letras diferentes indican valores que son significativamente diferentes (p < 0.05). Las barras de error indican ± un error estándar.



Es destacable que las parcelas agroecológicas presentaron una abundancia similar de copias de ADN r fúngico y bacteriano en comparación con el manejo convencional a pesar del consumo de residuos de cultivos por parte del ganado y la falta de fertilizantes sintéticos externos en el tratamiento AE. En este sentido, se ha informado que los fertilizantes sintéticos estimulan el crecimiento de hongos mientras inhibe el de las bacterias (Demoling et al., 2007), aunque también se ha demostrado que la biomasa bacteriana aumenta con la fertilización (Högberg et al., 2003). Además, se sabe que las comunidades fúngicas son sensibles a la alteración del suelo causada por la labranza (Helgason et al., 2010). Sin embargo, nuestros resultados sugieren que las fuentes de energía proporcionadas en parcelas AE por diversificación de cultivos y estiércol de ganado junto con una alta eficiencia metabólica, fueron suficientes para mantener la misma abundancia de comunidades bacterianas y fúngicas observadas con manejo convencional utilizando fertilizantes sintéticos y labranza cero. Las parcelas agroecológicas también mostraron un aumento significativo en la relación H:B en comparación con los otros tratamientos. En este sentido, se sugiere que una relación H:B más alta es indicativa de un agroecosistema más sustentable, en el que la descomposición de la materia orgánica y la mineralización del nitrógeno dominan la provisión de nutrientes vegetales para el crecimiento del cultivo (De Vries et al., 2006). En relación con esto, existe un consenso general en la literatura de que los hongos son capaces de degradar la lignina y las bacterias no, y que los hongos también dominan la descomposición de la celulosa y la hemicelulosa, que son componentes importantes de la materia orgánica (Strickland y Rousk, 2010). Por lo tanto, nuestros resultados sugieren que el manejo agroecológico puede estar relacionado con una mayor capacidad para degradar compuestos orgánicos altamente complejos por comunidades microbianas del suelo en relación con el manejo convencional.

CONCLUSIONES

Este estudio demuestra la respuesta de las comunidades microbianas del suelo a la adopción del manejo agroecológico en la producción de cultivos extensivos. Nuestros resultados sugieren que el manejo agroecológico se caracteriza por el dominio de hongos en las comunidades microbianas del suelo y una mayor eficiencia metabólica microbiana en comparación con un sistema de manejo convencional. Estas características demuestran un uso más eficiente de los sustratos de carbono en los sistemas agroecológicos, lo que podría contrarrestar el efecto negativo de la falta de fertilización sintética y la reducción de la labranza a largo plazo. A pesar de la falta de fertilización sintética y la consecuente reducción en la actividad enzimática microbiana general, el manejo agroecológico no afectó negativamente la abundancia de hongos y bacterias del suelo y aumentó la eficiencia metabólica. Esto demuestra que las herramientas agrícolas sustentables se pueden adoptar de manera efectiva para preservar la calidad de los suelos agrícolas.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) por la beca doctoral de D. Chavarría y financiamiento recibido para el desarrollo de este trabajo (PIP N° 11220150100061CO). Este trabajo fue financiado también por el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA) a través de los proyectos de investigación PNSUELO 1134043 y CIAC 940140; y también a la Secretaría de Ciencia y Tecnología de la Universidad Nacional de Córdoba (SECyT-UNC).

BIBLIOGRAFÍA

- Adam, G. & H. Duncan. 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. *Soil Biol. Biochem.* 33: 943-951.
- Alef, K. 1995. Soil respiration. In: *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*. Alef, K., Nanninieri, P. (Ed.), Academic Press. Harcourt Brace and Company publishers, London, pp. 214-219.
- Altieri, M.A.; F.R. Funes-Monzote & P. Petersen. 2012. Agroecologically efficient agricultural systems for smallholder farmers: contributions to food sovereignty. *Agron. Sustain. Dev.* 32(1): 1-13.
- Burton, J.; C. Chen, Z. Xu & H. Ghadiri. 2010. Soil microbial biomass, activity and community composition in adjacent native and plantation forests of subtropical Australia. *J. Soils Sediments.* 10: 1267-1277.
- Demoling, F.; D. Figueroa & E. Bååth. 2007. Comparison of factors limiting bacterial growth in different soils. *Soil Biol. Biochem.* 39: 2485-2495.
- De Vries, F.T.; E. Hoffland, N. van Eekeren, L. Brussaard & J. Bloem. 2006. Fungal/bacterial ratios in grasslands with contrasting nitrogen management. *Soil Biol. Biochem.* 38(8): 2092-2103.
- Di Rienzo, J.A.; F. Casanoves, M.G. Balzarini, L. Gonzalez, M. Tablada & C. Robledo. 2015. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- el Zahar Haichar, F.; C. Santaella, T. Heulin & W. Achouak. 2014. Root exudates mediated interactions below ground, *Soil Biol. Biochem.* 77: 69-80.



- Faria, S.M. & A.A. Franco. 2002. Identificación de bacterias eficientes en la fijación biológica de nitrógeno para especies leguminosas arbóreas. (Ed.), Embrapa Agrobiologia- Documentos, Rio de Janeiro, pp. 158.
- Ferguson, B.G. & H. Morales. 2010. Latin American agroecologists build a powerful scientific and social movement. *J. Sustain. Agric.* 34: 339-341.
- Ferreira, E.P.; A. Wendland & A.D. Didonet. 2011. Microbial biomass and enzyme activity of a Cerrado Oxisol under agroecological production system. *Bragantia*. 70(4): 899-907.
- Fierer, N.; J.A. Jackson, R. Vilgalys & R.B. Jackson. 2005. Assessment of soil microbial community structure by use of taxon-specific quantitative PCR assays. *Appl. Environ. Microbiol.* 71(7): 4117-4120.
- Fließbach, A.; H.R. Oberholzer, L. Gunst & P. Mäder, 2007. Soil organic matter and biological soil quality indicators after 21 years of organic and conventional farming. *Agric. Ecosyst. Environ.* 118(1): 273-284.
- Foley, J.A.; R. DeFries, G.P. Asner, C. Barford, G. Bonan, S.R. Carpenter & J.H. Helkowski. 2005. Global consequences of land use. *Science* 309(5734): 570-574.
- Gianinazzi, S.; A. Gollotte, M.N. Binet, D. van Tuinen, D. Redecker & D. Wipf, 2010. Agroecology: the key role of arbuscular mycorrhizas in ecosystem services. *Mycorrhiza* 20(8): 519-530.
- Hall R.A.; C.M. Rebella, C.M. Ghersa & J.P. Culot 1992. Field-crop systems of the pampas. In: *Field crops ecosystems*; Pearson CJ (ed.). pp: 413-450. Elsevier, Amsterdam.
- Hargreaves S. & K. Hofmockel. 2014. Physiological shifts in the microbial community drive changes in enzyme activity in a perennial agroecosystem. *Biogeochem.* 117:67-79.
- Helgason, B.L.; F.L. Walley & J.J. Germida. 2010. No-till soil management increases microbial biomass and alters community profiles in soil aggregates. *Appl. Soil Ecol.* 46: 390-397.
- Högborg, M.N.; E. Bååth, A. Nordgren, K. Arnebrant & P. Högborg. 2003. Contrasting effects of nitrogen availability on plant carbon supply to mycorrhizal fungi and saprotrophs- a hypothesis based on field observations in boreal forests. *New Phyt.* 160: 225-238.
- Jenkinson, D.S. & D.S. Powlson. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil-V: a method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.* 8(3): 209-213.
- Marinari, S.; R. Mancinelli, E. Campiglia & S. Grego. 2006. Chemical and biological indicators of soil quality in organic and conventional farming systems in Central Italy. *Ecol. Indic.* 6(4): 701-711.
- Masciandaro, G.; B. Ceccanti & J.F. Gallardo-Lancho. 1998. Organic matter properties in cultivated versus set-aside arable soils. *Agr. Ecosyst. Environ.* 67: 267-274.
- May, L.A.; B. Smiley & M.G. Schmidt. 2001. Comparative denaturing gradient gel electrophoresis analysis of fungal communities associated with whole plant corn silage. *Can. J. Microbiol.* 47(9): 829-841.
- Restovich, S.B.; A. Andriulo & S. Portela. 2012. Introduction of cover crops in a maize-soybean rotation of the Humid Pampas: Effect on nitrogen and water dynamics. *Field Crops Res.* 128: 62-70.
- Singh, J.S. 2015. Microbes: the chief ecological engineers in reinstating equilibrium in degraded ecosystems. *Agric. Ecosyst. Environ.* 203: 80-82.
- Strickland, M.S. & J. Rousk. 2010. Considering fungal: bacterial dominance in soils-methods, controls, and ecosystem implications. *Soil Biol. Biochem.* 42(9):1385-1395.
- Tabatabai, M.A. & J.M. Bremner. 1969. Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1(4): 301-307.