

Influencia de la fertilización inorgánica sobre la actividad microbiana del suelo*

C. Conforto¹, O.S. Correa², A. Rovea³, M. Boxler³, S. Rodríguez Grastorf³, J. Minteguiaga³, J. Meriles⁴ y S. Vargas Gil¹

Introducción

Los microorganismos desarrollan en el suelo una amplia gama de acciones que inciden en el desarrollo y nutrición vegetal. Además, aportan información relativa a la actividad metabólica edáfica, mostrando mayor sensibilidad, en comparación con los parámetros químicos y físicos, frente a procesos no deseables como el manejo inapropiado (Garland et al., 2010). La función de los microorganismos, especialmente la de algunos grupos definidos, puede ser manipulada para permitir que determinadas actividades microbianas, bioquímicas y enzimáticas se expresen de forma eficaz, jugando un papel preponderante como indicadores de calidad del suelo (Vargas Gil et al., 2011).

Una de las prácticas agrícolas más comúnmente empleadas es la fertilización química, que produce marcados beneficios en las plantas debido al aumento en la disponibilidad de nutrientes que produce (Wu et al., 2011). Sin embargo, poco se conoce acerca del efecto que provocan los fertilizantes en la dinámica de las poblaciones microbianas. Según algunos autores, los fertilizantes provocan modificaciones en las poblaciones de hongos y bacterias en el suelo (Ge et al., 2008), mientras que otros investigadores no han encontrado diferencias en la respuesta de los microorganismos ante la fertilización (Clegg, 2006).

Particularmente, para estudiar los aspectos fisiológicos de los efectos que tienen los fertilizantes en el suelo, es posible emplear un método denominado perfiles fisiológicos a nivel de comunidad (CLPP). Esta técnica tiene como finalidad analizar el potencial metabólico de las comunidades microbianas del suelo, evaluando los múltiples atributos fisiológicos de la comunidad microbiana, con el propósito de discriminar patrones espaciales, temporales o bien efectos experimentales (Bossio y Show, 1995), como el caso de este trabajo.

El objetivo del presente estudio fue evidenciar la respuesta de las actividades

de las poblaciones microbianas, bajo la influencia de la adición de diferentes fuentes de nutrientes inorgánicos: nitrógeno (N), fósforo (P), azufre (S), y micronutrientes, en un ensayo de larga duración.

Materiales y métodos

Las mediciones se llevaron a cabo en la campaña 2010/11 en un ensayo en el establecimiento Balducchi, ubicado en la localidad de Teodelina (Santa Fe), que forma parte de la Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe (CREA-IPNI-ASP). En ese ensayo, bajo rotación maíz-trigo/soja, se evalúan, anualmente desde la campaña 2000/01, fertilizaciones con N, P, S y micronutrientes en las siguientes combinaciones: PS, NS, NP, NPS, NPS+Micronutrientes (**Tabla 1**), y Testigo (sin adición de fertilizante) en 3 repeticiones siguiendo un diseño en bloques completos al azar. Hacia el final del ciclo del cultivo de maíz se tomaron muestras de suelo provenientes de los 5 primeros cm. De cada parcela se extrajeron seis muestras de suelo compuestas, siguiendo un diseño en V. Los muestreos se efectuaron 15-20 días antes de la cosecha del cultivo. Las muestras fueron conservadas en frío hasta la posterior determinación de la actividad microbiana.

La cuantificación de actividad microbiológica de las muestras de suelo se realizó mediante la determinación

Tabla 1. Dosis de fertilizantes agregados en los diferentes tratamientos del ensayo de larga duración. Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe. Campaña 2010/11.

Fuentes nutricionales kg ha ⁻¹	----- Tratamientos -----					
	Testigo	PS	NS	NP	NPS	NPS + Micros
N	-	18	160	160	160	160
P	-	35	-	35	35	35
K	-	-	-	-	-	14
Mg	-	-	-	-	-	8
S	-	17	17	-	17	17
B	-	-	-	-	-	1
Zn	-	-	-	-	-	2
Cu	-	-	-	-	-	2

¹ Instituto de Patología Vegetal (IPAVE-INTA). Córdoba, Argentina. Correo electrónico: svargasgil@ciap.inta.gob.ar

² Instituto de Investigaciones en Biociencias Agrícolas y Ambientales (INBA-CONICET), Cátedra de Microbiología Agrícola y Ambiental (Fac. Agronomía) UBA.

³ Grupo CREA Región Sur de Santa Fe.

⁴ Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV- CONICET), UNC.

* Trabajo presentado en el XIX Congreso Latinoamericano de la Ciencia del Suelo - XXIII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo, 16-20 de Abril de 2012, Mar del Plata, Argentina.

de perfiles fisiológicos (CLPP), de acuerdo a metodología ajustada por Ruiz et al. (2008). Se emplearon placas de 96 pocillos, a las que se adicionó medio basal conteniendo K_2HPO_4 (21 g l⁻¹), KH_2PO_4 (9 g l⁻¹), $MgSO_4$ (0.3 g l⁻¹), $(NH_4)_2SO_4$ (1.5 g l⁻¹), $CaCl_2$ (0.03 g l⁻¹), $FeSO_4$ (0.015 g l⁻¹), $MnSO_4$ (0.0075 g l⁻¹), $NaMoO_4$ (0.0075 g l⁻¹). Se agregó además 3 g l⁻¹ de las siguientes fuentes de carbono (C): Dextrosa, Glucosa, Manosa, Lactosa, Triptofano, Lisina, Arginina, Tiamina, Asparagina, Xilosa, Fructosa, Galactosa, y el Colorante (Violeta de tetrazolio, 0.0075%). Finalmente, se agregó a las placas el inóculo suelo, previamente se realizó una suspensión (2 g en 10 ml de agua destilada estéril), que fue agitada (10 min) y centrifugada (10 min a 5000 rpm). Cada pocillo de la placa fue llenado con 60 µl de medio basal, colorante, fuentes carbonadas e inóculo suelo, en condiciones de esterilidad. Luego de sembradas las placas se incubaron a 28 °C, y se realizaron las lecturas en espectrofotómetro (UV-Vis) a 590 nm, cada 24 horas.

También se calcularon otros parámetros, como el contenido de C total (Black, 1965), N total por micro-Kjeldhal (Bremmer, 1996), P extractable (Bray y Kurtz, 1945) y S (Fontanive et al., 2004) y la estabilidad de agregados (EAs), como parámetro físico, por la técnica de los microtamices (Corvalán et al., 2000).

Análisis estadístico

Los análisis estadísticos se llevaron a cabo mediante el empleo del programa InfoStat Profesional versión 2011 (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina). La normalidad de los datos se comprobó mediante el test de Shapiro-Wilks. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con $p \leq 0.05$ para evaluar la diferencia entre los tratamientos, empleando el test de Fisher (LSD) a posteriori. Además se utilizó el análisis de componentes principales (ACP) como herramienta del análisis

Tabla 2. Influencia de la fertilización inorgánica sobre parámetros químicos y físicos edáficos (0-20 cm) en un cultivo de maíz en un ensayo de larga duración. Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe. MO: Materia orgánica, N total: Nitrógeno total, Pe: Fósforo extractable Bray-1, S: Azufre de sulfatos, EAs: Estabilidad de agregados. *Los valores seguidos de las mismas letras no presentaron diferencias significativas con $p \leq 0.05$.

Tratamientos	Parámetros edáficos				
	MO %	N total %	Pe ppm	S ppm	EAs %
Testigo	3.02 bcd*	0.16 b	18 c	16 c	43.8 bc
NP	2.78 cd	0.15 b	83 b	22 b	42.6 bc
NS	3.12 bc	0.19 a	12 c	18 bc	53.6 a
PS	2.54 d	0.14 b	62 b	17 c	36.6 c
NPS	3.50 ab	0.20 a	82 b	27 a	44.3 b
NPS+Micros	3.69 a	0.21 a	111 a	31 a	45.4 b

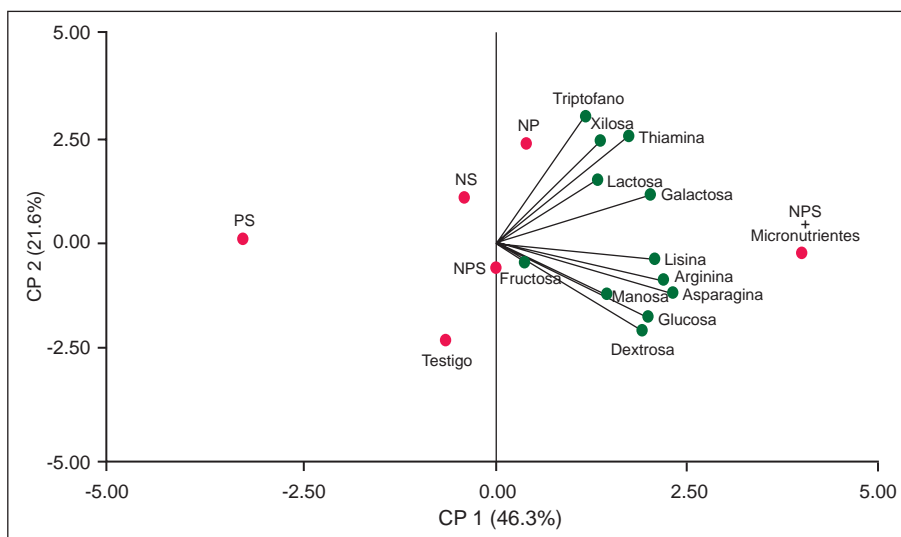


Figura 1. Biplot de las funciones microbianas del suelo, determinadas a partir del consumo de fuentes de C, en respuesta a la fertilización inorgánica (N, P, S y micronutrientes) en el cultivo de maíz en un ensayo de larga duración. Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe.

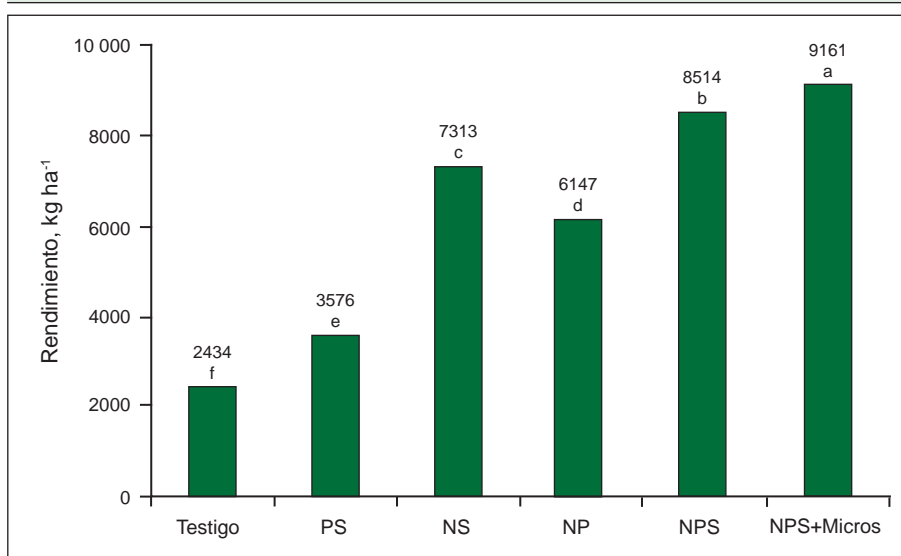


Figura 2. Efecto de la fertilización inorgánica sobre el rendimiento del cultivo de maíz, en un ensayo de larga duración. Las barras con letras diferentes son significativamente diferentes de acuerdo al test LSD ($P \leq 0.05$).

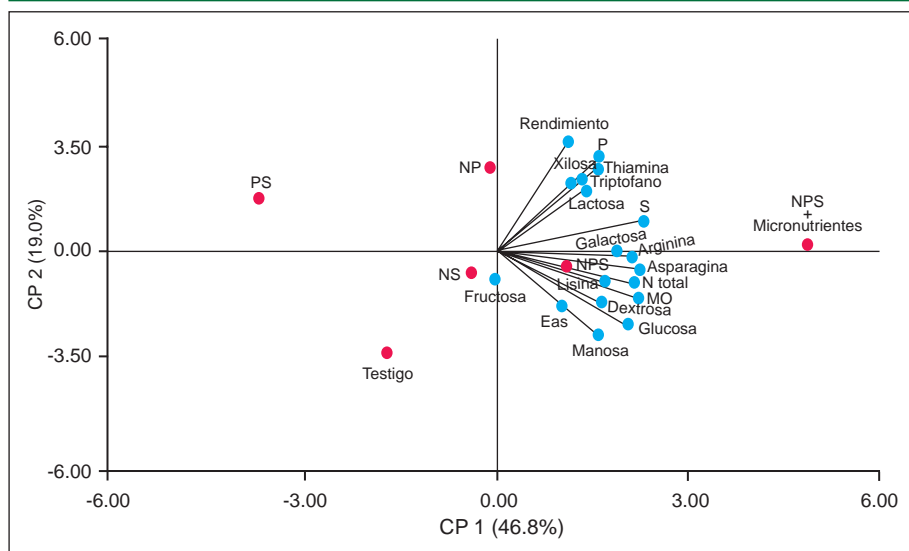


Figura 3. Biplot de las funciones microbianas edáficas (a partir del consumo de fuentes de C), de variables químicas, físicas y del rendimiento de maíz, en respuesta a la fertilización inorgánica (N, P, S y micronutrientes). Red de Nutrición CREA Sur de Santa Fe. Campaña 2010/11. Eas: Estabilidad de agregados, MO: Materia orgánica, P: Fósforo extractable.

multivariado, para determinar los parámetros de mayor influencia en la diferenciación de los tratamientos.

Resultados y discusión

Se realizó un ACP con la finalidad de determinar si el patrón de consumo de las diferentes fuentes de C era similar en los distintos tratamientos. Según la **Figura 1**, el componente principal 1 (CP 1) explicó el 46.3% de la variabilidad de los datos, mientras que el componente 2 (CP 2) explicó 21.6%, explicando ambos un 67.9% de la variabilidad total. El tratamiento NPS+Micronutrientes registró la mayor actividad respiratoria de las fuentes de C, diferenciándose de los tratamientos PS y Testigo, a lo largo del CP 1.

De acuerdo al ANAVA para las variables químicas y físicas edáficas, la fertilización inorgánica tuvo influencia diferencial sobre el contenido de MO, N total, Pe, S y EAs (**Tabla 1**). Según la **Tabla 2**, en general, los tratamientos NPS+Micronutrientes y NPS registraron mayor contenido de MO, N total, Pe y S que el Testigo, mientras que la EAs fue variable.

El rendimiento del cultivo de maíz también respondió a los diferentes tratamientos, siendo mayor en los tratamientos fertilizados, y menor en el Testigo (**Figura 2**), de acuerdo al siguiente orden: NPS+Micros > NPS > NS > NP > PS > Testigo.

Finalmente, se realizó un ACP con todas las variables que se midieron en respuesta a la fertilización (**Figura 3**). Según el ACP, los tratamientos se diferenciaron claramente de acuerdo al peso de las variables. El CP 1 explicó 46.8% de la variabilidad de los datos, mientras que el CP 2 explicó un 19.0% de la variabilidad, explicando ambos un 65.8% del total. El análisis mostró una clara

diferenciación de los tratamientos, en el cual el tratamiento NPS+Micros presentó, en general, mayor actividad microbiana y mayor contenido MO, N, Pe y S, en comparación con los tratamientos PS y Testigo, a lo largo del CP 1. Mientras que, a lo largo del CP 2, se diferenció el Testigo del tratamiento NP, siendo el rendimiento una de las variables de más peso para distinguir entre ambos.

Según la información obtenida, la actividad microbiana del suelo, medida por la cuantificación del consumo de diversas fuentes de C, fue influenciada por la fertilización inorgánica. De acuerdo al ACP, el tratamiento con nutrición más balanceada (NPS+Micros) registró mayor consumo de sustratos

carbonados, que los restantes tratamientos. Según algunos autores (Hu et al., 2011), los fertilizantes inorgánicos afectan los parámetros biológicos debido al incremento del contenido de C orgánico del suelo, que determina el crecimiento de los microorganismos (Grayston et al., 1998), siendo el P un factor clave en el aumento de la diversidad microbiana y fertilidad del suelo. Según Hu et al. (2011), los microorganismos en suelos fertilizados aumentan la eficiencia en la utilización del C, ocurriendo lo contrario en suelos deficientes en nutrientes, debido principalmente a la poca disponibilidad de P y, en segundo lugar, de N.

En situaciones de escasez de nutrientes, los microorganismos se encuentran bajo estrés para sobrellevar la deficiencia nutricional y para una apropiada actividad metabólica (Zheng et al., 2009). Sin embargo, algunos autores (Islam et al., 2011) encontraron que los CLPPs de las comunidades microbianas del suelo no fueron afectadas por la fertilización, ya que los patrones de consumo no fueron consistentes entre los diferentes tratamientos. Esto indica, según los autores, la complejidad de las actividades de los microorganismos in vivo, y las limitaciones de las mediciones in vitro.

También se observaron mejoras en los parámetros químicos en los tratamientos con fertilización más balanceada (NPS+Micros), en comparación con el Testigo. Según Zhong et al. (2010), por una parte, una fertilización balanceada estaría respondiendo a la demanda nutricional de los cultivos. A su vez, si esta demanda esta cubierta, se genera un incremento de exudados radiculares, lo cual promueve el aumento de la biomasa microbiana y la actividad metabólica de los microorganismos. Por otra parte, Zhong et al. (2010) también afirman que el incremento de nutrientes en el

suelo, en respuesta a la fertilización, es lo que estimula la actividad microbiana.

Finalmente, el rendimiento del cultivo también se incrementó en respuesta a la fertilización, en comparación con el Testigo. Existe una compleja interacción entre el nivel óptimo de fertilización, la disponibilidad de nutrientes para el crecimiento de los microorganismos y el buen desarrollo de las plantas. Esto demuestra que son necesarios más estudios para profundizar el conocimiento acerca del efecto de la fertilización inorgánica sobre las funciones metabólicas de la microbiota del suelo.

Conclusión

Las actividades microbianas revelan cambios en la calidad del suelo debidos al manejo. El monitoreo de las funciones microbianas en el suelo, relacionadas con la transformación de nutrientes, puede ser una herramienta eficiente para evidenciar el efecto de las prácticas culturales sobre la salud edáfica. Según los resultados encontrados, las comunidades microbianas en suelos con fertilización balanceada serían más activas en la utilización de sustratos carbonados. Este aumento de las actividades microbianas podría favorecer el ciclo de nutrientes en el suelo, mejorando el estado nutricional de la planta e incrementando el rendimiento del cultivo de maíz, en comparación con suelos no fertilizados.

Agradecimientos

El trabajo fue financiado por el Convenio de Vinculación Tecnológica INTA-CREA Sur de Santa Fe. Proyecto Específico (INTA AERN 295582) "Comunidades microbianas del suelo: Estructura y funciones en respuesta al manejo".

Bibliografía

- Black, C.A. 1965. *Methods of Soil Analysis. Part 2. Chemical and Microbiological Properties*. American Society of Agronomy, Inc., Publisher Madison, Wisconsin, pp. 770.
- Bossio, D.A., y K.M. Scow. 1995. Impact of carbon and flooding on the metabolic diversity of microbial communities in soils. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:4043-4050.
- Bray, R.H., y L.T. Kurtz. 1945. Determination of total organic and available forms of Phosphorus in soils. *Soil Sci.* 59:39-45.
- Bremner, J.M. 1996. Nitrogen-total. In: *Methods of soil analysis, Part 3, Chemical methods*. Sparks, DL (Ed.). Soil Sci. Soc. Am. Book series Nº 5, pp. 1085-1128.
- Clegg, C. 2006. Impact of cattle grazing and inorganic fertilizer additions to managed grasslands on the microbial community composition of soils. *App. Soil Ecol.* 31:73-82.
- Corvalán, E.R., A. Franzoni, J. Huidobro, y J.L. Arzeno. 2000.

In: *Actas del XVII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo*. Mar del Plata. Método de microtamices para la determinación de la estabilidad de agregados del suelo, 1-2 mm. Comisión I - Panel 25.

- Fontanive, A., H. Jiménez, A. De Lahorna, D. Effron, y L. Defrieri. 2004. Determinación de azufre inorgánico en suelos. Método turbidimétrico. En: *Sistema de Apoyo Metodológico para Laboratorios de Análisis de Suelo, Agua, Vegetales y Enmiendas Orgánicas*. SAGPyA. ISBN 987-9184-40-8
- Garland, J.L., C.L. Mackowiak, y M.C. Zabaloy. 2010. Organic waste amendment effects on soil microbial activity in a corn-rye rotation: Application of a new approach to community-level physiological profiling. *App. Soil Ecol.* 44(3):262-269.
- Ge, Y., J.B. Zhang, L.M. Zhang, M. Yang, y J.Z. He. 2008. Long-term fertilization regimes affect bacterial community structure and diversity of an agricultural soil in northern China. *J Soils Sed.* 8:43-50
- Grayston, S.J., S. Wang, C.D. Campbell, y A.C. Edwards. 1998. Selective influence of plant species on microbial diversity in the rhizosphere. *Soil Biol. Biochem.* 30:369-378.
- Hu, J., X. Lin, J. Wang, J. Dai, R. Chen, J. Zhang, y M.H. Wong. 2011. Microbial functional diversity, metabolic quotient, and invertase activity of a sandy loam soil as affected by long-term application of organic amendment and mineral fertilizer. *J. Soils Sed.* 11:271-280.
- Islam, M.R., P.S. Chauhan, Y. Kim, M. Kim, y T. Sa. 2011. Community level functional diversity and enzyme activities in paddy soils under different long-term fertilizer management practices *Biol. Fertil. Soils* 47:599-604.
- Ruiz, D.E., M.S. Montecchia, O.S. Correa, N.L. Pucheu, M.A. Soria, y A.F. García. 2008. Characterization of pristine and agricultural soils by catabolic profiling of microbial communities. In: *Actas del XLIV Annual Meeting-Argentine Society for Biochemistry and Molecular Biology Research*. Carlos Paz, Córdoba, Argentina. p102. ISSN 0327 9545 (print).
- Vargas Gil, S., A. Becker, C. Oddino, M. Zuza, A. Marinelli, y G. March. 2009. Soil biological, chemical and physical responses to the impact of tillage intensity, fertilization, and cattle grazing in a long-term field trial. *Environ. Manag.* 44:378-376.
- Vargas Gil, S., J. Meriles, C. Conforto, M. Basanta, V. Radl, A. Hagn, M. Schloter, y G.J. March. 2011. Soil microbial communities response to tillage and crop rotation in a soybean agroecosystem in Argentina. *Eur. J. of Soil Biol.* 47:55-60.
- Wu, F., M. Dong, Y. Liu, X. Ma, L. An, J.P.W. Young, y H. Feng. 2011. Effects of long-term fertilization on AM fungal community structure and Glomalin-related soil protein in the Loess Plateau of China. *Plant Soil* 342:233-247.
- Zheng S., J. Hu, K. Chen, J. Yao, Z. Yu, y X. Lin. 2009. Soil microbial activity measured by microcalorimetry in response to long-term fertilization regimes and available phosphorous on heat evolution. *Soil Biol. Biochem.* 41:2094-2099.*