

## EVALUACIÓN DE LOS MICROORGANISMOS DEL SUELO EN UN PASTIZAL DE LA ESTEPA MAGALLÁNICA SECA ANTE CAMBIOS EN NUTRIENTES Y RÉGIMEN HÍDRICO

Verónica Gargaglione<sup>1,2,3</sup>, Santiago Toledo<sup>3</sup>, Marina Gonzalez Polo<sup>3</sup>, Jorge Birgi<sup>1,2</sup>, Pablo Peri<sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup>ICASUR, UARG, UNPA

<sup>2</sup>EEA INTA Santa Cruz

<sup>3</sup>CONICET

### CONTEXTO

El presente trabajo se enmarca en el proyecto de investigación 29/A 403 radicado en la UARG, cuyo objetivo general fue estudiar el contenido de carbono y nitrógeno en los microorganismos del suelo en un pastizal de la estepa magallánica seca, y su respuesta al agregado de distintos nutrientes esenciales y cambios en el régimen hídrico (simulando sequía y exceso de precipitaciones). En el presente trabajo se muestran los primeros resultados del mencionado proyecto, específicamente lo concerniente al C en la biomasa microbiana.

### RESUMEN

Conocer cómo es la biología de estos suelos en cuanto a carbono (C) y nitrógeno (N) en los microorganismos da idea de la descomposición de la materia orgánica y por ende del ciclado de los nutrientes y puede servir de base para el entendimiento del funcionamiento de los sistemas naturales. El objetivo del presente trabajo es evaluar el contenido de C y N en los microorganismos del suelo en un pastizal de la estepa magallánica seca, y su respuesta al agregado de distintos nutrientes esenciales y cambios en el régimen hídrico. Se instaló un diseño en bloques al azar en donde se aplicaron distintos niveles de régimen hídrico: control, sequía y aumento de las precipitaciones y otro ensayo de fertilización con agregado de distintos macro y micro nutrientes. En cada uno de estos tratamientos se evaluó por tres años la respuesta de los microorganismos del suelo (C y N en biomasa microbiana) y actividad (respiración del suelo) a los cambios en disponibilidad de recursos. En este trabajo se muestran los primeros resultados en cuanto a C en biomasa microbiana.

**Palabras clave:** descomposición, carbono, biomasa microbiana.

### 1. INTRODUCCION

En los ecosistemas terrestres, la descomposición de la materia orgánica es un importante proceso en el ciclo de carbono (C) mediado por microorganismos heterótrofos que utilizan al material orgánico muerto -o detritus- como hábitat y fuente de energía. 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. Este proceso de descomposición contribuye a la formación de la materia orgánica del suelo

(Swift et al., 1979) y es una vía fundamental en el ciclado de nutrientes ya que la mayoría de los nutrientes disponibles del suelo derivan de la descomposición de la materia fresca de detritos vegetales a través de los microbios asociados (Visser y Parkinson, 1992). Numerosos factores pueden influir en el proceso de descomposición, como la temperatura y humedad del ambiente, la composición de la comunidad microbiana y la cantidad y calidad del recurso a descomponer (Cousteaux et al. 1995; Aerts 1997; Vázquez y Dávila 2008). Asimismo, el componente microbiológico puede servir como indicador del estado general del suelo, ya que una alta actividad microbiana es asociada a un buen nivel de fertilidad del suelo. En este sentido, el C contenido en la biomasa microbiana es un componente lábil del pool de la materia orgánica del suelo 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 y Rennie, 1982; Campbell et al., 1991; Franzluebbers et al., 1994) ya que, por ejemplo, suelos disturbados usualmente contienen menores valores de biomasa microbiana. Se estima que, independientemente del contenido de C que contenga un suelo en particular, el C contenido en su biomasa microbiana generalmente comprende alrededor de un 0,9 a 6% del C orgánico total, con una media de entre 2 y 3%. Estos valores indican una relación cercana entre el C microbiano y el C y nitrógeno (N) disponible en los suelos (Buscot y Varma, 2005).

En Patagonia Sur, donde los pastizales son ampliamente utilizados para la ganadería, una herramienta a implementar para tratar de aumentar la productividad del sistema puede ser mediante el agregado de fertilizantes o la implementación de riego. Por otra parte, algunas predicciones de cambio climático indican que para la zona esteparia del Sur de Santa Cruz se prevé que la precipitación media anual se mantenga o se observe un leve incremento con respecto a los valores actuales (Kreps et al., 2012). En este contexto, conocer cómo es la biología de estos suelos da idea de la descomposición de la materia orgánica y por ende del ciclado de los nutrientes y puede servir de base para el entendimiento del funcionamiento de estos sistemas como así también para plantear diversos escenarios futuros relacionados a cambios climáticos en estos ambientes o a prácticas agrícolas de mejoramiento (fertilización).

Actualmente, en el sur de Patagonia existen algunos antecedentes de mediciones de actividad microbiana o contenido de C en biomasa microbiana en distintos ambientes (Dube et al., 2009; Peri et al., 2015;

Gargaglione et al., 2016; Toledo et al., 2020). Sin embargo, hasta el momento no se han realizado estudios acerca de cómo varía la biomasa microbiana ante cambios en la disponibilidad de nutrientes y agua, por lo que el presente trabajo pretende generar información complementaria sustancial para el entendimiento de estos ecosistemas australes en este aspecto.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio se realizó en el campo experimental Potrok Aike de la EEA-INTA Santa Cruz (51° 56'57" LS y 70° 24' 42" LO), ubicado a 107 KM en dirección SO de la localidad de Río Gallegos, dentro del área ecológica denominada Estepa Magallánica Seca (Oliva et al., 2001). La temperatura media anual es de 5,9 °C y la precipitación median anual es de 220 mm. La vegetación dominante corresponde a una estepa gramínea de *Festuca gracillima* principalmente (14 %) acompañada de pastos cortos (33%) como ser *Poa spiciformis*, *Carex andina* y *Ritidosperma virescens* y algunos subarbustos (12%) entre ellos *Nardophyllum bryoides*, *Nassauvia aculeata* y *Azorella monantha*. Los suelos en general son aridisoles de textura arenosa. Las parcelas del presente ensayo fueron instaladas en una clausura de pastoreo que tiene alrededor de 20 años. El presente estudio comprende dos ensayos: los correspondientes al régimen hídrico (drought-net) que cuenta con sus propias parcelas, y los correspondientes al agregado de nutrientes (nut-Net) que posee sus parcelas aparte. Ambos experimentos forman parte de una red global de parcelas permanentes que pertenecen denominada Red Internacional de Nutrientes NuTNet (<http://www.nutnet.umn.edu>) y sequía DroughtNet (<http://wp.natsci.colostate.edu/droughtnet/>), que están compuestas por más de 40 y 60 sitios de estudios de pastizales en todo el mundo, respectivamente. Estas redes internacionales analizan una amplia gama de sitios de una manera consistente, con protocolos comunes de investigación, medidas y metodologías, para permitir comparaciones directas de las relaciones ambiente-productividad-diversidad entre los ecosistemas del mundo.

Las parcelas en Santa Cruz fueron instaladas en el año 2015 a partir de ese año se iniciaron los experimentos de fertilización (primera aplicación) y riego. El diseño experimental de ambos ensayos corresponde a un diseño factorial en bloques con tres repeticiones.

Previo a la aplicación de los tratamientos, se colectaron cinco muestras compuestas de suelo (0-5cm) para realizar la caracterización inicial del sitio. A estas muestras se le midió pH, nitrógeno total (%), contenido de carbono orgánico (%) y contenido (en ppm) de fósforo, potasio, calcio, magnesio, azufre, sodio, zinc y manganeso.

**Experimento hídrico:** Se colocaron estructuras fijas que reducen de forma pasiva un porcentaje de la precipitación mediante el uso de interceptores. En todos los casos, la cantidad total de la reducción o adición de las precipitaciones se cuantificó a través de series históricas de precipitación anual, de modo tal que simule una sequía

extrema, equivalente a la menor lluvia anual que ocurre en 1 a 10 años en una serie de 100 años (Knapp et al., 2017). Para la media de 243,4 mm año<sup>-1</sup> de precipitaciones registradas en el área de estudio se estimó los valores mínimos para el caso de la sequía extrema igual a 111,9 mm año<sup>-1</sup> (reducción del 54%). En el caso de suplementación de la precipitación, se aplicaron un total de 6 riegos programadas durante el año donde se produjo un aumento la precipitación del 54% del valor medio histórico, lo cual corresponde a una adición total de 131,4 mm año<sup>-1</sup>. De esta manera los tratamientos consistieron en: 1) tratamiento de precipitación ambiental (Control, la precipitación caída en el año); 2) tratamiento de sequía extrema, reducción del 54% (111,9 mm año<sup>-1</sup>) y 3) un tratamiento de suplemento de precipitación del 54% (374,8 mm año<sup>-1</sup>). Cada tratamiento posee tres repeticiones (parcelas de 4m<sup>2</sup>), distribuidas al azar en el área de estudio. Las mediciones de biomasa microbiana se realizaron al finalizar la temporada de crecimiento de las plantas (abril), durante los años 2016, 2017 y 2019.

**Experimento de agregado de nutrientes:** se estableció un diseño en bloques aleatorizados (incluyendo 8 tratamientos por bloque y tres repeticiones por tratamiento (N = 24 unidades experimentales en total). Cada unidad experimental tenía un tamaño de 5 m x 5 m (parcela de 25m<sup>2</sup>). Los tratamientos fueron

- 1) Control sin adición de fertilizantes,
- 2) adición de nitrógeno (N) en forma de urea (43 % de N) 581 g/parcela/año;
- 3) adición de fósforo (P) en forma de superfosfato triple (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> 45%; P 19,63; Ca 16%; S 1%; Mg 1 %) 1272 gr/parcela/año;
- 4) Adición de potasio (K) en forma de sulfato de potasio (K 44,9 %, S 18%) 558 g/parcela/año + un mix de micronutrientes denominado Micromix (Ca 6%, Mg 3%, S 12%; B 0,1 %; Cu 1%; Fe 17%; Mn 2,5 %; Mo 0,05; Zn 1%) 2500 gr/parcela por única vez al inicio del experimento
- 5) Adición de N y P,
- 6) Adición N y K,
- 7) Adición de P, K + mix de micronutrientes,
- 8) Adición de N, P, K + mix de micronutrientes.

Las mediciones de biomasa microbiana en este experimento se realizaron en abril durante los años 2017 y 2019.

**Mediciones de carbono en biomasa microbiana**

En cada una de las parcelas se tomaron tres muestras compuestas por cinco sub-muestras en los primeros cinco cm de profundidad con un tubo de PVC al inicio del otoño (abril). Las muestras colectadas fueron mantenidas en heladera (4° C) hasta su posterior análisis en el laboratorio. Las estimaciones del C en biomasa microbiana se realizaron mediante el método de fumigación-extracción (Vance et al., 1987). Este método se basa en el aumento de la cantidad de C extractable con K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> producto de la fumigación (con respecto a la muestra sin fumigar) proveniente del C lábil liberado a la solución del suelo por la muerte de los microorganismos con los vapores de cloroformo. Previamente a la

cuantificación de C en biomasa microbiana, las muestras de suelo se llevaron a temperatura ambiente y contenido hídrico a capacidad de campo, tomando submuestras de 30 g para determinación de % de humedad ya que las determinaciones se expresan en base a peso seco. Luego se tomaron dos submuestras de 50 g de peso fresco, una muestra control y otra para fumigar. Las muestras control fueron extraídas con 50 ml de K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 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 dejaron reposar por 24 hs en oscuridad. Finalizado este período, se realizó la extracción y agitación de la misma forma que a las muestras control. Las muestras fueron luego 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, previa realización de 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 = (Cf – Cnf) / KEC donde: Cf = Carbono en el extracto fumigado; Cnf = Carbono en el extracto no fumigado; KEC = constante de eficiencia de la fumigación = 0,45 (Jenkinson and Ladd, 1981).

Análisis estadísticos

Los datos del experimento de agregado de nutrientes fueron analizados mediante un ANOVA factorial con el programa Infostat 2.0 (Di Rienzo et al., 2018) donde los factores fueron los distintos tipos de fertilización agregada y el año de medición (2017 y 2019). El experimento hídrico también fue analizado mediante ANOVA factorial con los tratamientos (riego, sequía y control) y el año de medición (2016, 2017 y 2019) como factores. En ambos casos, de encontrar diferencias significativas estas fueron separadas mediante el test de Tukey a un nivel de significancia de p < 0,05.

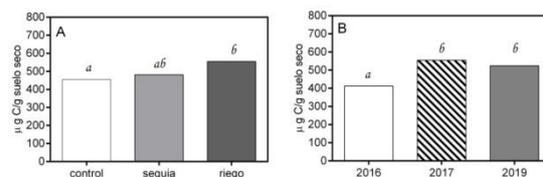
### 3. RESULTADOS OBTENIDOS

El suelo del sitio de estudio presentó textura franco arenosa y un pH de 6,5. Los valores de los nutrientes del suelo fueron de un 2,32 % de C, 0,28 % de N y una relación C/N de 8,3, asimismo, los otros nutrientes presentaron los siguientes valores en ppm: 24,5 para fósforo, 278,3 de potasio, 1826 de calcio, 475,1 de Mg, 14,1 de azufre, 63,4 de sodio y 475,1 de magnesio.

#### Experimento hídrico

Se encontraron diferencias significativas en la biomasa microbiana del suelo según el régimen hídrico (p = 0,0096) y el año de medición (p = 0,003). Los tratamientos control y sequía son los que presentaron menor biomasa microbiana (455 y 482 µg C/g suelo seco, respectivamente) mientras que el tratamiento riego presentó significativamente la mayor cantidad de biomasa microbiana (555 µg C/g suelo) (Figura 1 A). Por su parte, el año 2016 presentó menor cantidad de biomasa microbiana en comparación a los otros dos años (Figura 1 B).

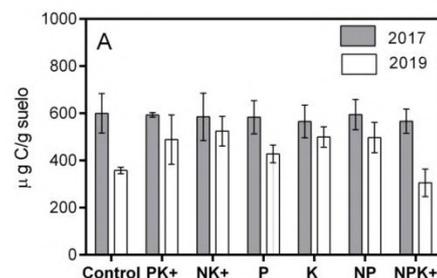
**Figura 1.** Contenido de carbono en biomasa microbiana en un suelo de pastizal en la Estepa Magallánica Seca (provincia de Santa Cruz) según A) experimento hídrico que consistió en reducir un 54% el ingreso medio anual de precipitación (sequía); aumentar un 54% el ingreso medio anual de precipitación (riego) y un control; y B) valores medios según el año de medición. Letras diferentes indican diferencias significativas.



#### Experimento de agregado de nutrientes

No se encontraron diferencias significativas en el carbono de la biomasa microbiana entre los distintos tratamientos para los años evaluados (2017 y 2019), y los valores rondaron entre los 435,9 µg C/g suelo para el tratamiento NPK + micronutrientes, 505,7 µg C/g suelo para el tratamiento control y 554,7 para el tratamiento NK + micronutrientes (Figura 2). Por el contrario, sí se encontraron diferencias significativas entre los años evaluados, siendo el año 2017 el que presentó mayores valores en comparación al año 2019 (Figura 2).

**Figura 2.** Contenido de carbono en biomasa microbiana en un suelo de pastizal en la Estepa Magallánica de la provincia de Santa Cruz seca en su estado natural (control) y luego de haberle agregado nutrientes mediante fertilizantes. El signo + indica que además del nutriente principal (Ej. PK) el tratamiento cuenta con un adicional de micronutrientes (Micromix) incorporado. Las barras verticales indican desvío estándar de la media.



#### Discusión

En el presente trabajo se muestran los primeros resultados en cuanto a la respuesta de la biomasa de los microorganismos del suelo de un pastizal de la Estepa Magallánica Seca con distintos niveles de fertilización y riego. Se pudo observar que los cambios en la disponibilidad hídrica afectan a los microorganismos, aumentando significativamente su biomasa a medida que aumenta la disponibilidad de agua, lo cual es consistente

con otros estudios (Maestre et al., 2015). En Santa Cruz, Toledo et al. (2020) comparando distintos ambientes determinaron una mayor biomasa microbiana en sitios con mayor precipitación media anual (Estepa Magallánica húmeda > Estepa Magallánica Seca > Matorral de Mata negra). Este tipo de información es sumamente valiosa para entender cómo pueden verse afectada la biología del suelo en el marco del cambio climático global.

Por otra parte, en el presente estudio no se encontraron diferencias significativas en la biomasa microbiana ante cambios en la cantidad de nutrientes aplicada mediante fertilizantes. Estos resultados concuerdan con Strecker et al. (2015) y Guo et al. (2019) quienes informaron que el C en la biomasa microbiana no se modificó cuando los suelos fueron fertilizados. En cambio, Dietrich et al. (2017) determinaron un efecto significativo y positivo de la fertilización sobre la biomasa microbiana. En nuestro estudio, si bien no se encontraron diferencias significativas, se pudo observar una tendencia en el segundo año de medición, en donde la mayoría de los tratamientos presentaron mayor valor de biomasa microbiana en comparación al tratamiento control. Esto podría estar indicando algún tipo de respuesta y diferenciación a más largo plazo, con lo cual sería importante seguir monitoreando el ambiente a fin de detectar si esta tendencia se mantiene en el tiempo. Asimismo, es importante aclarar que en este estudio solo se muestran resultados de biomasa microbiana, aunque otros tipos de análisis como por ejemplo la respiración microbiana o la respiración por unidad de biomasa microbiana podrían llegar a detectar cambios en la comunidades, es decir, que si bien presenten la misma biomasa, los microorganismos se encuentren más activos (con mayor respiración y por ende turnover) según los distintos tratamientos. Este tipo de información está siendo analizada paralelamente para ser presentada en trabajos complementarios futuros.

#### 4. FORMACION DE RECURSOS HUMANOS

Durante la ejecución de este proyecto, se obtuvo una beca de Investigación UNPA de un alumno de la carrera de Ingeniería en Recursos Naturales, Guillermo Toledo, quien estuvo colaborando con las actividades de campo y laboratorio durante dos años.

#### 5. BIBLIOGRAFIA

Aerts, R. 1997. Climate, leaf litter chemistry and leaf litter decomposition in terrestrial ecosystems: a triangular relationship. *Oikos* 79: 439-449.

Buscot, F., Varma, A. 2005. *Microorganisms in soils: Roles in Genesis and Functions*. Springer- Berlin Springer-Verlag Berlin Heidelberg. ISBN: 3-540-22220-0. Germany.

Campbell, C.A., Biederbeck, V.O., Zentner, R.P., Lafond, G.P., 1991. Effect of crop rotations and cultural practices on soil organic matter, microbial biomass and respiration in a thin Black Chernozem. *Can. J. Soil Sci.* 71, 363-376.

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.

Couteaux, M. M., P. Botter, Berg, B. 1995. Litter decomposition, climate and litter quality. *Trends Ecol Evol* 10:63-66.

Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. 2018. InfoStat. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>

Dietrich, P., Buchmann, T., Cesarz, S., Eisenhauer, N., Roscher, C. (2017). Fertilization, soil and plant community characteristics determine soil microbial activity in managed temperate grasslands. *Plant and Soil*, 419(1-2), 189-199.

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 Ecol Manag* 257, 16995-1704.

Franzluëbbers, 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.; Gonzalez M.; Peri P.L. 2016. Microorganismos del suelo en bosques de ñire en Patagonia Sur: resultados preliminares. Actas III Congreso Internacional Agroforestal Patagónico – I Congreso Internacional Forestal Patagónico, 7 pp. Puerto Natales, Chile, 14-16 Diciembre 2016.

Guo, Z., Han, J., Li, J., Xu, Y., Wang, X. 2019. Effects of long-term fertilization on soil organic carbon mineralization and microbial community structure. *PLoS one*, 14(1), e0211163.

Jenkinson, D.S., Ladd, J.N. 1981. Microbial biomass in soil: measurement and turnover. In (Paul, E.A., Ladd, J.N. eds.) *Soil Biochemistry Vol. 5* (pp. 415-471) Dekker, New York.

Knapp, A., Avolio, M., Beier, C., Carroll, C., Collins, S., Dukes, J., Fraser, L., Griffin-Nolan, R., Hoover, D., Loik, M., Phillips, R., Post, A., Sala, O.E., Slette, I., Yahdjian, L. Smith, M.D. (2017). Pushing precipitation to the extremes in distributed experiments: recommendations for simulating wet and dry years. *Global Change Biology* 23:1774–1782.

Kreps, G., Martínez Pastur, G., & Peri, P. (2012). Cambio climático en Patagonia sur. Escenarios futuros en el manejo de los recursos naturales. Ediciones INTA, Buenos Aires.

Maestre, F. T., Delgado-Baquerizo, M., Jeffries, T. C., Eldridge, D. J., Ochoa, V., Gozalo, B., ... & Bowker, M. A. 2015. Increasing aridity reduces soil microbial diversity and abundance in global drylands. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112 (51), 15684-15689.

Peri, P. L., Bahamonde, H., & Christiansen, R. 2015. Soil respiration in Patagonian semiarid grasslands under

contrasting environmental and use conditions. *Journal of arid environments*, 119, 1-8.

Strecker, T., Barnard, R. L., Niklaus, P. A., Scherer-Lorenzen, M., Weigelt, A., Scheu, S., Eisenhauer, N. 2015. Effects of plant diversity, functional group composition, and fertilization on soil microbial properties in experimental grassland. *PloS one*, 10 (5), e0125678.

Swift, M. J., Heal, O. W., Anderson J. M. 1979. Decomposition in terrestrial ecosystems. *Studies in Ecology* 5. Univ. California Press. Berkeley y Los Ángeles.

Toledo, S., Peri, P., Correa O, Gargaglione V, Gonzalez-Polo, M. 2020-"Soil microbial communities respond to an

environmental gradient of grazing intensity in south Patagonia Argentina." *Journal of Arid Environments* 184: DOI: 104300.

Vázquez, E. R, Dávila, D. Z. 2008. Efecto de la humedad, temperatura y pH del suelo en la actividad microbiana a nivel de laboratorio. *Ecología Aplicada* (7) 1,2.

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

Visser, S., Parkinson, D., 1992. Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms. *Am. J. Alt. Agric.* 7(1-2), 33-37.