

Universidad Nacional de La Plata Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales

Tesis para acceder al título de Doctor en Ciencias Agrarias y Forestales

"Diversidad microbiana y materia orgánica del suelo en sistemas silvopastoriles de la Región chaqueña"

Ing. Agr. Juan Eduardo Silberman

LA PLATA, BUENOS AIRES ARGENTINA

2016

Esta Tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado de Doctor en Ciencias Agrarias y Forestales de la Universidad Nacional de La Plata y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos cabo investigaciones llevadas en el laboratorio de a Microbiología del Instituto de Suelos del INTA Castelar y en el laboratorio de Microbiología Agrícola de la Facultad de Agronomía de la Universidad Nacional de Santiago del Estero; durante el período comprendido entre Abril de 2011 y Marzo de 2016 bajo la dirección del Dr. Daniel Grasso y la Ing. Agr. (M.sc.) Ada Albanesi.



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PLATA Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Secretaría de Posgrado

La presente tesis ha	a sido a	aprobada el	//,	mereciendo la
calificación de (·····).			

Directores

Dr. Daniel H. Grasso

Instituto de Suelos. INTA Castelar Universidad Nacional de Quilmes

Ing. Agr. M.sc. Ada S. Albanesi

Facultad de Agronomía Universidad Nacional de Santiago del Estero

Asesora académica

Dra. Mabel Vázquez

Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales Universidad Nacional de La Plata

Miembros del Jurado
Dra. Adriana Abril
Dr. Luis Wall
Dr. Mario Saparrat

A mi querida madre

Agradecimientos

A mi familia

Al Dr. Daniel Grasso y a la Ing. Ada Albanesi, por su apoyo, su confianza, su excelente dirección y sobre todo por la oportunidad.

A la Dra. Mabel Vázquez por su apoyo y colaboración.

A todos mis amigos y amigas por compartir la vida conmigo.

A María Basualdo y Mariana Minervini por su maravillosa amistad.

A Analía Anriquez por su apoyo incondicional y su maravillosa amistad.

A mi tía Dolores Cejas y a mis primos Juan Manuel, Mónica y Rodolfo Ibarra por su apoyo y acompañamiento.

Al Dr. Carlos Kunst y al Ing. Ariel Herrero por haber puesto a disponibilidad las parcelas experimentales.

Al Ing. Ariel Suarez y Lic. Alejandro Duffau por la colaboración en la descripción y clasificación de los suelos.

A Adrián Romero, Cecilia Alvarez, Celeste Barrionuevo, Florencia Saracco, Susana Arias y María José Vázquez por su colaboración en las tareas de laboratorio.

A mis compañeras y compañeros de la UNSE e INTA Castelar por su apoyo.

Durante la Tesis fueron publicados los siguientes capítulos de libros y artículos con referato

Capítulos de libro

Rol de los sistemas silvopastoriles del Chaco en la conservación de la materia orgánica y la biodiversidad del suelo. 2016.

Silberman, J., Albanesi, A., Anriquez, A., Dominguez Nuñez, J., Kunst, C., Grasso, D. En: Albanesi et al. (Eds). Hacia la construcción del desarrollo agropecuario y agroindustrial. De la FAyA al NOA. Segunda Edición. FAyA UNSE. En prensa.

Silvopastoral systems in the western Chaco región, Argentina. 2016.

Kunst C., Navall M., Ledesma R., Albanesi A., **Silberman J**., Anriquez A., Coria D., Bravo S., Goméz A., Grasso D., Dominguez Nuñez J., González A., Tomsic P., Godoy J. In Peri, P L., Dube, F., Varella, A (Eds.). Silvopastoral Systems in Southern South America. Advances in Agroforestry 11. Springer. ISBN 978-3-319-24109-8.

Ecology and Management of the Dry Forests and Savannas of the western Chaco region, Argentina. 2014.

Kunst, C., Bravo, S., Ledesma, R., Navall, M., Anriquez, A., Coria, D., **Silberman, J.,** Gómez, A., Albanesi, A.

In: Greer (Ed). Dry Forests: Ecology, Species Diversity and Sustainable Management. Nova Science Publishers. United States of America. 189p. ISBN: 978-1-63321-291-6

Procedimientos microbiológicos modernos aplicados al estudio de comunidades microbianas del suelo. 2013.

Silberman, J., Anriquez, A., Albanesi, A., Grasso, D.

En: Albanesi (Ed). Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina. Segunda Edición. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Ediciones Magna. 500p.

Calidad de suelo. Propiedades biológicas y evaluación en ecosistemas semiáridos. 2013.

Albanesi A., Anriquez A., Dominguez Nuñez J., Silberman J., Kunst C. 2013. En: Albanesi (Ed). Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina. Segunda Edición. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Ediciones Magna. 500p.

Artículos

Short-term effects of transformation from native forest to silvopastoral systems on soil quality. 2016.

Silberman, J., Albanesi, A., Kunst, C., Van Meer, H., Grasso, D. Agroforestry systems. Enviado.

Manejo de bosques con ganadería integrada: Impacto en las comunidades microbianas del suelo. 2016.

Silberman, J., Albanesi, A., Grasso, D. CIENC SUELO (ARGENTINA) 34 (2). En prensa.

Sistema silvopastoril habilitado por rolado de baja intensidad. Impacto en glomalinas y fracciones de carbono del suelo. 2016.

Anriquez A., Arias S., Silberman J., Dominguez Nuñez J., Kunst C., Albanesi A. CIENC SUELO (ARGENTINA) 34(1): 33-41.

La cobertura arbórea en un sistema silvopastoril del chaco y su contribución diferencial al suelo. 2015.

Silberman, J., Anriquez, A., Dominguez Nuñez, J., Kunst, C., Albanesi, A. CIENC SUELO (ARGENTINA) 33(1): 19-29.

INDICE

Índice general	IX
Índice de figuras	XVI
Índice de tablas	XVIII
Resumen	1
Abstract	3
Capítulo 1. Introducción General	
Introducción general	6
Objetivos	12
Objetivo general	12
Objetivos específicos	12
Capítulo 2. Materiales y métodos	
1. Área de estudio	15
1.1. Chaco semiárido	16
1.1.1. Ubicación	16
1.1.2. Clima	16
1.1.3. Suelo	17
1.1.3.1. Rasgos fisiográficos	17
1.1.3.2. Características morfológicas de los suelos	18
1.1.3.3. Propiedades físicas y químicas	20
1.2. Chaco subhúmedo	21
1.2.1. Clima	22
1.2.2. Suelo	22
1.2.2.1. Rasgos fisiográficos	22

1.2.2.2. Características morfológicas	22
2. Factor uso del suelo	25
3. Factor cobertura	28
4. Diseño experimental y muestreo de suelo	30
5. Variables evaluadas	31
5.1. Densidad aparente y pH actual	31
5.2. Fracciones de carbono orgánico del suelo	31
5.2.1. Carbono orgánico total (COT)	31
5.2.2. Fracción estabilizada del carbono orgánico (COA)	32
5.2.3. Fracción particulada del carbono orgánico (COP)	32
5.2.4. Carbono potencialmente mineralizable (\mathcal{C}_0) y tasa de mineralización del carbono (k_c)	33
5.3. Estructura de las comunidades microbianas del suelo	34
5.3.1. Cuantificación de microorganismos cultivables	34
5.3.1.1. Bacterias heterótrofas aerobias	34
5.3.1.2. Bacterias celulolíticas	34
5.3.1.3. Hongos	35
5.3.2. Glomalinas	35
5.3.3. Carbono de la biomasa microbiana	36
5.3.4. Diversidad de comunidades microbianas	36
5.3.4.1. Extracción de ADN	37
5.3.4.2. Electroforesis en gel en gradiente desnaturalizante (DGGE)	38
5.3.4.2.1. DGGE ADNr 16S	38
5.3.4.2.2. DGGE ADNr 185	39

5.3.4.3. Analisis de polimorfismo del longitud de fragmentos terminales de restricción (TRFLP)	40
5.3.4.3.1. TRFLP ADNr 16S	40
5.3.4.3.2. TRFLP ADNr 185	42
5.4. Funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo	42
5.4.1. Actividad deshidrogenasa	42
5.4.2. Actividad β-glucosidasa	43
5.4.3. Hidrólisis de diacetato de fluoresceína	43
5.4.4. Respiración edáfica	43
5.4.5. Perfiles metabólicos. BIOLOG	44
5.5 Medidas complementarias	45
6. Análisis estadístico	46
6.1. Análisis univariado	46
6.2. Análisis multivariado	47
6.2.1. Correlaciones canónicas	47
6.2.2. Análisis de componentes principales	47
Capítulo 3. Efecto de los sistemas silvopastoriles las fracciones de carbono, densidad aparente y pH suelo	
Introducción	49
Objetivos	52
Resultados y discusión	53
1. Densidad aparente y pH	53
2. Carbono orgánico del suelo	56
2.1. Carbono orgánico total	56

2.2 Carbono orgánico asociado a limos y arcillas	60
2.2. Carbono orgánico particulado	61
2.3. Carbono potencialmente mineralizable	64
2.4. Tasa de mineralización del carbono	66
Conclusiones	69
Capítulo 4. Efecto de los sistemas silvopastoriles estructura de las comunidades microbianas del	
Introducción	71
Objetivos	73
Resultados y discusión	74
1. Abundancia de microorganismos cultivables	74
1.1. Bacterias heterótrofas aerobias	74
1.2. Bacterias celulolíticas	75
1.3. Hongos	77
2. Glomalinas	79
2.1. Glomalina total	79
2.2. Glomalina fácilmente extraíble	82
3. Biomasa microbiana	84
4. ADNr 165 TRFLP	86
5. ADNr 165 DGGE	91
6 ADNr 185 TRFLP	95
7. ADNr 185 DGGE	99
Conclusiones	102

Capítulo 5. Efecto de los sistemas silvopastoriles en la funcionalidad del suelo

Introducción	104
Objetivos	108
Resultados y discusión	109
1. Actividad deshidrogenasa	109
2. Actividad β-glucosidasa	111
3. Hidrólisis de diacetato de fluoresceína	113
4. Respiración	115
5. Perfiles BIOLOG	118
Conclusiones	126
Capítulo 6. Análisis conjunto	
Introducción	128
Objetivos	130
Resultados y discusión	131
1. Correlaciones canónicas	131
2. Selección de indicadores mediante el análisis de componentes principales	136
3. Tipificación de los suelos	139
4. Consecuencias generales de la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles	139
Conclusiones	142
Capítulo 7. Bibliografía	144
Anexo	176

Índice de figuras

	Página
Figura 2.1. Ubicación de los ensayos experimentales	15
Figura 2.2. Imagen satelital la E.E.A del INTA Santiago del Estero	17
Figura 2.3. Perfil típico del plano de loma, del Piedemonte distal de las Sierras de Guasayán	18
Figura 2.4. Imagen satelital del Campo "Jagüel Pampa".	21
Figura 2.5. Perfil Típico de suelos de lomas en ambientes del centro- este de la provincia de Santiago del Estero.	23
Figura 2.6. Bosque secundario. Ensayo INTA EEA Sgo del Estero.	26
Figura 2.7. Sistema silvopastoril de 5 años. Ensayo INTA EEA Sgo del Estero	27
Figura 2.8. Bosque secundario lignificado. Campo Jagüel Pampa	27
Figura 2.9. Sistema silvopastoril de cinco años. Campo Jagüel Pampa	28
Figura 2.10. Quebracho colorado	29
Figura 2.11. Quebracho blanco	29
Figura 2.12. Mistol	29
Figura 2.13. Representación esquemática del muestreo del suelo	31
Figura 2.14. Sistema oxitop utilizado para medir la demanda bioquímica del oxígeno	33
Figura 2.15. BIOLOG Ecoplate con tres réplicas de 31 fuentes de carbono	44
Figura 3.1. Valores promedio de carbono orgánico total (COT) obtenidos para los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones	57
Figura 3.2. Valores promedio de carbono orgánico total (COT) obtenidos	59

para los diferentes usos del suelo y coberturas del sitio semiárido

Figura 3.3. Materia seca promedio de mantillo recolectado al final de la estación de crecimiento para los diferentes usos del suelo y coberturas	60
Figura 3.4. Valores promedio de carbono orgánico asociado a limos y arcillas obtenidos para los diferentes sitios, usos del suelo y coberturas.	61
Figura 3.5. Valores promedio de carbono orgánico particulado (COP) obtenidos para los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones	62
Figura 3.6. Valores promedio de carbono orgánico particulado (COP) obtenido para los diferentes usos del suelo y coberturas del sitio semiárido	63
Figura 3.7. Valores promedio de carbono potencialmente mineralizable (C_0) obtenido para los diferentes sitios y usos del suelo	65
Figura 3.8. Valores promedio de carbono potencialmente mineralizable (C ₀) obtenido para los diferentes usos del suelo y coberturas del sitio semiárido	66
Figura 3.9. Valores promedio de tasas de mineralización (kc) obtenidos para a)los diferentes sitios y usos del suelo y b) los diferentes sitios y estaciones	67
Figura 3.10. Valores promedio de tasas de mineralización (kc) obtenidos para los diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones del sitio semiárido	68
Figura 4.1. a) Valores promedio de glomalina total (GT) y b) relación glomalinas: COT (carbono orgánico total) para los diferentes sitios y usos del suelo	80
Figura 4.2. Valores promedio de glomalina total (GT) para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido	81
Figura 4.3. Valores promedio de glomalina fácilmente extraíble (GFE) para los diferentes sitios y usos del suelo	82
Figura 4.4. Valores promedio de glomalina fácilmente extraíble (GFE) para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido	83
Figura 4.5. Valores promedio de carbono de la biomasa microbiana (CBM) para los diferentes usos del suelo, estaciones y sitios	84

Figura 4.6. Valores promedio de carbono de la biomasa microbiana (CBM) para los diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones para el sitio semiárido	85
Figura 4.7. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 16S TRFLP para los diferentes sitios y usos del suelo	88
Figura 4.8. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 16S TRFLP para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido	90
Figura 4.9. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 16S DGGE para los diferentes sitios y usos del suelo	92
Figura 4.10. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 16S DGGE para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido	94
Figura 4.11. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 18S TRFLP para los diferentes sitios y usos del suelo	96
Figura 4.12. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 18S TRFLP para los diferentes usos del suelo y coberturas	98
Figura 4.13. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 18S DGGE para los diferentes sitios y usos del suelo	100
Figura 4.14. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 18S DGGE para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido	101
Figura 5.1. Valores promedio de actividad deshidrogenasa para los diferentes sitios y usos del suelo	110
Figura 5.2. Valores promedio de actividad deshidrogenasa para los diferentes usos del suelo y coberturas	111
Figura 5.3. Valores promedio de actividad β-glucosidasa para los diferentes sitios y usos del suelo	112
Figura 5.4. Valores promedio de actividad β-glucosidasa para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido	113
Figura 5.5. Valores promedio de actividad hidrólisis de diacetato de	114

fluoresceína (FDA) para los diferentes sitios y usos del suelo	
Figura 5.6. Valores promedio de actividad hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA) para los diferentes usos del suelo y coberturas	115
Figura 5.7. Valores promedio de respiración edáfica para los diferentes sitios y usos del suelo	116
Figura 5.8. Valores promedio de respiración edáfica para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido	117
Figura 5.9. Dendograma construido en base a los perfiles BIOLOG para los diferentes sitios y usos del suelo	118
Figura 5.10. Valores promedio de AWCD (average well color development) para los diferentes sitios y usos del suelo (a) y para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido (b)	119
Figura 5.11. Análisis de componentes principales construido en base a la utilización de fuentes de carbono agrupadas por naturaleza química para los diferentes usos del suelo dentro de cada sitio	123
Figura 5.12. Dendograma construido en base a los perfiles BIOLOG para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido	124
Figura 5.13. Análisis de componentes principales construido en base a la utilización fuentes agrupadas con naturaleza química para las diferentes coberturas dentro de cada uso del suelo en el sitio semiárido	125
Figura 6.1. Número de artículos publicados por año reportados por el metabuscador scopus usando como palabras clave "soil quality indicator" y "soil microbial indicator"	128
Figura 6.2. Análisis de componentes principales considerando los	138

parámetros físicos, químicos y biológicos para los diferentes usos del suelo

en ambos sitios

Índice de tablas

	Página
Tabla 2.1. Características internas del suelo del sitio semiárido	19
Tabla 2.2. Propiedades del suelo correspondiente al área de estudio en la subregión de Chaco semiárido	20
Tabla 2.3. Características internas del suelo del sitio subhúmedo	24
Tabla 2.4. Propiedades físicas y químicas del suelo del sitio subhúmedo	25
Tabla 3.1. Valores promedio ± desvío estándar de densidad aparente (DA) y pH obtenidos en los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones	54
Tabla 3.2. Valores promedio ± desvío estándar de densidad aparente (DA) y pH obtenidos para los diferentesusos del suelo y coberturas del sitio semiárido	55
Tabla 3.3. Fraccionamiento granulometría (%) del suelo en los diferentes sitios	58
Tabla 3.4. Composición química de hojas de árboles representativos del Chaco al final de la estación de crecimiento	64
Tabla 4.1. Abundancia de bacterias heterótrofas aerobia para los diferentes sitios y estaciones	74
Tabla 4.2. Abundancia de bacterias aerobias para las diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones en el sitio semiárido	75
Tabla 4.3. Abundancia de bacterias celulolíticas para los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones	76
Tabla 4.4. Abundancia de bacterias celulolíticas para los diferentes usos del suelo y estaciones en el sitio semiárido	77
Tabla 4.5. Abundancia de hongos para las diferentes sitios, usos del suelo	78

y estaciones

Tabla 4.6. Abundancia de hongos para los diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones en el sitio semiárido	79
Tabla 4.7. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles TRFLP 16S para los diferentes sitios y usos del suelo	86
Tabla 4.8. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles TRFLP 16S para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido	89
Tabla 4.9. Número de bandas obtenidas por DGGE 16S promedio para cada sitio y uso del suelo	91
Tabla 4.10. Número de bandas promedio, obtenidas por DGGE, para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido	93
Tabla 4.11. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles TRFLP 18S para los diferentes sitios y usos del suelo	95
Tabla 4.12. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles TRFLP 18S para los diferentes usos del suelo en el sitio semiárido	97
Tabla 5.1. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles BIOLOG para los diferentes sitios y usos del suelo	120
Tabla 5.2. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles BIOLOG para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido	121
Tabla 6.1. Correlaciones canónicas y coeficientes de las combinaciones lineales. Variables independientes (propiedades físicas y químicas); Variables dependientes (estructura de las comunidades microbianas del suelo).	133
Tabla 6.2. Correlaciones canónicas y coeficientes de las combinaciones lineales. Variables independientes (propiedades físicas y químicas del suelo); Variables dependientes (funcionalidad del suelo).	134

Tabla 6.3. Correlaciones canónicas y coeficientes de las combinaciones lineales. Variables independientes (estructura de las comunidades microbianas del suelo); Variables dependientes (funcionalidad134 del suelo).

135

Resumen

Los sistemas silvopastoriles son promovidos como una alternativa para mejorar la sostenibilidad de las prácticas agropecuarias por los beneficios múltiples que tendría la inclusión de árboles en los agroecosistemas. Sin embargo la información existente respecto del impacto de los SP en las comunidades microbianas del suelo es escaza y limitada a determinadas regiones del mundo lo que dificulta su generalización y no ha sido reportado para la Región Chaqueña. Se conoce que los sistemas silvopastoriles tienen un gran potencial para incrementar la captura de carbono y mejorar la bioquímica del suelo. Sin embargo los factores que inciden en la dinámica de las fracciones de carbono del suelo y en la diversidad microbiana a nivel regional permanecen poco esclarecidos. Por ello resulta imprescindible el abordaje del estudio con el propósito de poder suministrar información para la toma de decisiones que permitan hacer un uso racional del recurso suelo en la región.

Las consecuencias de la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles son dependientes de las condiciones ecológicas de cada subregión. En la subregión subhúmeda, donde el suelo presente mejores condiciones en términos de contenido y calidad de la materia orgánica, los efectos de la implementación de sistemas silvopastoriles son casi imperceptibles, salvo por la disminución del potencial catabólico (AWCD) y la diversidad de hongos (TRFLP-18S). En cambio en la subregión semiárida, múltiples parámetros respondieron al cambio de uso del uso.

Este estudio evidencia que la habilitación de bosques secundarios mediante rolado selectivo de baja intensidad conserva o mejora las propiedades físicas y químicas del suelo, hecho que es atribuible a la conservación de la vegetación leñosa.

Las comunidades bacterianas del suelo de los bosques de ambas subregiones muestran cierto grado de tolerancia al disturbio inducido por el uso silvopastoril, ya que se producen cambios significativos en su estructura luego de un año, lo cual se restaura a los cinco años. Contrariamente, las comunidades de hongos del suelo son muy sensibles al cambio de uso del suelo, lo que es atribuible a la menor diversidad metabólica comparada con las bacterias y por lo tanto a una mayor sensiblidad a la cantidad y calidad de los residuos que ingresan al suelo.

Los sistemas silvopastoriles impactan en la funcionalidad del suelo principalmente en el potencial catabólico y diversidad funcional, cuyo efecto se detecta los cinco años en el ambiente subhúmedo y al año en el ambiente semiárido. Adicionalmente, para el ambiente semiárido, otros parámetros funcionales (respiración y actividad deshidrogenasa), son afectados por el uso silvopastoril luego de un año. Sin embargo estos parámetros muestran una tendencia a la restauración a los cinco años lo que sugiere que los sistemas silvopastoriles son capaces de mejorar la funcionalidad del suelo.

Las cobertura de las especies arbóreas más dominante del bosqueño Chaqueño (quebracho blanco, quebracho colorado y mistol) tienen un efecto diferencial en el contenido de carbono del suelo (mistol > quebrachos) lo que estaría relacionado al ingreso diferencial de residuos vegetales al suelo. Además los suelos bajo la cobertura de las diferentes especies arbóreas albergan comunidades microbianas diferentes en cuanto a su estructura (DGGE) y diversidad funcional. Las comunidades microbianas del suelo bajo la cobertura de quebracho colorado mostraron preferencias por los polímeros, lo que está relacionado al mayor contenido de taninos y fenoles en las hojas de esta especie. Mientras que la microbiota del suelo bajo la cobertura de mistol muestra preferencia por los carbohidratos y aminoácidos, lo que está relacionado con menor contenido de fibra y mayor contenido de proteína de las hojas.

Lo mencionado anteriormente permite enunciar que los sistemas silvopastoriles son una alternativa interesante para la conservación y/o mejora del suelo que permitiría a su vez frenar los desmontes en la Región Chaco y particularmente para la provincia Santiago del Estero que ha sufrido gran pérdida de bosques por el rápido avance de la frontera agropecuaria en la útlima década, aún después de la promulgación de la ley 26.331 de protección de bosques nativos.

Estos resultados son sumamente importantes para la región porque brindan la información necesaria para comprender las consecuencias de la transformación de bosques nativos a sistemas silvopastoriles sobre la dinámica de la materia orgánica, la estructura de las comunidades microbianas y la bioquímica del suelo. Además esta información elucida la capacidad de los sistemas silvopastoriles de restaurar las propiedades del suelo al estado predisturbio. A su vez representan el primer antecedente para la construcción de niveles umbrales, que son requeridos para la evaluación del impacto ambiental de los sitemas silvopastoriles y su desconocimiento es la mayor limitante. Sin embargo es necesario continuar monitoreando la calidad del suelo en sistemas silvopastoriles con énfasis en propiedades microbiológicas. De acuerdo al presente estudio, se sugieren como indicadores de calidad de suelo al potencial catabólico estimado por el AWCD (average well color development) y diversidad de hongos (cultivables y no cultivables).

Abstract

Silvopastoral systems are promoted as an alternative to improve the sustainability of agricultural practices have multiple benefits including trees in agro-ecosystems. But existing information about the impact of SP on soil microbial communities are very little and limited to some regions of the world that difficult its generalization and has not been reported for the Chaco region. It is known that silvopastoral systems have great potential to increase carbon sequestration in the soil. However, the factors affecting the dynamics of soil carbon fractions at regional level remain uncleared. It is therefore essential to approach the study in order to be able to provide information for making decisions to make rational use of land resources in the Chaco region.

The consequences of the conversion of forests to silvopastoral systems are dependent on ecological conditions of each subregion. In the sub-humid sub-region, where the present better conditions in terms of content and quality of organic matter, the effects of the implementation of silvopastoral systems are almost imperceptible, except for the decrease in catabolic potential (AWCD) and diversity of fungi soil (TRFLP- 18S). In contrast, in the semiarid subregion, they responded to multiple parameters use change use.

This study shows that silvopastoral systems low intensity conserve or improves the physical and chemical properties of the soil, a fact that is attributable to the conservation of woody vegetation. Soil bacterial communities of forests of the two subregions show some degree of tolerance induced disturbance silvopastoral land use, as significant changes in its structure after a year, which is restored to five years. In contrast, communities of soil fungi are very sensitive to changes land use, which is attributable to the lower metabolic diversity compared with bacteria and therefore a greater sensibility to the quantity and quality of litter.

Silvopastoral systems impact on soil functionality primarily in the catabolic potential and functional diversity, the effect is detected five years in the subhumid and a year in the semiarid site. Additionally, in the semiarid site, other functional parameters (respiration and dehydrogenase activity), are affected by the silvopastoral use after one year. However these parameters show a tendency to restoration five years suggesting that such incorporations are able to improve soil functionality.

The coverage of the most dominant tree species Chaco forest (quebracho blanco, quebracho colorado and mistol) have a differential effect on soil carbon content (mistol> quebrachos) which might be related to the differential input of litter. In addition soil under the cover of different tree species has different microbial communities in their structure (DGGE) and functional diversity. Soil microbial communities under the cover of quebracho showed preference for polymers, which is related to the higher content of phenols and tannins in the leaves of this species. While

soil microbiota under the cover of mistol shows a preference for carbohydrates and amino acids, which is related to lower fiber content and higher protein content of the leaves.

Mentioned above evidence that silvopastoral systems are an interesting alternative for conservation and / or improvement of the soil that would stop deforestation in the Chaco region and particularly for the Santiago del Estero province that has suffered great loss of forests the rapid advance of the agricultural frontier in the last decade, even after the enactment of law 26,331 of protection of native forests.

These results are very important to Chaco region because they provide information required to understand consequences of the transformation of native forests to silvopastoral systems on the dynamics of organic matter, the estreutura of microbial communities and soil biochemistry. In addition this information elucidates the ability of silvopastoral systems to restore soil properties to predisturbio state. In turn represent the first step for the construction of threshold levels that are required for the environmental impact assessment of silvopastoral sitemas and ignorance is the biggest limiting. However it is necessary to continue to monitor soil quality in silvopastoral systems with emphasis on microbiological properties. According to this study, they are suggested as indicators of soil quality catabolic potential estimated by the AWCD (average well color, development) and diversity of fungi (culture and unculture).

CAPITULO 1

INTRODUCCIÓN GENERAL

Introducción general

1. Sistemas silvopastoriles a nivel mundial

La Organización para la Agricultura y la Alimentación (FAO) prevé que la producción de alimentos (sin considerar los alimentos destinados a los biocombustibles) debe aumentar en un 70% para el año 2050 para satisfacer las necesidades de una población mundial creciente. Una preocupación importante es que esta situación podría significar una mayor presión sobre las tierras marginales y hábitats protegidos, además de intensificar las prácticas agrícolas existentes, con graves implicancias para los procesos ecológicos que sustentan el bienestar humano ('servicios' ecosistémicos) (Smith *et al.*, 2012). Lo dicho plantea el desafío de producir dentro de los límites de la sustentabilidad. Es por ello que existe un creciente reconocimiento de la necesidad de mejorar la sostenibilidad de las prácticas agropecuarias, que ha llevado a la adopción generalizada de los procesos de mínimo impacto (Bisset *et al.*, 2013).

Un enfoque para lograr este objetivo es el diseño de sistemas de producción que imiten la estructura y el funcionamiento de los ecosistemas naturales, basados en la hipótesis que los sistemas naturales son ecoeficientes, con un ciclado interno de nutrientes y energía, a la vez que protegen los recursos base. En este sentido, los sistemas agroforestales construyen la idea de diseño ecológico para optimizar las interacciones benéficas entre el componente leñoso y los demás componentes (Smith *et al.*, 2012)

Una definición ampliamente aceptada fue formulada por Lundgren en 1982 (en Smith et al., 2012) "Agroforestería es un nombre colectivo para hacer referencia a sistemas de uso de la tierra integrados por leñosas perennes (árboles, arbustos, etc.) en asociación con plantas herbáceas (cultivos, pastos) y/o animales; en una disposición espacial, una rotación, o ambos. Por lo general hay interacciones ecológicas y económicas entre los árboles y otros componentes del sistema". Los sistemas silvopastoriles, como parte de las prácticas

agroforestales, son un enfoque para el uso de la tierra donde las plantas leñosas perennes (árboles, arbustos, etc.) coexisten con plantas herbáceas (por ej. pastos nativos o introducidos) y con el ganado en la misma unidad de manejo, con diferentes arreglos espaciales o temporales. Estos sistemas comprenden la introducción de especies arbóreas exóticas o el manejo de bosques nativos de manera tal que permitan la producción de árboles y el ganado en la misma unidad de tierra (Peri *et al.*, 2016).

A nivel mundial el área con sistemas agroforestales supera 1.000 millones de hectáreas y la mayor superficie se encuentra en Sudamérica (320 millones de hectáreas), seguido por África subsahariana (190 millones de hectáreas) y Sudeste de Asia (130 millones de hectáreas) (Kumar et al., 2014). Estos sistemas fueron promovidos como una alternativa para mejorar la sostenibilidad de la prácticas agropecuarias por los beneficios que tendría la inclusión de árboles en los agroecosistemas, con beneficios a nivel de paisaje en los servicios ecosistémicos (Buttler et al., 2009; Calle et al., 2009), con efectos positivos en el secuestro de carbono y reducción de emisiones de metano (Ibrahim et al., 2007; Murgueitio & Ibrahim, 2008); creación de hábitats complejos que favorecen la diversidad de plantas y animales (McAdam et al., 2007; Castro, 2009; Moreno & Pulido, 2009) incrementado a su vez la conectividad entre los fragmentos de bosque (Rice & Greenberg, 2004; Ibrahim et al., 2006). Además estos sistemas ayudarían a proteger las cuencas de agua, el suelo ante procesos de erosión y la contaminación por nutrientes, lo que los llevaría a permanecer productivos por períodos más largos que las pasturas convencionales, pudiendo reducir la presión del desmonte sobre los bosques (Murgueito et al., 2011).

A nivel mundial, los sistemas agroforestales están ampliamente distribuidos. Cubbage *et al.* (2012) encontraron que los productores que adoptaban sistemas silvopastoriles (SP) utilizaban diferentes tipos de vegetación, tales como bosques nativos, regenerados y plantados con especies exóticas de árboles, así como pastos nativos e implantados. Estos autores discutieron diversos SP, aquellos de plantaciones exóticas comummente adoptados en Uruguay; sistemas forestales naturales extensos en La Pampa (Argentina), sistemas silvopastoriles comunes en Misiones y Corrientes (Argentina); sistemas agroforestales en zonas

volcánicas de Nueva Zelanda; sistemas de pinos nativos escasamente adoptadas en el sur de Estados Unidos; sistemas reforestados con eucaliptus en Brasil, sistemas usados para el almacenamiento de carbono en la región Aysén de la Patagonia (Chile). Lo mencionado anteriormente manifiesta que los sistemas silvopastoriles se llevan a cabo de diferentes maneras. La gama de condiciones en las cuales se desarrollan los SP sugiere que los factores tales como la geografía, el clima, la cultura y los mercados podrían ser los determinantes de la selección del sistema. Independientemente de estos factores contextuales, todos los sistemas tienen en común la integración de ganadería con las especies de plantas leñosas y herbáceas.

2. Sistemas silvopastoriles en el Chaco

El uso intensivo de la tierra ha convertido grandes áreas del Chaco en matorrales de arbustos densos y bosques secundarios comúnmente llamados fachinales, cuya aptitud para la producción ganadera y maderera es baja. La biomasa herbácea en pié es insignificante debido a la densidad baja y/o pequeño tamaño de las plantas. La alta densidad de plantas leñosas y sus tallos espinosos disminuyen la accesibilidad de forraje y obstaculizan los movimientos del ganado y del personal. Como consecuencia de ello, la capacidad de carga de estos sistemas es baja, lo que repercute negativamente en la productividad ganadera. Estos problemas son compartidos con otras regiones áridas y subhúmedas del mundo, creando situaciones complejas de manejar (Kunst *et al.*, 2014a).

En la Región Chaqueña, la conversión de bosques secundarios improductivos desde una óptica agronómica, a sistema silvopastoril se produce mediante rolado selectivo de baja intensidad (RBI). Esta práctica consiste en el pasaje de un cilindro metálico que aplasta el arbustal dejando en pie los árboles y el residuo leñoso sobre el suelo. El rolado y siembra de pasturas de la especie *Panicum maximum* Jacq. incrementa de un 300 a 600 % la oferta de forraje (Kunst, 2008) con un rendimiento promedio de 3.500 – 11.500 kg MS ha⁻¹ (Kunst *et al.*, 2014b); a la vez que no afecta significativamente la cobertura de árboles de las especies dominantes del Chaco (Gomez & Navall, 2008); mantiene la diversidad de leñosas de mayor

importancia forestal (Bravo, 2008) y la diversidad de aves (Albanesi *et al.*, 2013a). Además mejora la ganancia de peso atribuida al bienestar animal generado por la sombra de los árboles, reduciendo el estrés provocado por las altas temperaturas (Pérez *et al.*, 2008; Navas Panadero, 2010; De Araujo Marques *et al.*, 2011).

3. Calidad de suelos. Estudios previos

La calidad del suelo se define como "la capacidad continua del suelo para funcionar como un sistema vivo, para sostener la actividad biológica y suministrar servicios ecosistémicos (Schloter *et al.*, 2003). Este concepto fue desarrollado rápidamente durante de los años 90 como resultado del creciente enfoque holístico para el manejo de los sistemas de producción y uso sustentable del suelo (Mairura *et al.*, 2007) y fue definido como un concepto multidimensional (Villamil *et al.*, 2008). Por lo tanto, para comprender los efectos de diferentes usos sobre la calidad del suelo es importante considerar parámetros físicos, químicos y biológicos (Karlen *et al.*, 1997; Kibblewhite *et al.*, 2008).

Los sistemas silvopastoriles de diferentes regiones del mundo mostraron mayor potencial para el secuestro de carbono en el suelo producto de la presencia de árboles y herbáceas, comparado con sistemas que excluyen a la vegetación leñosa (Jose *et al.*, 2000; Jose, 2009; Matos *et al.*, 2011; Howlett *et al.*, 2011a; Howlett *et al.*, 2011b, Dube *et al.*, 2013; Montagnini *et al.*, 2013; Junior *et al.*, 2014). Los árboles pueden incrementar la materia orgánica del suelo y mejorar la disponibilidad de nutrientes a través de la descomposición de residuos foliares y radicales (Jose *et al.*, 2000; Jose, 2009). Las raíces finas de los árboles pueden jugar un rol significativo en el ciclado de nutrientes debido a la rápida liberación de nutrientes en comparación con las hojas (Mao *et al.*, 2011).

Es conocido que los sistemas silvopastoriles son capaces de mejorar la calidad y la función metabólica del suelo reflejados en incrementos en la biomasa microbiana, actividades enizmáticas, respiración edáfica y biomarcadores FAME (Fatty acid methyl ester) (Vallejo et al.,

2010; Vallejo et al., 2012; Azar et al., 2013; Peri et al., 2015). Cubillos et al. (2016) reportaron que las comunidades de bacterias totales y oxidantes del amonio son diferentes entre el bosque, pastura convencional y sistemas silvopastoriles (SP) y que estos últimos serían un alternativa importante para restaurar los servicios ecosistémicos que ofrecen las comunidades bacterianas del suelo. También se conoce que las comunidades microbianas del suelo son muy diferentes entre los sistemas no disturbados y los cultivados (Jangid et al., 2008; Lagerlöf et al., 2014); y que las comunidades microbianas dependerían mas de las propiedades del suelo que de las comunidades de plantas (Cubillos et al., 2016). Pande &Tarafdar (2004) informaron una alta diversidad de HMA (hongos micorrícicos arbusculares) en sistemas agroforestales semiáridos de India. Bainard et al., (2012) destacaron la importancia de los árboles en los sistemas de intercultivos por su significativo incremento en la riqueza de HMA del suelo y por la presencias de taxas no encontradas en sistemas de monocultivos. Estudios previos en la región Chaco evidenciaron una gran diversidad de bacterias del suelo que a su vez es mayor en la capa orgánica. Además se conoce que los cambios en la abundancia, actividad y diversidad de bacterias se debe a múltiples factores: i) condiciones ecológicas (efecto de sitio), ii) temperatura y precipitación (efecto de la estación) y iii) intensidad del uso del suelo (Noe et al., 2012; Noe & Abril., 2013; Noe & Abril., 2015). Aun existiendo antecedentes relevantes para la región, los estudios son insuficientes lo que dificultad la aplicabilidad de las conclusiones a todas las subregiones del Chaco, considerando que es una región que presenta diferentes tipos del suelo asociado a las diferentes condiciones ecológicas. En la subregión subhúmeda (Chaco Este) los suelos son Molisoles, mientras que en las subregiones áridas- semiáridas (Chaco Occidental) los suelo son Aridisoles y Entisoles (Morello et al., 2012)

A nivel regional (NOA) se reemplazaron grandes áreas de bosques por pasturas y/o cultivos anuales con severos efectos negativos en los atributos funcionales del ecosistema con implicancias en los servicios ecosistémicos asociados a la dinámica de la ganancia de carbono (Volante et al., 2012). En regiones áridas de la Argentina es conocido que las diferentes especies de plantas desempeñan un rol importante en el ciclo del carbono. Las plantas pueden influenciar la cantidad y calidad de las entradas de materia orgánica al suelo dependiendo de

sus características morfológicas, fenológicas, fisiológicas y bioquímicas (Carrera *et al.*, 2009). Además Abril *et al.*, (2013) reportaron que el tipo de cobertura y los residuos de diferentes especies de leñosas que ingresa al suelo afectan el contenido del carbono estable del suelo (sustancias húmicas).

En bosques nativos y sistemas silvopastoriles del Chaco semiárido, el carbono orgánico total y lábil decrece a medida que aumenta la distancia del fuste como consecuencia de un gradiente de acumulación de mantillo y la especie *Ziziphus mistol* produce entre un 16 y 64% más residuos que *Aspidosperma qubracho blanco* y *Schinopsis lorentzii* (Albanesi *et al.*, 2013 a; Kunst *et al.*, 2016). Además se conoce que el RBI genera un incremento en la humedad del suelo en el horizonte superficial inmediatamente después del rolado y que este efecto es de corto plazo (Anriquez *et al.*, 2005; Kunst *et al.*, 2016).

Sin embargo, permanece poco esclarecido el impacto del uso silvopastoril sobre la dinámica de las fracciones de carbono orgánico del suelo en el Chaco semiárido y subhúmedo. Las consecuencias de la transformación de bosques a SP en la diversidad genética y funcional de las comunidades microbianas del suelo no han sido informadas. Por ello resulta imprescindible el abordaje del estudio con el propósito de poder suministrar información para la toma de decisiones que permitan hacer un uso racional del recurso suelo en la región.

4. Hipótesis general

El rolado selectivo de baja intensidad y siembra de *Panicum maximum*, aplicado a bosques secundarios, afecta la calidad y cantidad del carbono del suelo, lo cual sería un factor determinante de la diversidad microbiana en la Región Chaqueña. Las diferentes condiciones ecológicas de las subregiones subhúmeda y semiárida inciden en la magnitud y dirección de los cambios en la calidad del suelo.

Objetivos

1. Objetivo general

Analizar las implicancias del rolado de baja intensidad para la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles en la Región Chaqueña en Santiago del Estero sobre aspectos de la calidad de suelo relacionados con la materia orgánica, la estructura y función de las comunidades microbianas edáficas.

2. Objetivos específicos

- **2.1.** Cuantificar el efecto de la transformación de bosques nativos a sistemas silvopastoriles mediante rolado selectivo de baja intensidad (RBI) sobre las diferentes fracciones de carbono, densidad aparente y pH del suelo a corto (1 año) y mediano plazo (5 años) en dos subregiones del Chaco: semiárida y subhúmeda.
- **2.2.** Describir la influencia de las diferentes coberturas arbóreas en las fracciones de carbono orgánico, densidad aparente y pH del suelo en el bosque y sistema silvopastoril de la subregión semiárida.
- **2.3.** Analizar el efecto del RBI sobre la abundancia y diversidad microbiana del suelo a corto y mediano plazo en dos subregiones del Chaco: semiárida y subhúmeda.
- **2.4.** Describir la influencia de las diferentes coberturas arbóreas en la abundancia y diversidad microbiana del suelo en el bosque y sistema silvopastoril de la subregión semiárida.

- **2.5.** Analizar el efecto del RBI sobre la funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo a corto y mediano plazo en dos subregiones del Chaco: semiárida y subhúmeda.
- **2.6.** Describir la influencia de las diferentes coberturas arbóreas en la funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo en el bosque y sistema silvopastoril de la subregión semiárida.
- **2.7.** Definir un conjunto adecuado de indicadores para el monitoreo de la calidad de los suelos de sistemas silvopastoriles en ambas subregiones chaqueñas.
- 2.8. Tipificar los suelos de acuerdo a los factores que determinan su calidad.

CAPITULO 2 MATERIALES Y METODOS

1. Área de estudio

El estudio se realizó en dos subregiones del Chaco: A) Chaco semiárido y B) Chaco subhúmedo (Figura 2.1)

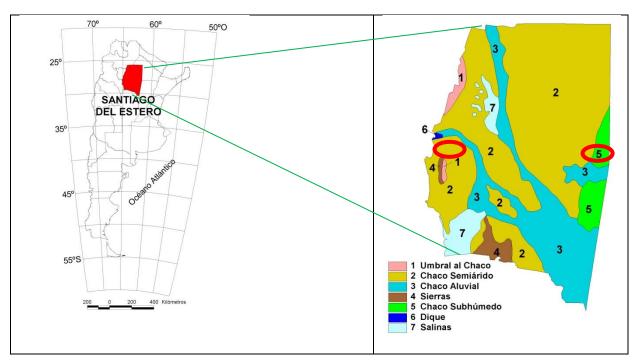


Figura 2.1. Ubicación de los ensayos experimentales. Los óvalos indican la localización de los sitios de muestreo (Fuente Angueira *et al.*, 2007)

Las parcelas experimentales se seleccionaron en posiciones topográficas altas donde, hace mas de un siglo, existieron mayormente los bosques primarios de dos quebrachos (Kunst *et al.*, 2016) y que tuvieran 30 años sin intervención antrópica.

1.1. Chaco Semiárido (SA)

1.1.1. Ubicación

El sitio experimental se encuentra ubicado en el centro- oeste de Santiago del Estero, campo "Ing. Agr. Francisco Cantos" localidad Árraga, Dpto Silípica. E.E.A. INTA Santiago del Estero (28° 3′ S. y 64° 15′ O). La vegetación es un bosque secundario con una densidad promedio de 1.600 leñosas ha⁻¹. Está conformada por las siguientes especies leñosas: *Acacia aroma* Gilles ex Hook &Arn (Tusca), *Acacia furkatispina* Burkart(Garabato), *Schinus sp.* (Molle), *Celtis sp.* (Tala), *Prosopis nigra* Griseb (Algarrobo negro), *Capparis atamisquea* Kuntze (Atamisqui), *Schinopsis lorentzii* Griseb (Quebracho colorado), *Aspidosperma quebracho blanco* Schl(Quebracho blanco), *Ziziphus mistol* Griseb (mistol), *Cercidium australe* Johnston (brea), *Aloysia sp., Tabebuia nodosa* Griseb(huiñaj). Las herbáceas mas frecuentes son *Trichloris crinita*Lag. Parodi, *Setaria leiantha* Hack, *Gouinia sp.* y *Justicia sp.*

1.1.2. Clima

El clima es subcontinental cálido subtropical, aloja un polo de calor sudamericano entendido como el territorio donde las máximas absolutas superan los 47°C. Los rasgos esenciales del termoclima son la gran amplitud térmica asociada a la gran variación estacional. En invierno la entrada de frentes fríos origina heladas en toda la región (Morello *et al.*, 2012). La precipitación promedio anual es 550 mm (Estación meteorológica INTA SDE).

1.1.3. Suelo

1.1.3.1. Rasgos fisiográficos

El sitio en estudio se ubica, regionalmente, en un dilatado espacio geomorfológico denominado *piedemonte distal de las sierras de Guasayán* (Figura 2.2), ambiente transicional entre las sierras mencionadas y la planicie aluvial del río Dulce. La presencia de lomadas extendidas y cañadas de anegamiento transitorio, ambos de rumbo norte-sur, generan relieves muy suavemente ondulados. El gradiente topográfico de oeste a este es inferior al 0,4% (Duffau, 2009).

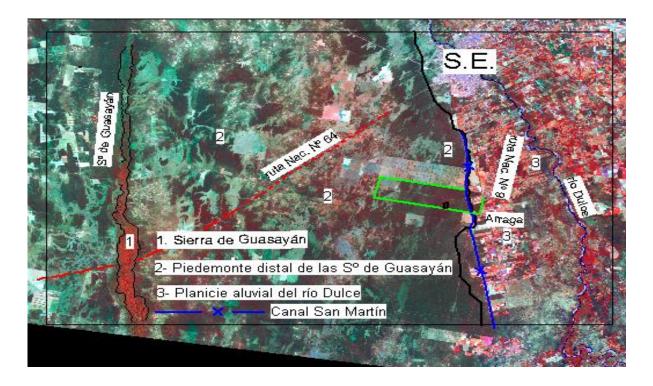


Figura 2.2. Imagen satelital de E.E.A del INTA Santiago del Estero (rectángulo verde) y los ambientes fisiográficos regionales que la circundan (Duffau, 2009).

1.1.3.2. Características morfológicas de los suelos

Los suelos son profundos, bien drenados, que evolucionan a partir de materiales loéssicos en las lomas planas ocupadas por el monte bajo de quebrachos y algarrobos. El perfil descripto presenta horizontes A-AC-C (Fig. 2.3).



Figura 2.3. Perfil típico del plano de loma, del piedemonte distal de las Sierras de Guasayán (Foto Duffau, 2009).

El A, subdividido en A_{11} y A_{12} por diferencias en color y estructura mide 21 cm de espesor; la textura es franca y los agregados forman bloques que difieren en tamaño y grado de cohesión (Tabla 2.1). Una capa de mantillo de 2 cm de espesor se apoya sobre el horizonte A. El AC que se extiende hasta los 38 cm de profundidad, es de estructura masiva asociada a bloques subangulares grandes. Se aprecia en todos estos horizontes abundantes cavidades de insectos, indicador de mesofauna activa y huecos de forma tubular que pertenecían a raíces de plantas superiores (Duffau, 2009).

Los horizontes C son de estructura masiva y similar textura, apreciándose la presencia de CaCO₃ secundario y escasos nódulos de tamaño pequeño con estrías cálcicas en su interior (Duffau, 2009).

Tabla 2.1. Características internas del suelo del sitio semiárido.

Horizonte	Profundidad (cm)	Características
A ₁₁	0-9	Límite claro y suave. Color 7,5 YR 6/3 en seco; 7,5 YR 4/4 en húmedo. Textura franco-franco limoso. Estructura granular y en bloques subangulares, blando a ligeramente duro. No plástico y no adhesivo. Sin CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Abundante presencia de raíces. Baja estabilidad estructural.
A ₁₂	9-21	Limite claro. Color 7.5 YR 7/3 (en seco); 7.5 YR 5/4 (en húmedo). Textura franco- franco limoso. Estructura en bloques subangulares, blando a ligeramente duro. No plástico y no adhesivo. Sin CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Abundante presencia de raíces.
AC	21-38	Limite claro y suave. Color 7.5 YR 7/4 (en seco); 7.5 YR 6/4 (en húmedo). Textura franco- franco limoso. Estructura en bloques subangulares, blando. No plástico y no adhesivo. Sin CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Abundante presencia de raíces.
C ₁	38-66	Limite claro y suave. Color 7.5 YR 7/6 (en seco); 7.5 YR 6/8 (en húmedo). Textura franco- franco limoso. Estructura masiva en bloques. No plástico y no adhesivo. Presencia de CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Moderada presencia de raíces.
C ₂	Mas 66	Limite claro. Color 7.5 YR 7/6 (en seco); 7.5 YR 7/8 (en húmedo). Textura franco- franco limoso. Estructura masiva grano suelto. No plástico y no adhesivo. Presencia de CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Presencia de raíces.

1.1.3.3. Propiedades físicas y químicas

Hasta los 30 cm de profundidad el suelo descripto tiene buena estructura, caracterizada por agregados de tamaño medio a grandes. Cuando se los perturba en estado seco, se genera abundante cantidad de agregados inferiores a un milímetro. El ensayo cualitativo de estabilidad de agregados realizado a campo demostró buena resistencia al efecto hidratante del agua al no producirse el estallido del mismo conservando su forma una hora después de su inmersión. El mismo ensayo realizado en laboratorio utilizando el método de De Boodt y De Leenher no presentó diferencias apreciables en el diámetro medio ponderado y el índice de estabilidad estructural para los horizontes A_{11} y A_{12} demostrando una buena estabilidad en condiciones naturales, aunque en el A_{12} se encontró mayor cantidad de agregados pequeños (Duffau, 2009).

La densidad aparente es muy baja en los horizontes superficiales (Tabla 2.2), como así también en el AC, por lo que la porosidad total es elevada, manifestándose el predominio de macroporos sobre los microporos, a la vez que los valores de permeabilidad al agua se estiman como moderadamente rápidos (velocidad de percolación entre 6,25 y 12,5 cm h⁻¹) (Duffau, 2009).

Tabla 2.2. Propiedades del suelo correspondiente al área de estudio en la subregión de Chaco semiárido.

Horizonte	A ₁	A_2	AC
Densidad aparente (g cm ⁻³)	0,92	0,97	1,23
Porosidad total (%)	65,30	63,40	53,60
pH	6,50	7,00	7,15
CE (dS m ⁻¹)	0,4	0,75	0,82
Carbono orgánico total (g C kg ⁻¹)	17,00	8,01	0,58
Nitrógeno total (g N kg ⁻¹)	1,70	-	-

1.2. Chaco Subhúmedo (SH)

El sitio experimental se encuentra ubicado en el centro este de Santiago del Estero, Dpto Juan F. Ibarra, Campo "Jagüel Pampa" (27° 56′S y 62° 18′O) (Fig. 2.4). La vegetación es un bosque secundario con una densidad promedio de 1350 leñosas ha-1, dominado por especies leñosas arbustivas: *Acacia praecox* Griseb. (Garabato), *Celtis sp.* (Tala), *Schinus sp.* (Molle) y arbóreas: *Aspidosperma quebracho blanco* Schl. (Quebracho blanco), *Caesalpinia paraguarienses* (D. Parodi) Burkart (Guayacán), *Cercidium praecox* (Ruiz & Pavon) Harms = *Parkinsonia praecox* (Ruiz & Pavon) Hawkins (Brea).



Figura 2.4. Imagen satelital del Campo "Jagüel Pampa" (rectángulo rojo) y los ambientes fisiográficos regionales que lo circundan. Fuente: Google Earth.

1.2.1. Clima

El clima es subcontinental cálido subtropical, aloja un polo de calor sudamericano entendido como el territorio donde las máximas absolutas superan los 47°C. Los rasgos esenciales del termoclima son la gran amplitud térmica asociada a la gran variación estacional. En invierno la entrada de frentes fríos origina heladas en toda la región (Morello *et al.*, 2012). Las precipitaciones oscilan entre 600 y 700 mm anuales (Prieto *et al.*, 2006).

1.2.2. Suelo

1.2.2.1. Rasgos fisiográficos

El sitio en estudio se ubica dentro de una extensa región geomorfológica denominada llanura nororiental suavemente ondulada. Estas ondulaciones son producto de antiguas manifestaciones geológicas que por lo general, están orientadas de norte a sur. Los componentes fisiográficos menores están representados en el terreno por lomas de poca altura, de ligera convexidad que generan pendientes largas, de suave a moderado gradiente, y por bajos que son de extenso recorrido subdendrítico, de baja densidad (Gallizzi *et al.*, 1995).

1.2.2.2. Características morfológicas

Los suelos (Fig. 2.5) evolucionaron a partir de material loéssico. El relieve es normal, posición loma-media loma alta y la pendiente menor a 1%.



Figura 2.5. Perfil Típico de suelos de lomas en ambientes del centro- este de la provincia de Santiago del Estero.

El suelo presenta rápida permeabilidad, buen drenaje, sin peligro de anegamiento y sin riesgo de erosión por que el suelo presenta 100% de cobertura vegetal. La profundidad de la napa es mayor a 3 m.

Tabla 2.3. Características internas del suelo del sitio subhúmedo.

Horizonte	Profundidad (cm)	Características		
A ₁	0-20	Límite claro y suave, color 7.5 YR 4/2 en seco, 7.5YR 3/2 en húmedo. Textura franco limoso. Estructura en bloques subangulares, gruesa y débil. No plástico y no adhesivo. Sin CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Presencia muy abundante de raíces.		
A ₂	20-33	Límite claro y suave. Color 7.5 YR 5/3 en seco, 7.5 YR 3/3 en húmedo. Textura franco limoso. Estructura en bloques subangulares, gruesa y débil. No plástico y no adhesivo. Sin CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Presencia muy abundante de raíces.		
AC	33-50	Límite claro suave. Color 7.5 YR 5/4 en seco, 7.5 YR 3/4 en húmedo. Textura franco limoso. Estructura en bloques subangulares, gruesa y débil. No plástico y no adhesivo. Sin CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Presencia frecuente de raíces.		
C ₁	50-70	Límite claro y suave. Color 7.5 YR 6/4 en seco, 7.5 YR 4/4 en húmedo. Textura franco limoso. Estructura masiva. No plástico y no adhesivo. Sin CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Escasa presencia de raíces.		
C ₂	70-85	Límite claro y suave. Color 7.5 YR 7/4 en seco, 7.5 YR 5/4 en húmedo. Textura franco limoso. Estructura masiva. No plástico y no adhesivo. Presencia de concreciones y escaso CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Muy escasa presencia de raíces.		
C ₃	85-110	Límite claro y suave. Color 7.5 YR 7/4 en seco, 7.5 YR 5/4 en húmedo. Textura franco limoso. Estructura masiva. No plástico y no adhesivo. Presencia de concreciones y abundante CaCO ₃ . Sin moteados. Seco. Muy escasa presencia de raíces.		

Los suelos son poco desarrollados con una secuencia de horizonte A-AC-C (Tabla 2.3). El horizonte A de 33 cm de espesor es de textura franco limoso con alto contenido de materia orgánica y pH débilmente ácido (Tabla 2.4). La estructura se ordena en bloques subangulares y es favorecido por una abundante distribución de raíces de árboles, arbustos y herbáceas. La presencia de CaCO₃ se detecta a partir de los 70 cm.

Son suelos fértiles con buen contenido de materia orgánica y sin limitaciones por salinidad en todo el perfil.

Tabla 2.4. Propiedades físicas y químicas del suelo del sitio subhúmedo.

Horizonte	A1	A2	AC	C1
Densidad aparente (g cm ⁻³)	0,96	1,02	1,06	1,10
Porosidad total (%)	63,25	60,70	59,20	58,80
рН	6,5	6,8	6,9	7,2
CE (dS m ⁻¹)	0,72	0,71	0,73	0,80
Carbono orgánico total (gC kg ⁻¹)	20	12	2,5	0,3
Nitrógeno total (gN kg ⁻¹)	2,5	1,5	0,9	0,6

2. Factor uso del suelo

T. Testigo. Bosque nativo secundario con 1600 y 1350 leñosas ha⁻¹para el ensayo semiárido y subhúmedo respectivamente y producción de forraje herbáceo menor a 1.000 kg

ha⁻¹ (Fig. 2.6 y 2.8). La densidad de árboles (individuos ha⁻¹) en el ensayo semiárido es: 111 (quebracho blanco), 41 (quebracho colorado) y 22 (mistol); y en el ensayo subhúmedo es 105 (Quebracho blanco), <1 (Quebracho colorado) y <1 (Mistol).

SP1. Sistema silvopastoril de un año habilitado por RBI (rolado selectivo de baja intensidad). Dos pasadas de rolo en 45° y siembra de *Panicum maximun cv Gatton panic* (5 kg ha⁻¹) en la época estival, con un pastoreo controlado por año (1,1 EV ha⁻¹). La densidad de árboles (individuos ha⁻¹) en el ensayo semiárido es: 142 (quebracho blanco), 53 (quebracho colorado) y 27 (mistol); y en el ensayo subhúmedo es 113 (quebracho blanco), <1 (quebracho colorado) y <1 (mistol).

SP5. Sistema silvopastoril de cinco años habilitado por RBI (rolado selectivo de baja intensidad). Dos pasadas de rolo en 45° y siembra de *Panicum maximun cv Gatton panic* (5 kg ha⁻¹) en la época estival, con un pastoreo controlado por año (1,1 EV ha⁻¹) (Fig. 2.7 y 2.9). La densidad de árboles (individuos ha⁻¹) en el ensayo semiárido es: 136 (quebracho blanco), 40 (quebracho colorado) y 25 (mistol); y en el ensayo subhúmedo es 126 (quebracho blanco), <1 (quebracho colorado) y <1 (mistol).



Figura 2.6. Bosque secundario. Ensayo INTA EEA Sgo del Estero (semiárido).



Figura 2.7. Sistema silvopastoril de 5 años. Ensayo INTA EEA Sgo del Estero.



Figura 2.8. Bosque secundario. Campo Jagüel Pampa (Subhúmedo).



Figura 2.9. Sistema silvopastoril de cinco años. Campo Jagüel Pampa.

3. Factor cobertura arbórea (sólo para sitio semiárido)

- Qc. Suelo bajo la cobertura de quebracho colorado (Fig. 2.10).
- **Qb.** Suelo bajo la cobertura de quebracho blanco (Fig. 2.11)
- M. Suelo bajo la cobertura de mistol (Fig. 2.12).

En el sitio subhúmedo, las parcelas que cumplían con las condiciones de posición topográfica y años sin intervención antrópica, presentaban alta densidad de quebracho blanco y escasa densidad de quebracho colorado y mistol. En cambio en el sitio semiárido las tres especies arbóreas con mayor densidad fueron quebracho blanco, quebracho colorado y mistol, que son las especies más dominantes en bosques de sitios altos de la región (Kunst *et al.*, 2016). Por lo mencionado anteriormente, se estudió el efecto de las diferentes coberturas arbóreas sólo en el sitio semiárido.



Figura 2.10. Quebracho colorado



Figura 2.11. Quebracho blanco



Figura 2.12. Mistol

4. Diseño experimental y Muestreo de suelo

Se llevó un experimento factorial con diseño completamente aleatorizado con dos sitios, tres usos del suelo, dos estaciones y tres repeticiones. En el sitio semiárido se adicionó el factor cobertura representado por tres niveles. Cada unidad experimental (parcela) mide 10000 m². La superficie del ensayo de cada sitio es 90000 m² (9 parcelas por sitio). La toma de muestras se realizó a una profundidad de 0- 0,15 m, durante la estación de crecimiento de las pasturas (estival) y en la época invernal. Los muestreos se llevaron a cabo en agosto de 2012 y marzo de 2013 en parcelas roladas en 2011 (1 año) y en 2007 (5 años).

En cada unidad experimental se realizaron cinco puntos de muestreo a lo largo una transecta de 100 m aproximadamente. En cada punto de muestreo se tomó una submuestra de suelo (para formar una muestra compuesta de cinco submuestras) bajo de la cobertura de los árboles y a su vez bajo la canopia de Gatton panic (Fig. 2.13). En cada punto de muestreo del sitio semiárido se muestrearon bajo la cobertura de Qc, Qb y M; mientras que en el sitio subhúmedo se muestreó sólo bajo la cobertura de Qb.

La diversidad microbiana, debido al costo de determinación y al tiempo que demanda, se evaluó solo en la estación de crecimiento que coincide con la época de precipitaciones. Las demás variables se evaluarán en ambas estaciones.

Las muestras de suelo recolectadas se mantuvieron en conservadoras con enfriadores hasta su traslado al laboratorio. Luego fueron tamizadas por 2 mm y se fraccionó en dos partes, una se secó al aire para los análisis químicos y la otra se conservó a 4 °C para las extracciones de ADN y demás determinaciones microbiológicas.

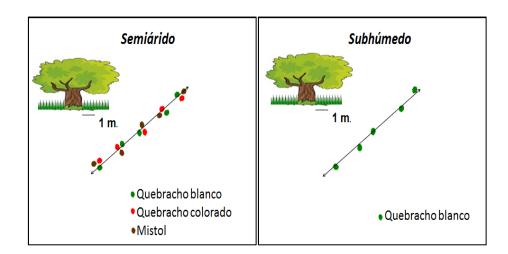


Figura 2.13. Representación esquemática del muestreo de suelo en cada unidad experimental en cada sitio. Cada cuadro representa un área de 10000m².

5. Variables evaluadas

5.1. Densidad aparente y pH actual

La densidad aparente se determinó con el método del cilindro y se expresó en g cm⁻³ (Page, 1982). El pH actual se determinó con potenciómetro en suspensión suelo:agua (1:2,5 p/v) (IRAM 2009)

5.2. Fracciones de carbono orgánico del suelo

5.2.1. Carbono orgánico total (COT)

Se determinó por espectrofotometría a 590 nm (Nelson & Sommers, 1982). 0.5 g de suelo se mezclaron con 0.5 g $K_2Cr_2O_7$ y 7.5 ml de H_2SO_4 , se colocó en estufa a $120^{\circ}C$ durante 90 minutos. Se enrasó a 50 mL con matraz, se midió absorbancia a 590 nm previa centrifugación

de una alícuota de 20 mL. Los resultados se expresaron en g C kg $^{-1}$ suelo, determinados a partir de una curva patrónde $C_4H_4KNaO_6.4H_2O$.

5.2.2. Carbono orgánico asociados a limos y arcillas (COA)

Se define como "la fracción de la materia orgánica del suelo asociada a la fracción mineral (limos y arcillas) y soluble en agua"; es limitada por tamaños de tamices por debajo de los 53 µm y es separada del suelo por dispersión en hexametafosfato de sodio (Cambardella & Elliott, 1992).

50~g de suelo seco tamizado por $2000~\mu m$ se dispersaron en 150~mL de hexametafosfato de sodio $(5~g~L^{-1})$ y se agitaron durante 15~h en un agitador, luego se tamizó por malla de $53~\mu m$ y el líquido se evaporó en estufa de aire forzado a $50^{\circ}C$, una vez seca se molió en mortero.

Se analizó el carbono orgánico en la fracción de tamaño menor a 53 μ m según el método descripto en COT. Se realizaron tres blancos en paralelo. Los resultados se expresan en $\,g$ C $\,kg^{-1}$ de suelo seco.

5.2.3. Fracción particulada del carbono orgánico (COP).

Es la fracción comprendida entre diámetros de 2000 y 53 μm. Incluye a la fracción ligera y a la intermedia de la materia orgánica del suelo, es decir aquella asociada a los macroagregados pequeños y microagregados (Cambardella & Elliot, 1994)

Se calcula por diferencia entre el carbono orgánico total del suelo y la fracción < 53 μm (Cambardella & Elliott, 1992). Los resultados se expresan en gC kg⁻¹ de suelo seco. Para calcular la fracción particulada se consideró el fraccionamiento granulométrico determinado con el método de Bouyoucos modificado (Storie,1970; Forsythe, 1975).

5.2.4. Carbono potencialmente mineralizable (C_0) y tasa de mineralización del C (k_c).

Fueron estimados a partir de la demanda bioquímica de oxígeno con el sistema comercial *Oxitop (WTW*, Weilheim, Germany) (Fig. 2.13), que determina los cambios manométricos que ocurren en un sistema hermético cuando el oxígeno es consumido para transformar carbono orgánico en CO₂. Las lecturas se registraron durante 14 días a intervalos constantes de 1 h y se usaron para calcular las curvas de demanda bioquímica de oxígeno. Éstas fueron transformadas en curvas de acumulación de CO₂ y los valores medios acumulados (expresados en mg C-CO₂ kg⁻¹ suelo) durante ese periodo se ajustaron al modelo:

$$C_t = C_0^* (1 - e^{-kc^*t})$$

donde C_t es cantidad acumulada de C, t tiempo en días y las constantes del modelo se interpretan C_0 como la máxima cantidad de carbono potencialmente mineralizable por la actividad respiratoria de la microflora heterótrofica aeróbica, k_c la constante de mineralización (Albanesi *et al.*, 2003). Los resultados de C_0 se expresaron en mg C- CO_2 kg^{-1} y de k_c en mg C- CO_2 kg^{-1} día $^{-1}$.



Figura 2.14. Sistema oxitop utilizado para medir la demanda bioquímica de oxígeno.

5.3. Estructura de las comunidades microbianas del suelo

5.3.1. Cuantificación de microorganismos cultivables

La cuantificación se realizó mediante las técnicas microbiológicas clásicas descritas por Schinner *et al.* (1996).

5.3.1.1. Bacterias heterótrofas aerobias

Se suspendió una cantidad de suelo fresco equivalente a 1 g de suelo seco tamizado por 2 mm, en 9 ml de solución fisiológica $(8,5 \%_o)$ (10^{-1}) . Se prepararon diluciones hasta 10^{-5} . Se sembraron por triplicado en cajas de Petri conteniendo medio Agar de soja Tríptica (Tripteína 15g; Peptona de soja 5g; NaCl 5g; Agar 15g; pH 7,3 ± 0,2). Se incubaron durante 24 h a 30°C. Los resultados se expresaron en \log_{10} UFC g^{-1} suelo.

5.3.1.2. Bacterias celulolíticas

Se suspendió una cantidad de suelo fresco equivalente a 1 g de suelo seco tamizado por 2 mm, en 9 ml de solución fisiológica (8,5 %_o) (10⁻¹). Se prepararon diluciones hasta 10⁻⁵. Se sembraron por triplicado en cajas de Petri conteniendo medio selectivo para celulolíticos (1-Carboximetil celulosa 10g; K₂HPO₄ 1,67g; KH₂PO₄ 087g; NaCl 0,05g; MgSO₄.7H₂O 0,1g; CaCl₂ 0,04; FeCl₃ 0,004g; NaMoO₄.2H₂O 0,005g; biotina 0,01g; ácido nicotínico 0,02 g; ácido pantoténico 0,01g; NH₄Cl 1g; Agar 15g; cicloheximida; pH 7). Se incubaron durante 24 h a 30°C. Los resultados se expresaron en log₁₀UFC g⁻¹suelo.

5.3.1.3. Hongos

Se suspendió una cantidad de suelo fresco equivalente a 1 g de suelo seco tamizado por 2 mm, en 9 mL de solución fisiológica (8,5 %_o) (10^{-1}). Se prepararon diluciones hasta 10^{-3} . Se sembraron por triplicado en cajas de Petri conteniendo medio Agar Sabouraud glucosado (pluripeptona 10g; glucosa 40g; cloranfenicol 0,05g; Agar 15g; pH 5,6 ± 0,2). Se incubaron durante 24 h a 30°C. Los resultados se expresaron en \log_{10} UFC g⁻¹suelo.

5.3.2. Glomalinas

Las glicoproteínas conocidas como proteínas del suelo relacionadas a glomalinas (en adelante glomalinas) es producida por hifas y esporas de hongos micorrícicos arbusculares del suelo. Estas glicoproteínas son generalmente fraccionadas en glomalina total y fácilmente extraíble. Es conocido que las glomalinas podrían incrementar la estabilidad del carbono orgánico del suelo y su función adhesiva podría promover la formación de agregados y por lo tanto mejorar la calidad del suelo. Sin embargo la variación composicional durante el cambio de usos del suelo ha sido raramente estudiada hasta el momento, aunque estos datos son importantes para una comprensión funcional de los hongos micorrícicos arbusculares en el mantenimiento del suelo (Wang et al., 2015).

Se realizó la extracción en varios pasajes con citrato de sodio y centrifugación. La determinación de proteína se realizó por el método de Bradford (1976), el mismo está basado en el cambio de color del colorante azul brillante de coomasie G-250 en respuesta a diferentes concentraciones de proteínas. Este compuesto interacciona con aminoácidos básicos (especialmente arginina) y aromáticos. Esta unión del colorante con las proteínas provoca un cambio en el máximo de absorción del colorante desde 465 a 595 nm. Por lo tanto, este método se basa en la propiedad del azul brillante de coomasie G-250 de presentarse en dos formas con colores diferentes, rojo y azul. La forma roja se convierte en azul cuando el colorante se une a la proteína.

Se mezclaron en vortex 1g de muestra seca al aire tamizada por 2 mm con 8 mL de citrato de sodio 20 mM (pH=7). Se llevó a autoclave 30 min. a 121°C y posteriormente se centrifugó a 5000 xg durante 15 min. Se removió el sobrenadante que contiene la glomalina fácilmente extraíble (GFE) y se almacenó a 4°C. El suelo remanente se mezcló con 8 mL de citrato de sodio 50mM (pH=8) se llevó a autoclave 60 min. a 121°C. Se centrifugó a 5000xg durante 10 min. Se repitió la extracción cuatro veces para extraer la glomalina total (GT).

Cuantificación: en un tubo de 2 mL se mezclaron 200 μ L del extracto que contiene las glomalinas y 200 μ L de NaOH 1 N. Se colocaron los tubos en agua caliente ebulliendo, durante cinco minutos. Una vez enfriado se agregaron 400 μ L de HCl 0,5 N y 200 μ L del reactivo de Bradford. Se realizaron las lecturas de absorbancia en espectrofotómetro a 595 nm. Los resultados se expresaron en mg de glomalina g⁻¹ de suelo (Wright & Upadhyaya, 1996).

5.3.3. Carbono de la biomasa microbiana (Cbm)

Se determinó por el método de fumigación extracción (Albiach *et al.*, 2003). 7,5 g de suelo se incubaron con 2,5 mL de agua destilada en estufa a 30°C durante 15 h. Se fumigaron con 0,4 mL de cloroformo libre de etanol durante 0,5 h. Paralelamente se prepararon blancos sin fumigar. Se realizó la extracción con 30 mL de K₂SO₄ 0,5 M durante 1 h en agitador. Se centrifugó a 2000 rpm durante 0,25 h y se filtró. 4 mL de extracto fueron digeridos con 1 mL de K₂Cr₂O₇ 0.0667 M y 4 mL de H₂SO₄. La digestión se llevó a cabo en estufa a 140 °C durante 0,5 h. Se cuantificó por espectrofotometría a 590 nm, se calculó utilizando una curva patrón de glucosa y un kc de 0,35. Los datos se expresaron en μg C g⁻¹ de suelo. Se consideró a este parámetro como la abundancia total de microorganismos (cultivables y no cultivables).

5.3.4. Diversidad de comunidades microbianas

El estudio de diversidad microbiana estuvo dirigido a la comunidad total, es decir tanto microorganismos cultivables como no cultivables. Por lo tanto la metodología empleada hizo

uso del análisis del ADN presente en las muestras de suelo. Hay una variedad de métodos moleculares publicados para el estudio de diversidad microbiana en muestras ambientales basados en el estudio del gen codificante del ARN ribosomal (ADNr) (van Elsas et al., 2011). Sin embargo ninguno de los métodos publicados hasta el momento es universalmente aplicado debido a las ventajas y desventajas de cada uno de ellos. Los "fingerprint" son los que presentan mayores ventajas en cuanto al costo y tiempo que demanda su análisis y a su vez garantizan buena calidad en los resultados. Dos métodos "fingerprint" ampliamente usados en microbiología de suelos son ADNr-DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) y ADNr-TRFLP (Terminal Restriction Fragment Lenght Polymorphism) (Hartman et al., 2005; Brodie et al., 2003; Andretta et al., 2012; Zaho et al., 2012; Cubillos et al., 2016). Sin embargo la sensibilidad para detectar cambios en la estructura de las comunidades microbianas generalmente difiere entre ellos (Brodie et al., 2003) dado que van dirigidas a diferentes regiones del gen ADNr. Es por ello que en este estudio se utilizaron ambas metodologías.

Como primera etapa se requirío la puesta a punto de la extracción de ADN de suelo y la amplificación por PCR para diferentes cebadores.

5.3.4.1. Extracción de ADN

Se realizó la extracción con los kits: Fast DNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals); Power soil DNA isolation kit (MO BIO) y NucleoSpin soil kit (Macherey- Nagel) de acuerdo al protocolo de cada fabricante. Se obtuvieron resultados satisfactorios, en base a la exitosa amplificación para cebadores de interés, solo con el kit NucleoSpin soil kit (Macherey- Nagel). Se realizó la extracción de ADN de suelo con este último kit usando 0,25 g de muestra fresca de acuerdo al protocolo del fabricante de NucleoSpin soil kit (Macherey- Nagel). Los rendimientos obtenidos oscilaron entre 4,4 y 6,9 μg ADN g ⁻¹ suelo, valores que se ubican dentro del rango informado por el fabricante (2 – 10 μg).

5.3.4.2. Electroforesis en gel en gradiente desnaturalizante (DGGE)

5.3.4.2.1. Diversidad de bacterias: DGGE ADNr 16S

La primera PCR fue llevada a cabo con 25 ng ADN en un volumen de 50 μ L conteniendo buffer PCR 1X, MgCl₂ 1.5 mM, dNTPs 0.2 μ M de cada uno, primer fD1 (5′- AGA GTT TGA TCC TGG CTC AG - 3′) 0,08 μ M, primer rD1 (5′- AAG GAG GTG ATC CAG CC - 3′) 0,08 μ M, Taq polimerasa 1,25 U. La amplificación por PCR fue realizada en *Eppendorf Mastercycler Gradient* con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95°C 5 min seguido de 35 ciclos con desnaturalización a 95 °C 30 s, *annealing* 55 °C 30 s y extensión a 2 °C 2 min. Luego una extensión final a 72 °C 5 min.

La electroforesis en gel en gradiente desnaturalizante se llevó a cabo usando el sistema D-code Bio-Rad. Los productos de PCR de 200pb fueron cargados en un gel de poliacrilamida 8% de 1 mm en TAE 1X. Se usó un gradiente 40-60%.

La electroforesis se llevó a cabo durante 16hs a 70V. Los geles fueron teñidos 1 h con SYBR Safe (Invitrogen). La visualización se realizó en Gel Doc XR+(Bio-Rad). Se realizó el

análisis de los perfiles usando el software Bionumerics 6.0. La riqueza (r) fue determinada por la presencia o ausencia de las bandas en el gel.

5.3.4.2.2. Diversidad de hongos: DGGE ADNr 18S

Para el análisis de diversidad de hongos se utilizó el protocolo descripto previamente por Brodie et al. (2003). El ADN fue amplificado por PCR anidada. La primera ronda involucra la amplificación de un fragmento de aproximadamente 1400-pb del gen ADNr 18S usando los primers EF4 (5'- GGA AGG GRT GTA TTT ATT AG - 3') y EF3 (5'- TCC TCT AAA TGA CCA AGT TTG - 3'). Los productos de la reacción se diluyeron 1:500 con agua estéril y fueron usado como templado para la subsecuente ronda de PCR con los primers EF4 (5'- GGA AGG GRT GTA TTT ATT AG - 3') y NS3-GC (5'- CGC CCG CCG CGC CCC GCG CCC GGC CCG CGC CCC CGC CCC GGC TGC TGG CAC CAG ACT TGC - 3') resultando en un producto de PCR de 500 pb aproximadamente. Las reacciones de PCR se llevaron a cabo en un volumen de 50 μL conteniendo 1,25 mM MgCl₂, 15 pmol de cada primer, 200 μM de cada dNTPs, 25 ng de ADN y 2,5 U de Taq ADN polimerasa.Las condiciones para la PCR inicial (EF4-EF3) fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 94°C durante 3 min. y 40 ciclos de desnaturalización a 94°C 1 min., annealing a 50°C 1 min., extensión a 72°C 2 min. y una extensión final a 72°C 10 min. Las condiciones para la segunda PCR (EF4- NS3GC) fueron: desnaturalización inicial a 94°C 3 min., 10 ciclos de desnaturalización a 94°C 1 min., annealing a 60°C 1 min. (con reducción de 1°C en cada ciclo), extensión a 72°C 1 min., 15 ciclos de desnaturalización a 94°C 1 min., annealing a 50°C 1 min., extensión a 72°C 2 min., y una extensión final a 72°C 5 min. Los productos de PCR de tamaño correcto fueron confirmados por electroforesis en gel de agarosa (1%). Las muestras fueron analizadas por DGGE usando gel de poliacrilamida (10%) y un gradiente 30-45% desnaturalizante (100% desnaturalizante es equivalente a 7M de urea y 40% v/v de formamida desionizada. La polimerización se logró por adición de persulfato de amonio y TEMED (N,N,NP,NP-tetra-methyl-ethylene diamine). El gradiente fue formado usando BIO-RAD 385 Model Gradiente Former y una bomba peristáltica. La electroforesis se llevó a cabo por 17 hs a 85 V en buffer TAE 1X a temperatura constante de 60°C. Los geles fueron

teñidos con SYBR Safe (Invitrogen) durante 1h. La imagen fue digitalizada con GelDoc[™] XR+ (BIO-RAD) y analizada con software Bionumerics 6.0.

5.3.4.3. Análisis de polimorfismos de longitud de fragmentos terminales de restricción (TRFLP).

TRFLP es otro método basado en PCR, que es utilizado comúnmente para análisis comparativos de comunidades microbianas. Los genes de interés son amplificados con *primers* marcados con fluorescencia seguidos de la digestión con enzimas de restricción, separación y detección de los fragmentos en un secuenciador automático. Solo los fragmentos terminales de restricción (TRFs) son detectados y visualizados en un electroferograma, donde el número de fragmentos y la heterogeneidad en la altura de los picos indican la complejidad de la comunidad. TRFLP es típicamente llevado a cabo en un gel de secuenciación, que provee alta resolución, sensibilidad, cuantificación, alto rendimiento, tamaño exacto de fragmentos por uso de marcadores de tamaño estándares. El uso de marcadores de tamaño estándar con un fluoróforo diferente, permite una asignación de tamaño precisa con resolución de un par de base (Juste *et al.*, 2008; Stefanis *et al.*, 2013).

5.3.4.3.1. Diversidad de bacterias: TRFLP ADNr 16S

La PCR se llevó a cabo con 25 ng de ADN en un volumen de 50 μL conteniendo buffer PCR 1X, MgCl₂ 1,5 mM, dNTPs 0,2 μM de cada uno, primer 27f (5′-/56-FAM/GAG AGT TTG ATC CTG GCT CAG- 3′) 0,08 μM, primer 1495r (5′- CTA CGG CTA CCT TGT TAC GA -3′)0,08 μM, Taq polimerasa 1,25 U. La amplificación por PCR fue realizada en *Eppendorf Mastercycler Gradient* con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 95°C 5 min seguido de 35 ciclos con desnaturalización a 95°C 30s, *annealing* 55°C 30s y extensión a 72°C 2 min. Luego una extensión final a 72°C 5 min.

Los productos de PCR (1500 pb) se detectaron por electroforesis en gel 0,8% 70V 1h.

Los productos de PCR fueron digeridos separadamente usando dos enzimas, HaeIII y cfoI. La digestión se llevó a cabo con 5 U de cada enzima, 2 μ I de buffer 10X; 0,2 μ I de BSA acetilada, 1 μ g ADN y H_2O destilada estéril para ajustar a un volumen final de 20 μ I. las condiciones de digestión fueron 4 h a 37°C. Luego se inactivaron las enzimas 25 min a 65 °C. Todas las enzimas y reactivos empleados son Promega. La separación y detección de los productos de digestión se realizó en agarosa Metaphor 3% durante 2 h a 60V.

El análisis de los fragmentos terminales de restricción (TRFs) fue realizado en la Unidad de Genómica del Instituto de Biotecnología – INTA Castelar en secuenciadores de capilares (modelo ABI3130xl - Applied Biosystems) con protocolos optimizados para terminadores fluorescentes. Los perfiles fueron producidos usando el software Peak Scanner (Applied Biosystems). Se consideraron solo las posiciones entre 50 y 500pb y se fijó el umbral de detección en 50 unidades de intensidad de fluorescencia. Los datos de tamaños de fragmentos e intensidad de fluorescencia fueron exportados en un archivo Excel. Seguidamente se realizó el procesamiento de los datos de acuerdo a Smith et al. (2005). Inicialmente los perfiles replicados de la misma muestra son comparados y usados generar un perfil consenso usando T-Align (http://inismor.ucd.ie/~talign/). El perfil consenso solo contiene los TRFs que están presentes en ambas replicas. En una segunda etapa se compararon todos los perfiles consenso y se generó un archivo conteniendo todos los TRFs y su intensidad de fluorescencia relativa. Cuando los fragmentos difirieron en 1pb o menos se consideraron iguales. Éste último archivo fue usado para el análisis de conglomerados y para el cálculo del índice de Shannon (Shannon & Weaver, 1949). La riqueza (r) fue determinada por la presencia o ausencia de las bandas de T-RFs en el electroferograma y el índice de diversidad de Shannon (H') fue determinado usando la siguiente fórmula:

$$H' = -\sum (pi)(\ln pi)$$

Donde, pi es la abundancia (altura) relativa de los picos de los T-RFs.

5.3.4.3.2. Diversidad de hongos: TRFLP ADNr 18S

PCR con primers marcados con flourescencia del ADNr 18S. En el procedimiento TRFLP se utilizaron los primers nu-SSU-0817-5′ (5′- /56-FAM/ TTA GCA TGG AAT AAT RRA ATA GGA - 3′) y nu-SSU-1536-3′ (5′- ATT AGC AAT GCY CTA TCC CCA - 3′) para amplificar la región ADNr 18S (Brodie *et al.*, 2003). La PCR se llevó a cabo con 25 ng de ADN en un volumen de 50 μL conteniendo buffer PCR 1 X; MgCl₂ 1,5 mM; dNTPs 0,2 μM de cada uno; nuSSU 0817 0,3 μM; nuSSU 1536 0,3 μM; Taq polimerasa 2,5 U. La reacción se llevó a cabo en *Eppendorf Mastercycler Gradient* con las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 94 °C 2 min; seguido de 45 ciclos de desnaturalización a 94 °C 1min, *annealing* 56 °C 2 min, extensión a 72 °C 1,5 min. Finalmente una extensión final a 72°C 5 min. Los productos de PCR de tamaño correcto fueron confirmados por electroforesis en gel de agarosa 1% a 70V durante 1h.

Para el análisis de los datos se siguió el procedimiento descrito en TRFLP ADNr 16S.

5.4. Funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo

5.4.1. Actividad deshidrogenasa (Dhasa)

Se determinó por reducción de TTC (2,3,5 cloruro de tetrazolio) a TPF (trifenil formazán) y cuantificación colorimétrica. Se mezclaron 0,5 g suelo con 0,01 g CaCO₃, 0,1 mL de TTC 3% y 0,25 mL de agua destilada. Se incubaron en baño termostatizado a 37°C durante 24 h. Se realizó la extracción del TPF agregando 10 mL de etanol y agitando vigorosamente durante 1 min. Se filtraron las muestras con papel de filtro y se cuantificó por espectrofometría a 485 nm con base en una curva patrón construida con TPF (Tabatabai, 1994).

5.4.2. Actividad β-glucosidasa (β-asa)

Se determinó mediante la estimación colorimétrica del p-nitrofenol liberado por la acción de la β - glucosidasa después de incubar el suelo con β -D-glucopiranósido en medio tamponado pH 6. Se incubó 1g de suelo en 6 mL de tampón MUB pH 6 (*Modified Universal Buffer*) y 1 mL de p-nitrofenil β -D-glucopiranósido 25 mM. Se incubó 1h a 37°C en baño termostatizado. Se adicionó 1 mL de CaCl₂ 0,5 M y 4 mL de THAM- NaOH pH 12 para extraer el p-nitrofenol. Se cuantificó por espectrofotómetría a 400 nm. Paralelamente se prepararon controles, añadiendo el sustrato luego de la incubación, y antes de la extracción (Jimenez de Ridder & Bonmatí Pont, 2003)

5.4.3. Hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA)

Se determinó mediante la estimación colorimétrica de la fluoresceína liberada cuando se incuban muestras de suelo con diacetato de fluoresceína. Se mezclaron 1g de suelo (< 2 mm) con 7,5 mL de buffer fosfato pH 7,6 (60 mM) y 0,1 mL de FDA (diacetato de fluoresceína 1000 µg mL⁻¹). Paralelamente se preparon blancos sin FDA. Se incubaron con agitación a 30°C durante 20 min. Se añadieron 7,5 mL de cloroformo: metanol (2:1) inmediatamente para detener la reacción. Se centrifugó a 2000 rpm durante 3 min y se filtró. Se realizaron las lecturas a 490 nm en espectrofotómetro de microplacas (96 contenedores) usando un volumen de 0,2 mL. Se cuantificó mediante una curva patrón de fluoresceína (Adam & Duncan, 2001)

5.4.4. Respiración edáfica (RE)

Estimada a través de la demanda bioquímica de oxígeno con el sistema comercial Oxitop (WTW, Weilheim, Germany), que determina los cambios manométricos que ocurren en un sistema hermético cuando el oxígeno es consumido para transformar carbono orgánico en CO₂, durante 14 días a intervalos constantes de 1h. Estos datos se usaron para calcular las curvas

de demanda bioquímica de oxígeno y estas fueron transformadas en curvas de acumulación de CO₂. Este método es usado en monitoreo respirométrico de biodegradabilidad de compuestos orgánicos en muestras ambientales (Reushenbach *et al.*, 2003; Junker *et al.*, 2010); en monitoreo de actividad microbiana del suelo (Taok *et al.*, 2007); en evaluación del efecto de fungicidas sobre la respiración edáfica (Cernohlavková *et al.*, 2009), como así también en estudios de respiración inducida por sustratos múltiples de la microbiota del suelo (Peham & Brunckner, 2012).

5.4.5. Perfiles metabólicos. BIOLOG

5g de suelo se colocaron en un tubo falcon de 50 mL, se humedeció hasta el 50% de capacidad de campo con agua destilada estéril. Se preincubó durante 7 días a 28°C. Posteriormente se llevó a volumen de 50 mL con solución fisiológica (10^{-1}), se agitó 40 minutos y se centrifugó. Se tomaron 5 mL de 10^{-1} y se transfirieron a un tubo conteniendo 45 mL de solución fisiológica (10^{-2}). Se sembraron 150 µl de esta última dilución en cada pocillo (Fig. 2.15) y se incubó a 28°C. La utilización de las fuentes carbonadas se determinó por reducción del tetrazolio, un indicador redox que cambia de incoloro a púrpura. Las lecturas de λ 590nm se registraron cada 24h hasta 120 h en lector de microplacas Biotek.

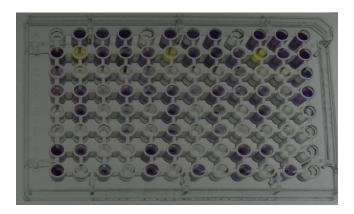


Figura 2.15. BIOLOG Ecoplate con tres réplicas de 31 fuentes de carbono.

La actividad microbiana en cada microplaca se expresó como average well-color development (AWCD) de acuerdo a:

AWCD = $\Sigma\lambda$ 590nm i/31

Donde **λ 590nm**_i es la lectura en cada pocillo corregida por la lectura del control (inoculado pero sin fuente carbonada).

Se consideraron como positivas solo aquellas lecturas con λ 590nm mayor a 0,2.

Usando el software infostat se realizó el análisis de clúster mediante el algoritmo UPGMA, y se calcularon los índices de diversidad. La riqueza (r) fue determinada por el número de fuentes de carbono metabolizadas y el índice de diversidad de Shannon (H') fue determinado usando la siguiente fórmula:

$$H' = -\sum (pi)(\ln pi)$$

Donde pi= $\frac{\lambda \, 590 \, \text{nm i}}{\Sigma \lambda \, 590 \, \text{nm}}$; es la absorbancia relativa de cada fuente de carbono.

Se usaron cinco grupos de sustratos: (I) carbohidratos; (II) ácidos carboxílicos; (III) aminoácidos; (IV) polímeros y (V) aminas y amidas de acuerdo a Weber &Legge (2009).

5.5. Medidas complementarias

Mantillo: Se denomina mantillo al material vegetal senescente que se deposita sobre la superficie del suelo susceptible a los procesos de descomposición. Es la interface entre el suelo y la atmósfera y constituye la principal fuente de materia orgánica en los suelos de bosque (Kumada *et al*, 2008). Se recolectaron las muestras de mantillo con cuandrantes de 0,25 m² y se secaron en estufa a 60°C hasta peso constante (Banegas *et al.*, 2015).

6. Análisis estadístico

6.1. Análisis univariado

Se reconoce que el factor tiempo tiene potencialidades de introducir variabilidad entre las observaciones realizadas en diferentes momentos sobre la misma unidad experimental. Es por ello que se llevó a cabo el análisis mediante el procedimiento de medidas repetidas en el tiempo, ya que en cada sitio se realizaron muestreos en las mismas unidades experimentales en diferentes dos momentos diferentes.

En una primera instancia se analizaron las variables respuesta mediante un modelo lineal mixto, donde el valor esperado (parte fija del modelo) estuvo conformada por los efectos sitio, uso del suelo, estación y las interacciones. En una segunda instancia el valor esperado (parte fija del modelo) estuvo conformada por los factores uso del suelo, cobertura, estación y la interacciones. En ambas situaciones se contemplaron las correlaciones temporales entre observaciones que provienen de una misma unidad experimental mediante un ajuste de correlación autorregresivo de orden 1 (seleccionado en base a los criterios de Akaike AIC y Bayesiano BIC) para los términos del error experimental. Se realizó el test de LSD Fischer (α 0,05) para pruebas de diferencia de medias. Cuando el *p* asociado a la interacción triple o doble es significativo, indicando que los factores estudiados (sitio, uso del suelo y estación) no actúan independientemente, los resultados se explicaron por la interacción. En caso contrario, los resultados se explicaron por los efectos principales. Se utilizó el software Infostat 2012v (Di Rienzo *et al.*, 2012).

6.2. Análisis multivariado

6.2.1. Correlaciones canónicas

Se utilizó el análisis de correlaciones canónicas (Hotelling, 1936) entre grupos de variables métricas, es decir, se analizaron las asociaciones entres conjuntos de variables. Este enfoque es ampliamente utilizado en el campo de las ciencias del suelo (Tan *et al.*, 2003; Martin *et al.*, 2005; Qi *et al.*, 2009; Iwara *et al.*, 2011; Silva Terra *et al.*, 2014).

Se utilizó el software infostat mediante una aproximación basada en el estadístico Chi cuadrado (Di Rienzo *et al.*, 2012) para estudiar las asociaciones entre 1) las variables físicas y químicas; y las que describen la estructura de las comunidades microbianas del suelo; 2) las variables físicas y químicas, y las que describen la funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo; y 3) las variables que describen la estructura y la función de las comunidades microbianas del suelo. Debido a que las variables difieren en sus unidades de medida, se utilizaron las variables estandarizadas.

6.2.2. Análisis de componentes principales

Se realizó el análisis de componentes principales al conjunto de datos para reducir la dimensionalidad de la información y generar ejes interpretables para describir la calidad del suelo asociada a los diferentes sitios y usos del suelo. Se utilizó el software Infostat (Di Rienzo et al., 2012).

CAPITULO 3

EFECTO DE LOS SISTEMAS SILVOPASTORILES EN LAS FRACCIONES DE CARBONO, DENSIDAD APARENTE y pH DEL SUELO

Introducción

Se define a la MOS como "la fracción orgánica del suelo, excluidos los residuos animales y vegetales aún no descompuestos" (Conti & Giuffré, 2011). El carbono es uno de los principales componentes de la materia orgánica del suelo (MOS) y es importante no sólo por su papel en el ciclo global del carbono, sino también porque afecta a la productividad. Además el carbono y nitrógeno del suelo son la principal fuente de energía para los organismos heterótrofos. La MOS también contiene cantidades significativas de agua y nitrógeno los cuales se intercambian entre la biósfera y la atmósfera afectando la química atmosférica, la energía y balance hídrico, y el clima del planeta (Sariyildiz *et al.*, 2015).

La MOS incluye fracciones estabilizadas y lábiles. La fracción estabilizada es definida como "la fracción de la materia orgánica del suelo asociada a la fracción mineral (limos y arcillas)". Esta fracción se asocia a aquella presente en partículas < 53 µm (Cambardella & Elliott, 1992).

Las fracciones lábiles o activas comprenden aquellos componentes más dinámicos de la materia orgánica. Dentro de este tipo de fracciones se incluye a la materia orgánica particulada, la cual consiste en residuos parcialmente descompuestos, en constante proceso de transformación, es una fracción intermedia entre el mantillo y la materia orgánica estabilizada por limos y arcillas. Esta fracción actúa como sustrato para la actividad microbiana, constituye un reservorio de nutrientes a corto plazo y es un importante atributo de la calidad del suelo ya que su menor tiempo de retorno hace que sea una importante fuente de nutrientes (Haynes, 2005). Otra fracción activa de la MOS es el carbono potencialmente mineralizable, caracterizado por alto contenido de nutrientes y energía que pueden ser utilizado rápidamente por los microorganismos del suelo ya que su tiempo de ciclado varía entre 3 y 10 años (Khodzhaeva & Semenov, 2015).

El carbono de la materia orgánica del suelo es 3,3 veces mayor que el pool atmosférico y 4,5 veces mayor que el pool biótico (Lal, 2004). El carbono del suelo es el resultado del balance entre el ingreso de residuos orgánicos y las emisiones de CO2 por mineralización (Abril et al., 2013; Trivedi et al., 2013; Bhattacharya et al., 2016) y por fotodegradación (Austin & Vivanco, 2006; Almagro et al., 2015; Yanni et al., 2015; Bernaschini et al., 2016). Se estima que aproximadamente 123 Pg de carbono fueron liberados a la atmósfera entre 1850 y 1990 debido al cambio de uso del suelo principalmente al desmonte total o a la conversión de pastizales a cultivos/pasturas (Houghton, 1999). En este sentido diversos autores reportaron que los sistemas silvopastoriles de diferentes regiones del mundo tienen mayor potencial para el secuestro de carbono en el suelo producto de la presencia de árboles y herbáceas (Jose et al., 2000; Jose, 2009; Matos et al., 2011; Howlett et al., 2011a; Howlett et al., 2011b, Dube et al., 2013; Montagnini et al., 2013; Junior et al., 2014). Los árboles pueden incrementar la materia orgánica del suelo y mejorar la disponibilidad de nutrientes a través de la descomposición de residuos foliares y radicales (Joseet al., 2000; Jose, 2009). Las raíces finas de los árboles pueden jugar un rol significativo en el ciclado de nutrientes debido a la rápida liberación de nutrientes comparado con las hojas (Mao et al., 2011).

La MOS es el atributo del suelo que con más frecuencia se utiliza en los estudios de largo plazo como un indicador importante de su calidad y de su sustentabilidad agronómica (Albanesi, 2008; Rojas *et al.*, 2016) y es un descriptor que puede ser explicado por un sinnúmero de indicadores donde cada uno de ellos explicará una pequeña parte de la variabilidad si cumple con las condiciones de un buen indicador (Cantú *et al.*, 2007). Su importancia se basa en la influencia que tiene sobre otros indicadores físicos, químicos y biológicos de la calidad del suelo.

Las prácticas de rolado selectivo de baja intensidad y siembra de pasturas modifican la cantidad y calidad de las entradas de materia orgánica al suelo. Dado que la MOS es fuertemente dependiente de los residuos, es importante evaluar cuantitativamente el efecto de estas prácticas sobre la dinámica de la MOS.

La densidad aparente es una propiedad física del suelo muy importante que puede indicar efectivamente la calidad del suelo y la productividad del sitio, ya que influye directamente sobre otras propiedades (por ej. porosidad, humedad disponibilidad y conductividad hidráulica) e indirectamente sobre el crecimiento de raíces (Suuster et al., 2011; Sequeira et al., 2014). Este parámetro puede mostrar una cierta variación espacial y temporal debido al efecto combinado de procesos físicos, químicos y biológicos que operan con diferentes intensidades a diferentes escalas de tiempo y espacio (Hu et al., 2012; Santra et al., 2008). El RBI implica el pasaje del rolo de 3.000 kg, lo cual podría modificar la densidad del suelo y como consecuencia de ello afectar diversas funciones del mismo. Además de las variables químicas y físicas, el pH, es comúnmente incluido en el set de indicadores para evaluar calidad del suelo en sistemas naturales disturbados (Dominguez & Bedano, 2016; Hansen et al., 2016; Muñoz Rojas et al., 2016; Rojas et al., 2016).

A nivel regional se conoce que en el NOA la habilitación para agricultura y ganadería se produce principalmente eliminando los bosques secos, afectando los atributos funcionales del ecosistema con implicancias en los servicios ecosistémicos asociados a la dinámica de la ganancia de carbono. También se conoce que el gran cambio funcional en la región se produce cuando se reemplazan los bosques por herbáceas anuales y cultivos agrícolas (Volante et al., 2012). Además se conoce que los cambios drásticos en las propiedades físicas y fisicoquímicas son producto de intervenciones drásticas como el desmonte total (Rojas et al., 2016). Es por ello que se estima que la implementación de los sistemas silvopastoriles, preservando el estrato arbóreo, tendrá un mínimo impacto en la dinámica del carbono, densidad y pH del suelo.

Por otra parte, diversos estudios mostraron que las especies de árboles pueden diferir en su influencia sobre el stock y composición del carbono del suelo (Vesterdal *et al.*, 2008; Abril *et al.*, 2013; Sariyildiz *et al.*, 2015). Es por ello que se estima que las diferentes especies arbóreas presentes en los sistemas silvopastoriles de la Región Chaqueña tendrán una contribución diferencial al carbono del suelo.

Objetivos

- 1. Cuantificar el efecto de la transformación de bosques nativos a sistemas silvopastoriles mediante rolado selectivo de baja intensidad (RBI) a corto y mediano plazo en dos subregiones del Chaco: semiárida y subhúmeda, sobre las diferentes fracciones de la materia orgánica, densidad aparente y pH del suelo
- 2. Describir la influencia de las diferentes coberturas arbóreas en el bosque y sistema silvopastoril de la subregión semiárida, en las fracciones de carbono orgánico, densidad aparente y pH del suelo

Resultados y discusión

1. Densidad aparente y pH

Los valores medios de densidad aparente, oscilaron entre 0,8 y 1 g cm⁻³ (Tabla 3.1 y 3.2) y fueron similares a lo reportado por otros autores para suelos del Chaco (Anriquez *et al.*, 2005; Albanesi *et al.*, 2013 a y b; Kunst *et al.*, 2014a). El análisis estadístico evidenció que este parámetro es insensible a todos los factores estudiados ya que no se modifica significativamente con la transformación al sistema silvopastoril, ni se vio modificado por el tipo de cobertura, estaciones, ni aún por el sitio.

En ambos sitios, la transformación del bosque nativo a sistema silvopastoril mediante RBI no impactó sobre la densidad del suelo. Este comportamiento puede atribuirse a que el rolo no impacta directamente sobre el horizonte superficial ya que todo el residuo leñoso que queda sobre el suelo ejerce un efecto de amortiguación. Además esta práctica mantiene intacto el sistema radical de los arbustos y esto es importante debido a la habilidad de éstos para modificar el ambiente físico a través del incremento de la macroporosidad y reducción de la densidad del suelo (Bhark & Small, 2003; Eldridge *et al.*, 2015) y los arbustos también pueden reducir los efectos adversos del pastoreo sobre la densidad del suelo (Eldridge *et al.*, 2015).

Tabla 3.1. Valores promedio ± desvío estándar de densidad aparente (DA) y pH obtenidos en los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones.

Sitio	Uso del suelo	Estación	DA (g cm ⁻³)	рН
		Invierno	1,0 ± 0,1 A	6,6 ± 0,2 B
0	Т	Verano	0,9 ± 0,1 A	6,9 ± 0,3 B
medc -		Invierno	0,9 ± 0,1 A	6,9 ± 0,1 B
Subhúmedo 	SP1	Verano	0,9 ± 0,1 A	7,0 ± 0,2 AB
		Invierno	1,0 ± 0,0 A	6,7 ± 0,1 B
	SP5	Verano	0,9 ± 0,0 A	6,5 ± 0,2 B
		Invierno	0,9 ± 0,2 A	7,1 ± 0,0 A
Semiárido 	Т	Verano	0,8 ± 0,0 A	7,2 ± 0,0 A
		Invierno	0,9 ± 0,1 A	7,1 ± 0,1 A
	SP1	Verano	0,9 ± 0,1 A	7,2 ± 0,1 A
		Invierno	0,8 ± 0,0 A	7,1 ± 0,0 A
	SP5	Verano	1,0 ± 0,1 A	7,2 ± 0,0 A

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes dentro de cada columna (p> 0,05).

Es reconocido que la diferencia en la pluviometría como así los cambios en la vegetación son capaces de generar modificaciones en la reacción del suelo. Esto es importante a nivel biológico por su incidencia en la actividad microbiana y en la abundancia relativa de bacterias y hongos (Rousk *et al.*, 2009). Además la mayoría de los microorganismos prosperan en pH neutros (6-7) debido a la alta disponibilidad de nutrientes en este rango de pH (Sylvia *et al.*, 2005).

En este estudio los resultados mostraron que los sistemas silvopastoriles, las coberturas arbóreas y la estacionalidad no modificaron el pH. Solo se detectaron diferencias significativas entre sitios, siendo menores en el sitio subhúmedo (Tabla 3.1 y 3.2).

Tabla 3.2. Valores promedio ± desvío estándar de densidad aparente (DA) y pH obtenidos para los diferentesusos del suelo y coberturas del sitio semiárido.

Uso del suelo	Cobertura	Estación	DA (g cm ⁻³)	рН
Т		invierno	1,0 ± 0,2 A	7,0± 0,3 AB
	_	verano	0.9 ± 0.1 A	6,9± 0,5 B
SP1	М	invierno	0,9± 0,0 A	7,5± 0,1 A
<u> </u>		verano	0,8± 0,0 A	7,1± 0,1 AB
SP5		invierno	0,9± 0,1 A	6,8± 0,1 B
		verano	1,0± 0,1 A	6,8± 0,1 B
Т		invierno	0,9± 0,2 A	7,3± 0,2 AB
	_	verano	0,9± 0,1 A	7,2± 0,1 AB
SP1	Qb	invierno	0,9± 0,1 A	7,4± 0,3 A
<u> </u>	_ QD	verano	0,9± 0,1 A	7,2± 0,2 AB
SP5		invierno	0,8± 0,0 A	7,3± 0,2 AB
		verano	1,0± 0,1 A	7,2± 0,2 AB
Т		invierno	0,9± 0,1 A	7,4± 0,2 A
	_	verano	0,9± 0,1 A	7,1± 0,3 AB
SP1	00	invierno	0,9± 0,0 A	7,4± 0,4 A
<u> </u>	Qc	verano	0,7± 0,0 AB	7,2± 0,2 AB
SP5		invierno	1,0± 0,2 A	7,5± 0,1 A
<u> </u>		verano	0,9± 0,0 A	7,2± 0,1 AB

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho* blanco y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes dentro de cada columna (p> 0,05).

Los menores valores en pH en el ambiente subhúmedo podrían atribuirse a la mayor pluviometría que genera el lavado de bases del suelo (Austin &

Vitousek, 1998). Aún cuando se registraron diferencias entre sitios, no representó una limitante para la disponibilidad de nutrientes y para la actividad microbiológica del suelo, ya que los valores se ubican entre 6,5 y 7,2.

2. Carbono orgánico del suelo

2.1. Carbono orgánico total (COT)

Los valores de COT oscilaron entre 10,6 y 24,3 g C kg⁻¹ suelo (Fig. 3.1 y 3.2) y se ubican dentro del rango informado por diversos autores para la provincia (Albanesi *et al.*, 2003; Anriquez, *et al.*, 2005; Albanesi *et al.*, 2013 ayb; Kunst *et al.*, 2014a) y ligeramente superiores a lo informado por otros autores (Abril *et al.*, 2013; Navarro *et al.*, 2011) para diferentes subregiones del Gran Chaco, posiblemente debido a la heterogeneidad de la vegetación. La interacción entre sitio*uso del suelo*estación fue significativa.

Los resultados obtenidos (Fig. 3.1) en este trabajo mostraron que las consecuencias de la transformación de bosques nativos a sistemas silvopastoriles en el carbono del suelo dependen del sitio. En el sitio semiárido se observa un incremento, a los cinco años, del COT debido a la transformación en sistema silvopastoril en coincidencia con Gonzáles-Pedraza & Dezzeo (2014). Este efecto no se vio reflejado en el sitio subhúmedo donde el COT es mayor. O sea que en un sitio donde el COT tiene valores bajos la transformación incrementa el COT en coincidencia con diversos autores que reportaron que la integración de leñosas y herbáceas se traduce en incrementos en el carbono orgánico del suelo (Howlet *et al.*, 2011a; Matos *et al.*, 2011; Dube *et al.*, 2013; Montagnini *et al.*, 2013; Baah-Acheamfour *et al.*, 2014; Junior *et al.*, 2014; Islam *et al.*, 2015; Negash & Kanninen 2015; Wang *et al.*, 2015).

Los resultados sugieren que las prácticas de rolado selectivo y siembra de pasturas conservan o incrementan el carbono del suelo a diferencia de otros usos que disminuyen significativamente el stock de carbono del suelo como consecuencia de la remoción total de la

vegetación natural (Guo & Gifford, 2002). En cambio, el sistema de manejo propuesto reduce el volumen de arbustos manteniendo los residuos sobre el suelo y conserva los árboles.

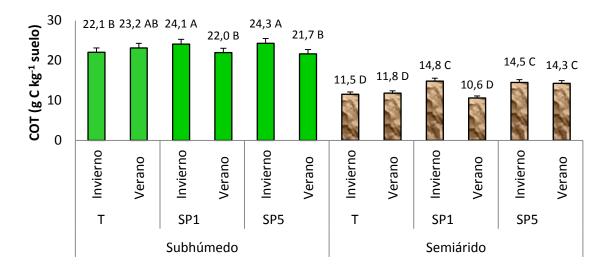


Figura 3.1. Valores promedio de carbono orgánico total (COT) obtenidos para los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Los mayores valores de COT registrados en el sitio subhúmedo podrían atribuirse a las mayores precipitaciones que generan diferencias en las clases texturales y como consecuencia de ello en el almacenaje de carbono del suelo. Esto coincide con Duval *et al.* (2013) y Navarro *et al.* (2011) que encontraron que los valores medios de COT disminuyen de este a oeste siguiendo los gradientes de precipitación y textura del suelo entre sitios para la Región Pampeana Argentina y el Chaco Paraguayo respectivamente.

Tabla 3.3. Fraccionamiento granulometría (%) del suelo en los diferentes sitios.

Sitio	% Arenas (2000- 53μm)	% AG (1000- 500 μm)	% AM (500-250 μm)	% AF (250-105 μm)	% AMF (105-53 μm)	% Limo (53-2 μm)	% Arcilla (<2 μm)
Subhúmedo	19,9	0,3	0,95	5,3	13,35	65	15,1
Semiárido	43,0	0,3	1,1	15,2	26,4	48,7	8,3

Referencias: AG: arena gruesa, AM: arena media, AF: arena fina y AMF: arena muy fina.

En nuestro estudio el contenido de limo + arcilla (Tabla 3.3) varió de 80% en el ambiente subhúmedo a 55% en el semiárido. Varios estudios han mostrado la influencia de la textura sobre el contenido y calidad del carbono orgánico del suelo (Buschiazzo *et al.*, 1991; Galantini *et al.*, 2004). A medida que aumenta el material fino, existe mayor protección al COT (Van Veen & Kuikman, 1990) debido a la asociación entre partículas inorgánicas y las moléculas orgánicas (Wander, 2004).

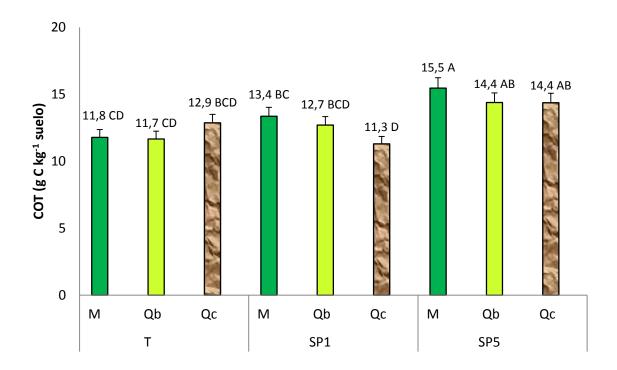


Figura 3.2. Valores promedio de carbono orgánico total (COT) obtenidos para los diferentes usos del suelo y coberturas del sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

En el sitio semiárido, se observó que la dinámica del COT depende de la interacción uso del suelo*cobertura. Para M y Qb se registró mayor contenido de COT en SP5 que en T (Fig. 3.2). No obstante, el incremento más pronunciado se observó bajo la cobertura de M. Albanesi et al. (2013a) demostraron para las mismas parcelas experimentales que el mistol aporta más mantillo que los quebrachos (Figura 3.3), estas variaciones en la cantidad de hojarasca que producen los árboles explicarían los contenidos diferenciales de carbono del suelo (Tumwebaze et al., 2012; Casals et al., 2014).

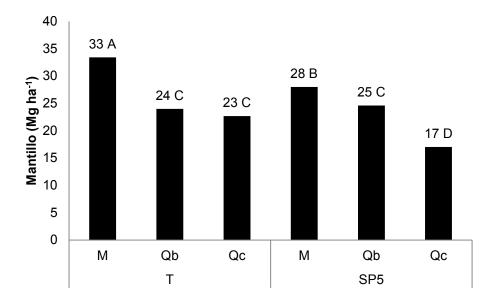


Figura 3.3. Materia seca promedio de mantillo recolectado al final de la estación de crecimiento para los diferentes usos del suelo y coberturas. Referencias: (T) Bosque nativo; (SP5) sistema silvopastoril de cinco años. Qb, Suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco*; M, Suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*; Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*.

2.2. Carbono orgánico asociados a limos y arcillas (COA)

Los valores medios de carbono orgánico asociado a limos y arcillas registraron diferencias significativas entre sitios (subhúmedo > semiárido). Estos resultados (Fig. 3.4) coinciden con otros autores que informaron que las diferencias en precipitaciones y textura del suelo se reflejan en el contenido y calidad del carbono orgánico del suelo (Buschiazzo *et al.*, 1991; Galantini *et al.*, 2004; Navarro *et al.*, 2011; Duval *et al.*, 2013). La ausencia de diferencias significativas entre usos del suelo coincide con diversos autores que informaron que el manejo agropecuario en los suelos de la región chaqueña, no modifica la fracción del carbono orgánico asociado a limos y arcillas (Albanesi *et al.*, 2013a; Anriquez *et al.*, 2005; Kunst *et al.*, 2014; Kunst *et al.*, 2016; Rojas *et al.*, 2016).

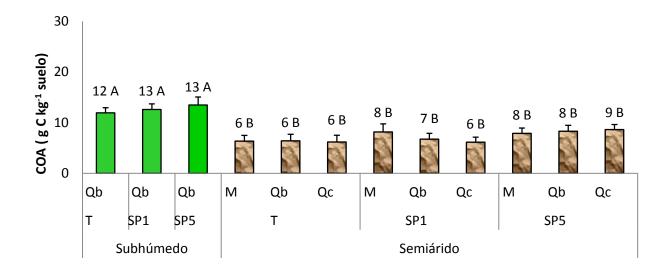


Figura 3.4. Valores promedio de carbono orgánico asociado a limos y arcillas (COA) obtenidos para los diferentes sitios, usos del suelo y coberturas. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

2.3. Carbono orgánico particulado

Los valores medios de carbono orgánico particulado oscilaron entre 5,8 y 10,2 g C kg⁻¹ suelo (Fig. 3.5) representando entre el 40 y 60% respecto del COT en coincidencia con otros autores para estos suelos (Albanesi *et al.*, 2003; Anriquez *et al.*, 2005; Rojas *et al.*, 2016).

En nuestro ensayo se observó que el COP no fue afectado por la transformación de los bosques nativos a sistemas silvopastoriles pero si estuvo influenciado por los sitios (al igual que el COT) y las estaciones.

Este comportamiento sugiere que el uso silvopastoril es conservador de la fracción lábil del C del suelo. Una explicación probable es que la tecnología empleada para la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles es de baja intensidad (Kunst *et al.*, 2014a) comparado con otro tipo de habilitación, por ejemplo desmonte total (Rojas *et al.*, 2016).

Se observó que el contenido de COP es menor en verano probablemente debido la fotodegradación producto de la intensa radiación solar (Austin & Vivanco, 2006; Almagro *et al.*, 2015; Yanni *et al.*, 2015; Bernaschini *et al.*, 2016).

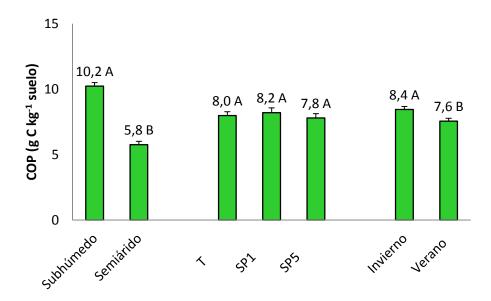


Figura 3.5. Valores promedio de carbono orgánico particulado (COP) obtenidos para los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

En el sitio semiárido se observó que la dinámica del COP estuvo influenciada por la interacción uso del suelo*cobertura. En el suelo bajo la cobertura de mistol se observaron incrementos significativos de COP como consecuencia de la transformación del bosque a sistema silvopastoril (Fig. 3.6). Este comportamiento podría atribuirse al mayor aporte anual de

residuos (Fig.3.3) de esta especie con un alto contenido de proteína bruta (Tabla 3.4) que podría desencadenar una rápida descomposición e incorporación a la fracción lábil de la materia orgánica del suelo.

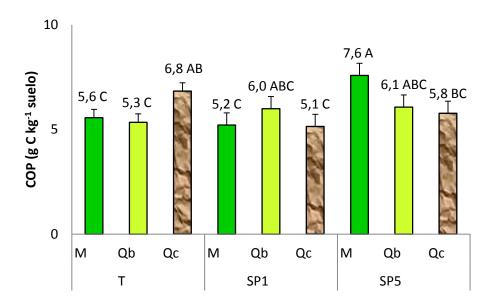


Figura 3.6. Valores promedio de carbono orgánico particulado (COP) obtenido para los diferentesusos del suelo y coberturas del sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

La especie mistol presentó menor abundancia relativa comparado con quebracho blanco. Sin embargo su mayor aporte de residuos estuvo asociado con un mayor contenido de carbono orgánico total y lábil. La especie quebracho blanco es una de las dos especies de mayor valor ecológico por su abundancia y frecuencia (Giménez *et al.*, 2011), y contribuyó con menores contenidos de carbono al suelo. Esto sugiere que las diferentes especies de árboles presentes tanto en bosques como en sistemas silvopastoriles son importantes desde el punto de vista de la ecología del suelo en coincidencia con Pichancourt *et al.* (2014) quienes reportaron una relación directa entre diversidad de árboles y contenido de carbono del suelo.

Tabla 3.4. Composición química de hojas de árboles representativos del Chaco al final de la estación de crecimiento.

Especie	Proteína bruta(%)	Fibra detergente neutro (%)	Fibra detergente ácido (%)	Fenoles Totales (g ácido tánico/100g MS)	Taninos Totales (g ácido tánico/100g MS)
Aspidosperma quebracho blanco ⁽¹⁾ Schinopsis lorentzii	13 11,5	38,1 31,1	28,4 23,1	sd 24,5	sd 14,5
⁽¹⁾ Ziziphus mistol	20,2	26,6	17,8	10,1	3,6

⁽¹⁾Fuente García et al., 2013

2.4. Carbono potencialmente mineralizable (C₀)

Los resultados mostraron que las consecuencias de la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles sobre el carbono potencialmente mineralizable siguieron la misma tendencia que el COT (Fig. 3.7). Este comportamiento sugiere que la dinámica del carbono potencialmente mineralizable sería una explicación posible de los incrementos en el carbono orgánico total producto de la transformación de bosques en sistemas silvopastoriles y por ende estaría gobernado por los mismos factores.

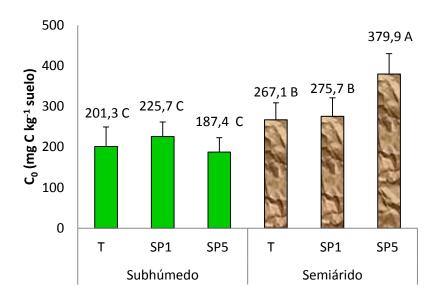


Figura 3.7. Valores promedio de carbono potencialmente mineralizable (C_0) obtenido para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Los resultados para los suelos del ambiente semiárido mostraron que el carbono potencialmente mineralizable (Fig. 3.8) estuvo influenciado por la cobertura arbórea y las estaciones. Los mayores valores se registraron bajo la cobertura de *Ziziphus mistol* lo que sugiere que la cobertura vegetal contribuye significativamente a la acumulación de carbono fácilmente mineralizable especialmente en suelo con bajo contenido de materia orgánica (Nunes *et al.*, 2016). La dinámica de C₀ sugiere que esta fracción lábil sería una posible causa del mayor contenido de carbono orgánico total en los suelos bajo la cobertura de mistol, proceso que estaría determinado por el mayor aporte de mantillo de esta especie respecto de los quebrachos.

En verano se registraron menores contenidos de esta fracción de C lábil. Una posible causa sería el incremento de la tasa de mineralización en esta estación producto de una mayor actividad microbiana (Abril *et al.*, 2013)

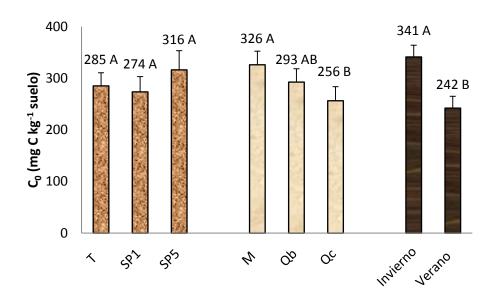
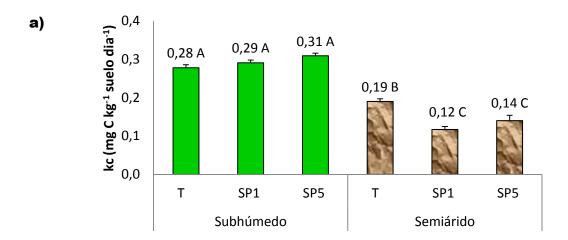


Figura 3.8. Valores promedio de carbono potencialmente mineralizable (C₀) obtenido para los diferentes usos del suelo y coberturas del sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

2.5. Tasa de mineralización del carbono (kc)

La tasa de mineralización del carbono en los suelos del ambiente subhúmedo se mantuvo constante, mientras que en el semiárido disminuyó como consecuencia de las tranformación de bosques a sistemas silvopastoriles (Fig. 3.9a). Adicionalmente se encontró que k_c fue mayor en

el sitio subhúmedo. Este comportamiento sugiere que los flujos de CO₂ están estrechamente vinculados a la actividad β-glucosidasa del suelo (ver capítulo 5).



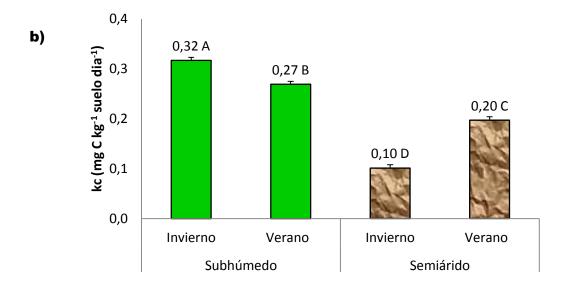


Figura 3.9. Valores promedio de tasas de mineralización (k_c) obtenidos para a) los diferentes sitios y usos del suelo y b) los diferentes sitios y estaciones. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común (para cada interacción) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

La tasa de mineralización también se vió afectada por la interacción en el sitio*estación (Fig. 3.9b). En los suelos del sitio semiárido se registraron mayores valores de k_c en verano y en el subhúmedo en invierno. Este comportamiento podría estar asociado a la disponibilidad de agua ya que en el semiárido las precipitaciones estuvieron concentradas en verano y en el subhúmedo hubo una precipitación inusual en invierno. Varios autores han reportado una relación directa entre contenido hídrico y la cinética de las actividades enzimáticas del suelo (Sinegani & Maghsoudi, 2011; Zhang *et al.*, 2011; Kujur & Kumar Patel, 2014).

En el sitio semiárido se encontró que la tasa de mineralización del carbono no estuvo influenciada por las distintas especies arbóreas (Fig. 3.10) en coincidencia con Nunes *et al.* (2016) quienes reportaron un efecto nulo de las diferentes especies arbóreas sobre la mineralización del carbono.

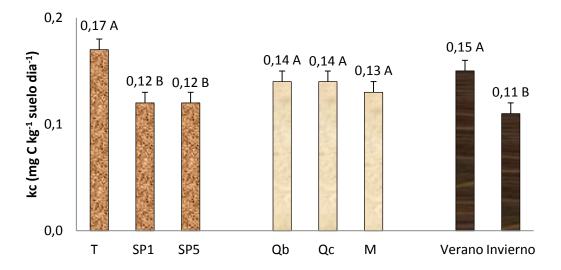


Figura 3.10. Valores promedio de tasas de mineralización (k_c) obtenidos para los diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones del sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis Iorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Conclusiones

Las consecuencias de la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles impactan principalmente sobre la materia orgánica del suelo y dependen del sitio. En el sitio semiárido es evidente que la implementación de sistemas silvopastoriles es favorable dado que incrementa el contenido de materia orgánica del suelo. En cambio en el sitio subhúmedo, donde el nivel de MOS es marcadamente superior al sitio semiárido, el reservorio de carbono en el suelo no se ve afectado.

Es importante remarcar que además del rolado y siembra de pasturas, la vegetación arbórea tiene un rol importante en la dinámica de la MOS. Es evidente que la especie *Ziziphus mistol* contribuye con una mayor cantidad de residuos y tiene mayor impacto sobre el incremento de MOS, no obstante presenta la menor abundancia relativa. Por otra parte *Aspidoperma quebracho blanco* tiene un rol destacado por que presenta mayor abundancia relativa, aunque con menores contenidos de MOS. Estos estudios pueden ayudar a mejorar las actividades de manejo de bosques nativos con ganadería integrada, tales como la conservación de especies arbóreas con baja abundancia relativa pero con gran valor para la captura de carbono. Todo ello en busca de sistemas silvopastoriles que mantengan o mejoren los procesos biogeoquímicos y que contribuyan al desarrollo sustentable.

CAPITULO 4

EFECTO DE LOS SISTEMAS SILVOPASTORILES EN LA ESTRUCTURA DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DEL SUELO

Introducción

La salud del suelo se refiere al equilibrio ecológico de un suelo y su capacidad para mantener el equilibrio del ecosistema con alta biodiversidad y productividad. Además es necesaria un visión compleja para la comprensión del sistema suelo y la restauración de los procesos biológicos es clave para garantizar la seguridad alimentaria y ambiental (Scholes & Scholes, 2013). La comprensión de la salud del suelo como herramienta para la sustentabilidad requiere del uso de propiedades físicas, químicas y biológicas para verificar la respuesta del suelo al uso y manejo. Además se requiere comprender las interrelaciones entre estos atributos (Nogueira Cardoso et al., 2013). La integración de atributos microbianos y químicos es una herramienta útil para evaluar el ciclo del carbono y la salud del suelo (Bini et al., 2014). En el capítulo anterior se desarrollaron los aspectos relacionados a variables físicas y químicas. En el presente capítulo se abordará lo referente a la abundancia y diversidad microbiana.

La microbiota del suelo es crítica para el mantenimiento de la función del suelo en ambientes naturales y sistemas de producción debido a su participación en múltiples procesos claves como el ciclado de la materia orgánica y formación de la estructura del suelo. Hace medio siglo que los microbiólogos investigan el impacto de la diversidad microbiana sobre el funcionamiento del ecosistema suelo y actualmente el interés sobre la resiliencia del suelo a los disturbios es mayor (Garbeva, 2004).

Aún cuando es sabido que los microorganismos desempeñan un rol clave en el funcionamiento del ecosistema, son a menudo difíciles de caracterizar debido principalmente a la inmensa diversidad genotípica y fenotípica, heterogeneidad y cripticidad (Garbeva *et al.*, 2004) y nuestro conocimiento de la diversidad microbiana del suelo estuvo limitado en parte por nuestra inhabilidad para el estudio de los microorganismos del suelo. Torsvik *et al.* (1990) estimaron que en 1 g de suelo hay 4.000 bacterias diferentes "unidades genómicas" basado en análisis de reasociación ADN-ADN. Solo el 1% de las bacterias del suelo pueden ser cultivadas en condiciones estándares de laboratorio (Torsvik *et al.*, 1998). Existen cerca de 1,5 millones de

especies de hongos en el mundo (Giller *et al.*, 1997), pero al igual que las bacterias, menos del 1% pueden ser cultivados en laboratorio (Thorn, 1997; van Elsas *et al.*, 2000).

Las técnicas moleculares permitieron acceder a la diversidad total de microorganismos del suelo. Estas técnicas que utilizan ácidos nucleicos extraídos directamente de muestras ambientales permiten el análisis de la comunidad (Amannet al., 1995; Woese, 1987) y su uso caracteriza el momento de nuestra investigación en el siglo XXI, por lo cual este período podría ser denominado "Segunda Edad de Oro de la Microbiología de Suelo" (Nannipieri & Eldor, 2009).

Los antecedentes a nivel mundial remarcan que en los sistemas silvopastoriles, los árboles pueden incrementar la diversidad de HMA (hongos micorrícicos arbusculares) (Pande & Tarafdar, 2004; Bainard *et al.* 2012). Es conocido que los sistemas silvopastoriles son capaces de mejorar la calidad y la función metabólica del suelo reflejados en incrementos en la biomasa microbiana, actividades enizmáticas, respiración edáfica y biomarcadores FAME (*Fatty acid methyl ester*) (Vallejo *et al.*, 2010; Vallejo *et al.*, 2012; Azar *et al.*, 2013; Peri *et al.*, 2015). Cubillos *et al.* (2016) reportaron que las comunidades de bacterias totales y oxidantes del amonio son diferentes entre el bosque, pastura convencional y sistemas silvopastoriles (SP) y que estos últimos serían un alternativa importante para restaurar los servicios ecosistémicos que ofrecen las comunidades bacterianas del suelo. Tambien se conoce que las comunidades microbianas del suelo son muy diferentes entre los sistemas no disturbados y los cultivados (Jangid *et al.*, 2008; Lagerlöf *et al.*, 2014); y que las comunidades microbianas dependerían mas de las propiedades del suelo que de las comunidades de plantas (Cubillos *et al.*, 2016).

En este contexto se hipotetiza que las variaciones en pH y fracciones de carbono del suelo entre sitios serían factores determinantes de la diversidad microbiana. Por otra parte la estructura de la vegetación y la calidad de los residuos que ingresa al suelo podrían influir en la estrucutra de las comunidades microbianas (Torres *et al.*, 2005; Ndaw *et al.*, 2009; Keiser *et al.*, 2013; Lupatini *et al.*, 2013; Figuerola *et al.*, 2014).

Objetivos

- 1. Analizar el efecto del RBI sobre la abundancia y diversidad microbiana del suelo a corto y mediano plazo en dos subregiones del Chaco: semiárida y subhúmeda.
- 2. Describir la influencia de las diferentes coberturas arbóreas en la abundancia y diversidad microbiana del suelo en el bosque y sistema silvopastoril de la subregión semiárida.

Resultados y discusión

1. Abundancia de microorganismos cultivables

1.1. Bacterias heterótrofas aerobias

La abundancia de bacterias aerobias mostró significancia en la interacción sitio*estación y no fue afectada por la conversión de bosques nativos a sistemas silvopastoriles. En el ambiente subhúmedo las bacterias cultivables fueron más abundantes en invierno que en verano (Tabla 4.1). Mientras que en el ambiente semiárido la mayor abundancia se registró en verano. Esto estaría relacionado con la disponibilidad de agua ya que en el semiárido las precipitaciones ocurrieron en verano y en el subhúmedo hubo una precipitación inusual de 35 mm en invierno siete días previo al muestreo en coincidencia con Berg *et al.* (1998) y Frey *et al.* (1999) que reportaron un incremento en la abundancia de bacterias a medida que aumenta el contenido de agua del suelo.

Tabla 4.1. Abundancia de bacterias heterótrofas aerobias para los diferentes sitios y estaciones.

SITIO	Estación	log ₁₀ UFC g ⁻¹		
Subhúmedo	Invierno	$6,2 \pm 0,04$	Α	
Submumedo	Verano	$5,9 \pm 0,05$	В	
Semiárido	Invierno	$5,7 \pm 0,04$	С	
Semiando	Verano	$5,9 \pm 0,14$	В	

Referencias: UFC: unidades formadoras de colonia. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

En el suelo del sitio semiárido sólo se registraron diferencias significativas entre estaciones y no fueron significativas las diferencias entre usos del suelo, coberturas ni las interacciones. La abundancia de bacterias fue mayor en verano (Tabla 4.1 y 4.2) atribuida al

efecto de la estacionalidad generada por la variación de las precipitaciones y temperaturas que son mayores en verano en coincidencia con Montaño et al. (2013).

Tabla 4.2. Abundancia de bacterias heterótrofas aerobias para los diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones en el sitio semiárido.

	log ₁₀ UFC g ⁻¹	
T	$5,78 \pm 0,12$	Α
SP5	$5,82 \pm 0,10$	Α
SP1	$5,79 \pm 0,12$	Α
M	$5,84 \pm 0,07$	Α
Qb	$5,79 \pm 0,15$	Α
Qc	$5,76 \pm 0,09$	Α
Invierno	$5,72 \pm 0,06$	В
Verano	$5,87 \pm 0,10$	Α

Referencias: UFC: unidades formadoras de colonia. (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho* blanco y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

1.2. Bacterias celulolíticas

Los resultados muestran que el efecto de la transformación de bosques nativos a sistemas silvopastoriles sobre la abundancia de bacterias celulolíticas depende de la interacción sitio*uso del suelo*estación (Tabla 4.3). En ambos sitios hubo efecto de la estacionalidad al igual que en bacterias heterótrofas aerobias. Es evidente que el uso silvopastoril promueve el incremento en la abundancia de bacterias celulolíticas sólo en el sitio semiárido. Este comportamiento estuvo asociado al mayor contenido de carbono orgánico del suelo en SP5.

Tabla 4.3. Abundancia de bacterias celulolíticas para los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones.

Sitio	Uso del Suelo	Estacion	log ₁₀ UFC g ⁻¹	
	Т	invierno	$4,64 \pm 0,02$	Α
	ı	verano	$4,55 \pm 0,04$	В
Subhúmedo	SP1	invierno	$4,68 \pm 0,03$	Α
Submumedo	01 1	verano	$4,54 \pm 0,03$	В
	SP5	invierno	$4,72 \pm 0,02$	Α
		verano	$4,54 \pm 0,04$	В
	т	invierno	$3,86 \pm 0,04$	Е
	·	verano	$4,23 \pm 0,10$	С
Semiárido	SP1	invierno	$3,85 \pm 0,02$	Е
Semiando	OF I	verano	$4,49 \pm 0,02$	В
	SP5	invierno	$3,98 \pm 0,02$	D
	OF 0	verano	$4,48 \pm 0,01$	В

Referencias: UFC: unidades formadoras de colonia. (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

En el sitio semiárido hubo efecto de los diferentes usos del suelo, las coberturas y las estaciones (Tabla 4.4). El uso silvopastoril incrementó la abundancia de bacterias celulolíticas y fueron mayores bajo la cobertura de mistol y en el verano, en coincidencia con lo observado por Vardavakis (1989).

Tabla 4.4. Abundancia de bacterias celulolíticas para los diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones en el sitio semiárido.

	log ₁₀ UFC g ⁻¹	
T	$4,07 \pm 0,22$	С
SP1	$4,18 \pm 0,35$	В
SP5	$4,24 \pm 0,27$	Α
M	$4,21 \pm 0,30$	Α
Qb	$4,15 \pm 0,26$	В
Qc	$4,14 \pm 0,27$	В
Invierno	$3,90 \pm 0,06$	В
Verano	$4,43 \pm 0,16$	Α

Referencias: UFC: unidades formadoras de colonia. (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

1.3. Hongos

La abundancia de hongos cultivables estuvo influenciada por los diferentes usos del suelo, estaciones y sitios (Tabla 4.5). El mayor número de hongos se registró en los sistemas silvopastoriles debido probablemente al incremento en la tasa de crecimiento de la comunidad fúngica producto de la mayor oferta de carbono del residuos leñosos, ya que estos microorganismos poseen un amplio rango de enzimas que les permite descomponer materiales orgánicos complejos de la superficie y a través de la red hifal pueden translocar nutrientes lo que podría facilitar la descomposición de residuos de plantas pobres en N (Chigineva *et al.*, 2011).

Tabla 4.5. Abundancia de hongos para los diferentes sitios, usos del suelo y estaciones.

	log ₁₀ UFC g ⁻¹	·
Subhúmedo	$3,77 \pm 0,06$	Α
Semiárido	$3,65 \pm 0,07$	В
Т	$3,60 \pm 0,10$	В
SP1	$3,73 \pm 0,08$	Α
SP5	$3,73 \pm 0,07$	Α
Invierno	3,60 ± 0,08	В
Verano	$3,76 \pm 0,08$	Α

Referencias: UFC: unidades formadoras de colonia. (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Por otra parte los hongos fueron más abundantes en verano que invierno (Tabla 4.5) y ello fue atribuido a las variaciones estacionales propias de la región chaqueña. Es reconocido que las variaciones estacionales debidas al incremento de la temperatura modifican la densidad de hongos cultivables productores de fenoloxidasa (Jassey *et al.*, 2011).

En el sitio subhúmedo se registró mayor densidad de hongos que en el semiárido (Tabla 4.5) y estuvo relacionado con los mayores contenidos de COT y COP.

En el ambiente semiárido (Tabla 4.6) se registró un comportamiento similar al descrito en el párrafo anterior en cuanto a variaciones entre usos del suelo y estaciones y no se observaron diferencias significativas debidas a la cobertura.

Tabla 4.6. Abundancia de hongos para los diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones en el sitio semiárido.

	Log ₁₀ UFC g ⁻¹	
Т	$3,60 \pm 0,05$	В
SP1	$3,67 \pm 0,05$	Α
SP5	$3,68 \pm 0,03$	Α
M	3,65 ± 0,06	Α
Qb	$3,65 \pm 0,07$	Α
Qc	$3,66 \pm 0,06$	Α
Invierno	$3,61 \pm 0,05$	В
Verano	$3,69 \pm 0,04$	Α

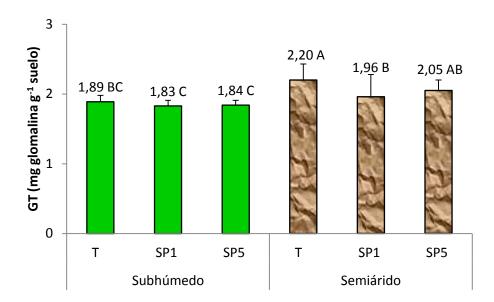
Referencias: UFC: unidades formadoras de colonia. (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis Iorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

2. Glomalinas

2.1.Glomalina total (GT)

Los valores medios de glomalina total (GT) oscilaron entre 1,8 y 2,3 mg glomalina g⁻¹suelo (Fig. 4.1 a). Se observó un efecto significativo de lo sistemas sistemas silvopastoriles sobre GT sólo en el sitio semiárido. Un año posterior a la conversión del bosque en sistema silvopastoril, disminuye el contenido de GT y luego se reestablece a los cinco años.





b)

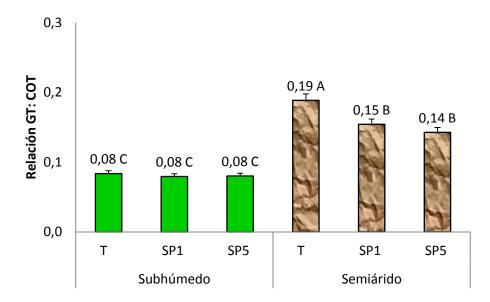


Figura 4.1. a) Valores promedio de glomalina total (GT) y b) relación glomalinas: COT (carbono orgánico total) para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

En el semiárido, los valores de GT fueron mayores bajo la cobertura de mistol (Fig. 4.2). Esto podría deberse a que esta especie aporta residuos al suelos con mayor contenido de proteína bruta (Tabla 3.5), mucílagos, almidón y azúcares que los quebrachos (Colares & Arambarri, 2008) de fácil utilización como fuente de carbono y energía para los hongos micorrícicos.

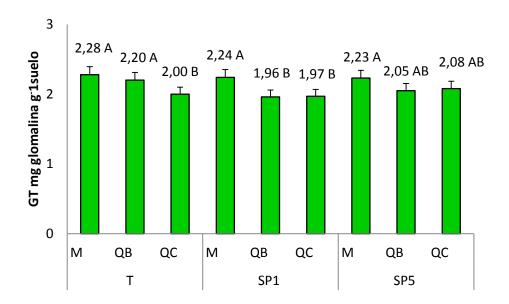


Figura 4.2. Valores promedio de glomalina total (GT) para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido.Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de Schinopsis lorentzii; Qb, suelo bajo la cobertura de Aspidosperma quebracho blanco y M, suelo bajo la cobertura de Ziziphus mistol. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Sumado a esto, los valores de GT fueron mayores en el semiárido que en el subhúmedo. Esto sugiere que el suelo y el clima serían factores importantes en la distribución espacial de hongos micorrícicos en coincidencia con Chaudary *et al.* (2014). La naturaleza cementante de las glomalinas permite proteger el carbono del suelo (Rillig *et al.*, 2003; Rillig, 2004; Wu *et al.*, 2014) y este sería un mecanismo de protección mas importante en el semiárido ya que la relación glomalina: COT es mayor (Fig. 4.1 b) en coincidencia con Spohn & Giani (2011) que reportaron que cuanto menor es el COT, mayor es la relación glomalina: COT.

2.2. Glomalinas fácilmente extraíble (GFE)

Los valores medios de glomalina fácilmente extraíble GFE (Fig. 4.3) oscilaron entre 0,23 y 0,44 mg glomalina g⁻¹suelo.

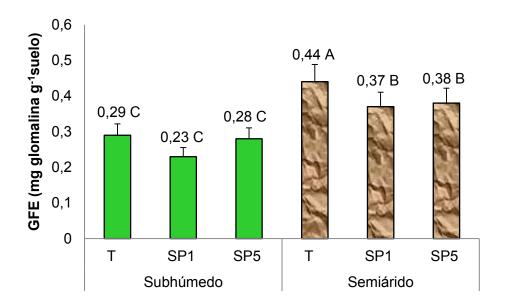


Figura 4.3. Valores promedio de glomalina fácilmente extraíble (GFE) para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

El efecto de la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles sobre la GFE en cada sitio manifestó una tendencia similar a GT. Los valores medios de GFE representaron un 15% respecto de GT para el sitio subhúmedo y 20% para el semiárido. Estos resultados

sugieren que el ambiente con mayor precipitaciones tiene menor contenido de glomalinas pero más recalcitrantes.

A su vez no se encontró un patrón de GFE asociado a las diferentes coberturas en el sitio semiárido (Fig. 4.4).

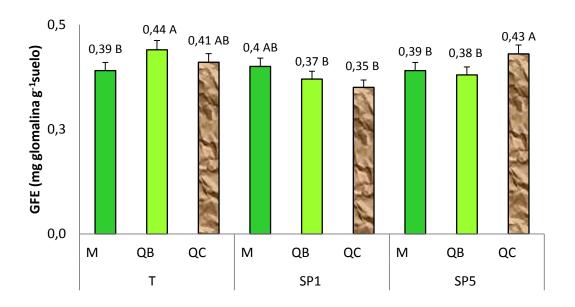


Figura 4.4. Valores promedio de glomalina fácilmente extraíble (GFE) para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

3. Biomasa microbiana (Cbm)

Los valores medios de carbono de la biomasa microbiana oscilaron entre 215 y 344 µg C g⁻¹ suelo (Fig. 4.5 y 4.6) y se encuentran dentro del rango informado por otros autores para las dos subregiones del Chaco (Albanesi *et al.*, 2003; Albanesi *et al.*, 2013b; Kunst *et al.*, 2014). Los resultados manifestaron que éste parámetro no fue afectado por la conversión de bosques a sistemas silvopastoriles ni por las coberturas. Este comportamiento sugiere que el sistema propuesto no impacta sobre la abundancia de microorganismos que encuentran condiciones favorables para su crecimiento tanto en los bosques nativos como en los sistemas silvopastoriles. Estos resultados coinciden con observaciones de otros autores que encontraron que sistemas de producción considerados conservativos como los silvopastoriles reflejan condiciones similares, para el desarrollo de los microorganismos del suelo, al ambiente natural no disturbado (Roscoe *et al.*, 2006; Salton *et al.*, 2011).

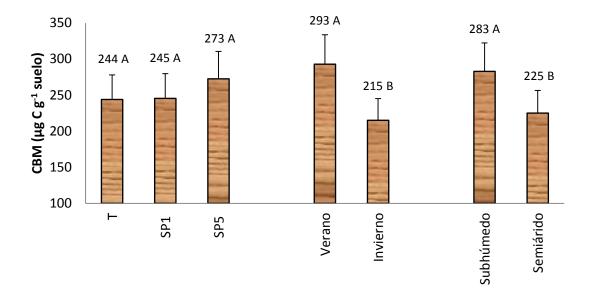


Figura 4.5. Valores promedio de carbono de la biomasa microbiana (CBM) para los diferentes usos del suelo, estaciones y sitios. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Este parámetro mostró ser sensible a las variaciones estacionales y entre sitios. En ambos sitios la biomasa microbiana fue entre un 20 y 30% menor en la época invernal (Fig.4.5 y 4.6). Esto indica que la abundancia de microorganismos estuvo fuertemente influenciada por factores ambientales como el suelo y las precipapitaciones, y que no fue alterada por SP.

La abundancia de microorganismos totales, estimada por la biomasa microbiana, fue 25% mayor en el suelo del sitio subhúmedo que en el semiárido y estuvo directamente relacionado con el contenido de COT. La biomasa microbiana es una fracción que oscila entre un 1 y 5% del COT, por lo que se corresponde que a mayor COT, mayor biomasa microbiana. A su vez no se encontraron diferencias en la biomasa microbiana asociada a las diferentes especies arbóreas (Fig. 4.6).

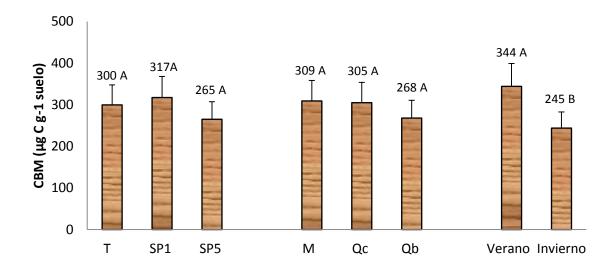


Figura 4.6. Valores promedio de carbono de la biomasa microbiana (CBM) para los diferentes usos del suelo, coberturas y estaciones para el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años habilitados mediante dos pasadas de rolo y siembra de *Panicum maximum cv Gatton panic*. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común (para cada una de las fuentes de variación) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

4. ADNr 16S TRFLP

El número de picos promedio osciló entre 11 - 27 (*Hae* III) y 10-30 (*cfo* I), luego de aplicar el consenso. La riqueza estimada por el número de fragmentos de TRFs (Tabla 4.7) se ubica dentro del rango informado por otros autores que utilizaron la técnicas 16S TRFLP para evaluar diversidad en regiones semiaridas a áridas del mundo (Fierer *et al.*, 2007; Mummey & Stahl, 2003).

Tabla 4.7. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles TRFLP 16S para los diferentes sitios y usos del suelo.

Sitio	Uso del suelo	Riqueza		Shannon	
	Т	22 ± 2	Α	2,9± 0,22	Α
Semiárido	SP1	29± 2	Α	3,1± 0,19	Α
	SP5	27± 3	Α	3,1± 0,21	Α
	Т	42± 3	В	3,3± 0,3	В
Subhúmedo	SP1	46±5	В	3,5± 0,18	В
	SP5	39± 3	В	3.3 ± 0.36	В

Referencias:(T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

En el dendograma (Fig. 4.7) se observaron claramente dos grupos indicando que la composición de las comunidades es diferente entre los sitios. La riqueza y la diversidad (Fig. 4.7; Tabla 4.7) estuvieron fuertemente influenciadas por las localizaciones geográficas. Esto indica que la composición filogenética de bacterias del suelo estuvo principalmente asociada a factores ambientales como el clima y suelo. Esta variación es explicable por la diferencia en clima, pH y contenido de C del suelo que presentan ambos sitios. Esta fuerte depedencia de los miembros de una comunidad a factores ambientales específicos ha sido observada por diferentes autores, 16S rRNA de suelo (Figuerola *et al.*, 2012), nifH (Collavino *et al.* 2014) y nirS (Rosa *et al.*, 2014)

En nuestros estudios la diversidad microbiana fue afectada por la conversion de bosques a sistemas silvopastoriles. En ambos sitios, los perfiles 16S ADNr-TRFLP son similares entre T

y SP5 y diferentes de SP1. Los grandes cambios se producen en el primer año luego del disturbio, para restablecerse a los cinco años lo que indica que las comunidades microbianas de suelo de bosque tienen capacidad de amortiguar los cambios generados por la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles. Estos reportes coinciden con varios estudios que han demostrado que las comunidades bacterianas del suelo son impulsadas por el cambio en el uso del suelo, incluyendo la modificación en la comunidad del plantas y características del suelo (Lupatini et al., 2013; Figuerola et al., 2014). Después de un año del disturbio, las comunidades microbianas se modificaron y esto podría ser producto del paso de rolo y aporte de materia orgánica, lo que implica un input significativo de C al suelo. Ng et al. (2014) demostraron que hay una relación directa entre la composición de carbono con la estructura de las comunidades microbianas del suelo. Vallejo et al. (2012) reportaron que a los tres años existe una tendencia al cambio en la estructura de las comunidades microbianas del suelo por el uso silvopastoril de *Prosopis juliflora* en referencia al bosque nativo.

En resumen, las diferencias en la estructura de las comunidades microbianas entre sitios podría atribuirse al clima (precipitaciones) y a las propiedades del suelo (carbono orgánico y pH) en coincidencia con otros autores (Figuerola *et al.*, 2012; Collavino *et al.*, 2014; Rosa *et al.*, 2014). En contraste, las diferencias entre los bosques y sistemas silvopastoriles de un año podrían atribuirse a la calidad del residuo que ingresa al suelo. Diversos autores reportaron la relación entre la diversidad microbiana y la calidad del mantillo (Torres *et al.*, 2005; Ndaw *et al.*, 2009; Keiser *et al.*, 2013). En este estudio se considera que las diferencias entre los sistemas naturales (bosques) y antropizados (silvopastoriles) está principalmente en la susceptibilidad a la degradación de los residuos de las plantas. En nuestro estudio se considera que el material depositado en el suelo de bosque es principalmente leñoso mientras que en el sistema silvopastoril ingresa material herbáceo (pastura) con mucho menor contenido de lignina en coincidencia con lo reportado por Banegas *et al.* (2015).

Los resultados demuestran que esta práctica tiene bajo impacto, y por otra parte que los microorganismos nativos muestran un alto grado de tolerancia a los cambios inducidos por el uso silvopastoril, que podrían dar lugar a las comunidades microbianas resistentes a las

alteraciones causadas por el uso de la tierra (Vallejo *et al.*, 2012). Esto es importante por los beneficios ambientales y ventajas agronómicas de la conservación de la biodiversidad, por ej: a mayor abundancia y diversidad de comunidades microbianas del suelo, mayor grado de supresión de enfermedades de plantas (Garbeva *et al.*, 2004).

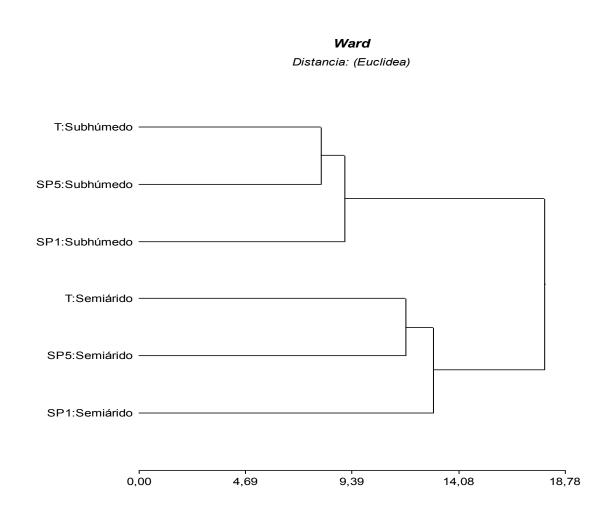


Figura 4.7. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 16S TRFLP para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años.

Por otra parte, el dendograma construido en base a los perfiles 16S-TRFLP (Fig. 4.8) y los índices de diversidad para los diferentes usos del suelo y coberturas (Tabla 4.8) mostró claramente una diferencia entre usos del suelo en coincidencia con lo detallado anteriormente y no evidenció un claro agrupamiento asociado a las diferentes coberturas arbóreas.

Tabla 4.8. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles TRFLP 16S para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido.

	Riqueza		Shannon
Т	17 ± 2	Α	2,7± 0,33 A
SP1	30 ± 3	В	
		_	·, · = ·, · · =
SP5	26± 3	В	3,0± 0,21 B
M	24 ± 2	Α	2.9 ± 0.25 A
Qb	26 ± 2	Α	3.0 ± 0.40 A
Qc	23 ± 2	Α	2,9± 0,20 A

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Las regiones semiáridas ocupan aproximadamente el 41% del total de la superficie terrestre (Reynolds *et al.*, 2007). La estructura de las comunidades de bacterias en tierras áridas está poco estudiada comparada con los ambientes húmedos a pesar de su vasta extensión en área (Kim *et al.*, 2013). En particular la región chaqueña constituye un ecosistema altamente diverso pero la diversidad microbiana de suelos de esta región está poco caracterizada (Allegrucci *et al.*, 2009; Carrillo *et al.*, 2009, Talia *et al.*, 2012; Noe & Abril, 2013). Es por ello que este trabajo representa una contribución sumamente importante a la comprensión de los agroecosistemas del Chaco.

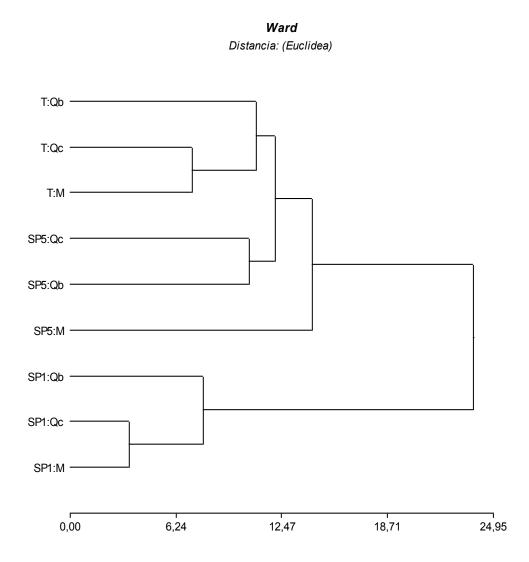


Figura 4.8. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 16S TRFLP para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*.

5. ADNr 16S DGGE

El número de bandas osciló entre 23 y 55 (Tabla 4.9) y se ubican dentro del rango informado por otros autores para el Chaco (Noe *et al.*, 2012; Noe & Abril, 2013) y para otras regiones del mundo con clima similares al del presente estudio usando la técnica DGGE dirigida al gen 16S ADNr (Ben-David *et al.*, 2011; Zhang *et al.*, 2013; Zhang *et al.*, 2015).

Tabla 4.9. Número de bandas obtenidas por DGGE 16S promedio para cada sitio y usos del suelo.

Sitio	Uso del suelo	Nº de bandas	
	Т	31 ± 2	AB
Subhúmedo	SP1	27 ± 2	Α
	SP5	27 ± 2	Α
	Т	37 ± 3	В
Semiárido	SP1	53 ± 2	С
	SP5	33 ± 3	AB

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Tanto la riqueza (número de bandas) como el análisis de clúster (Tabla 4.9 y Fig. 4.9) revelaron diferencias entre sitios al igual que la técnica TRFLP. Dentro del semiárido la estructura de las comunidades de bacteria se modificó en SP1, mientras que en el subhúmedo se modificó en SP1 y SP5. Las diferencias que pueden observarse entre los patrones obtenidos por ambas técnicas podrían atribuirse a las aspectos metodológicos, ya que TRFLP va dirigida al gen ADNr 16S de 1500 pb y DGGE va dirigida a una región hipervariable de 200pb. Sin embargo el uso complementario de ambas técnicas *fingerprint* permitió sostener de manera contundente las diferencias de la estructura de las comunidades microbianas del suelo entre sitios en coincidencia con Noe *et al.* (2012) y Noe & Abril (2013); y entre los bosques y sistemas silvopastoriles.

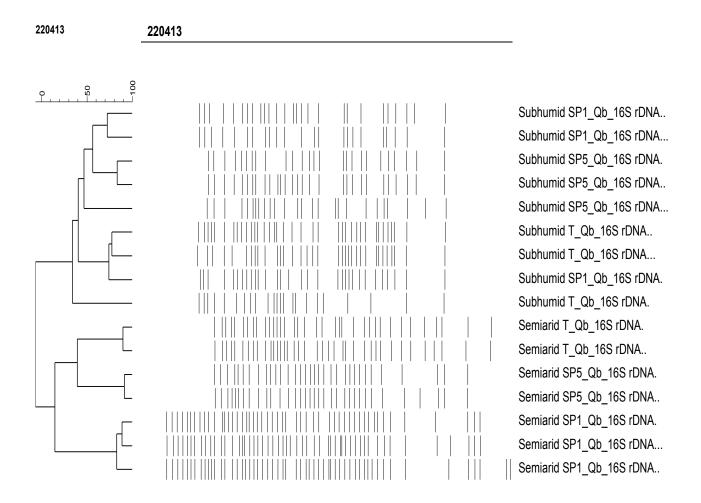


Figura 4.9. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 16S DGGE para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años habilitados mediante dos pasadas de rolo y siembra de Panicum maximum cv Gatton panic.

El análisis DGGE 16S para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido evidenció una mayor riqueza en SP1 (Tabla 4.10) posiblemente como consecuencia del incremento en la disponibilidad de recursos (agua y fuente de carbono) producto del RBI.

Anriquez et al. (2008) reportaron para el mismo sitio experimental que un primer efecto del rolado posterior a la habilitación es el incremento de la humedad del suelo.

Tabla 4.10. Número de bandas promedio, obtenidas por DGGE, para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido.

Uso del suelo	Cobertura	Nº de bandas	
	M	42 ± 2	С
	Qb	37 ± 2	ВС
T	Qc	36 ± 2	В
	M	54 ± 2	D
	Qb	53 ± 2	D
SP1	Qc	53 ± 2	D
	M	28 ± 2	Α
	Qb	34 ± 2	В
SP5	Qc	36 ± 2	В

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

El clúster mostró claramente la diferencia en la estructura de las comunidades de bacterias de suelo entre usos del suelo (Fig. 4.10) en concordancia con la riqueza.

Sumado a esto se encontró que las comunidades bacterianas en T y SP5 variaron entre las diferentes coberturas arbóreas. Esto podría estar relacionado con el contenido de materia orgánica (M>Qb y Qc) y composición química de las hojas de estas tres especies (Tabla 3.5) que ingresan al suelo como residuos al final de la estación de crecimiento. La especie mistol presenta mayores contenidos de proteína bruta y menores contenidos de polifenoles y taninos en comparación con quebracho colorado. La mayor concentración de taninos presentes en

quebracho pudieron haber tenido una incidencia directa sobre la diversidad microbiana a través de su efecto antibacterial (Elizondo *et al.*, 2010).

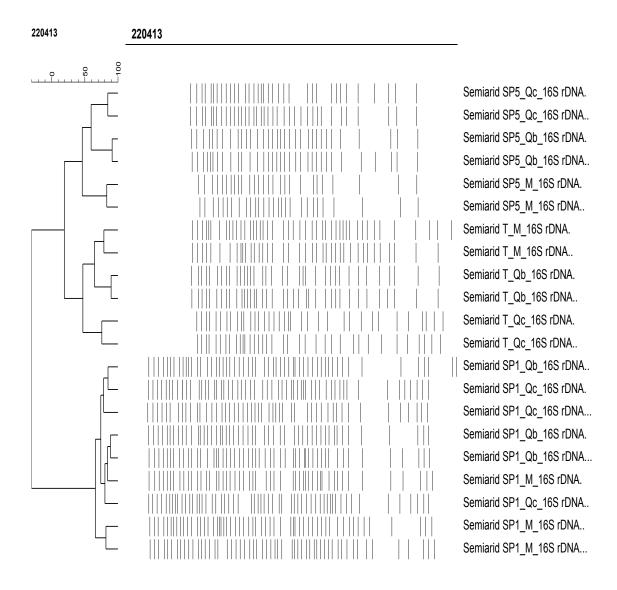


Figura 4.10. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 16S DGGE para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis Iorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*.

6. ADNr 18S TRFLP

El número de picos oscilo entre 6 y 21, amplitud de rango mayor a la reportada por Brodie *et al.* (2003). Los resultados mostraron que la riqueza y diversidad de hongos cultivables y no cultivables variaron entre usos del suelo dependiendo del sitio (Tabla 4.11).

Tabla 4.11. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles TRFLP 18S para los diferentes sitios y usos del suelo.

Sitio	Usos del suelo	Riqueza		Shannon	
	Т	21± 1	В	1,59± 0,15	В
Semiárido	SP1	8± 1	Α	1,14± 0,12	Α
	SP5	6± 1	Α	0,97± 0,21	Α
Subhúmedo	Т	11± 2	Α	1,26± 0,15	Α
	SP1	10± 2	Α	1,23± 0,15	Α
	SP5	9± 1	Α	1,12± 0,12	Α

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Los resultados de los perfiles TRFLP evidenciaron que las comunidades de hongos del suelo se diferenciaron entre sitios solo en los testigos (Fig. 4.11). En cambio, en los silvopastoriles la composición de hongos es similar entre los sitios evidenciando que el uso silvopastoril altera la variabilidad espacial de la composición de hongos del suelo.

Ward

Distancia: (Euclidea)

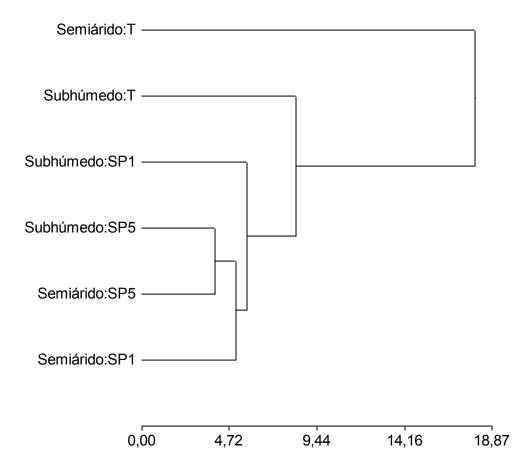


Figura 4.11. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 18S TRFLP para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años.

El clúster mostró que la composición de hongos del suelo, independientemente del sitio, varió entre T y SP (Fig. 4.11). Estos resultados evidenciaron que la diversidad de hongos del suelo es más sensible que las bacterias a los cambios en la vegetación (bosque vs silvopastoril) en coincidencia con Suzuki et al. (2012) quienes reportaron que la diversidad bacteriana es más afectada por el carbono del suelo y que la diversidad de hongos es más afectada por la estructura de la vegetación. En los bosques probablemente se han establecido comunidades de hongos compuestas por miembros capaces de degradar material lignocelulósico proveniente de los árboles y arbustos. En cambio en los sistemas silvopastoriles, las comunidades estarían compuestas tanto por hongos lignocelulolíticos como por aquellos capaces de utilizar como fuente de C sustratos más lábiles provienientes de la necromasa y los exudados radiculares de *Panicum maximum*. Muchos trabajos asocian la microbiota lignocelulolítica a diferentes tipos de sustratos orgánicos en diversos ecosistemas, las enzimas que intervienen y las condiciones que favorecen la degradación (Saparrat et al., 2013).

Por otra parte, en el sitio semiárido, la riqueza y diversidad de hongos fue mayor en el bosque (Tabla 4.12) y no estuvo influenciada por las coberturas.

Tabla 4.12. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles TRFLP 18S para los diferentes usos del suelo en el sitio semiárido.

Uso del suelo	Riqueza	Shannon		
Т	21± 2	В	1,57± 0,08 B	
SP1	9± 2	Α	1,04± 0,08 A	
SP5	13± 3	Α	1,25± 0,12 A	

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

El clúster para el sitio semiárido (Fig.4.12) mostró que las comunidades de hongos del suelo en el bosque nativo fueron diferentes al sistema silvopastoril. Este comportamiento sugiere que los hongos son significativamente afectados por el manejo a diferencia de las

bacterias que mostraron resiliencia debido probablemente a su alta complejidad comparado con los hongos en coincidencia con Chroňáková *et al.* (2013).

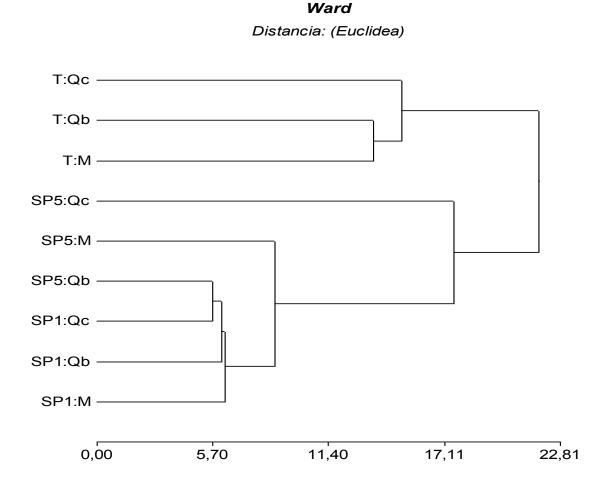


Figura 4.12. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 18S TRFLP para los diferentes usos del suelo y coberturas. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis Iorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*.

7. ADNr 18S DGGE

El número de bandas obtenidas oscilo entre 8 y 13 y se ubican dentro del rango de números de ribotipos obtenidos por Brodie *et al.* (2003) utilizando la misma técnica en muestras de ADN de suelo de sitios con pastura en ambientes templados. El número de bandas (ribotipos) obtenidos para ADNr 18S-DGGE es significativamente menor que los ribotipos obtenidos para ADNr 16S-DGGE en coincidencia con diversos autores que emplearon la técnica DGGE para evaluar riqueza de bacterias y hongos del suelo en diferentes ecosistemas naturales y antropizados (Susuki *et al.*, 2012; Alele *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015).

La técnica DGGE reveló menor número de ribotipos que TRFLP lo que podría atribuirse a que este método podría tener limitaciones en la resolución de ribotipos menos abundantes. Moeseneder *et al.* (1999) y Brodie *et al.* (2003) coinciden que TRFLP mostró sensibilidad para distinguir gran proporción de ribotipos de muestras ambientales.

El dendograma basado en los perfiles 18S DGGE (Fig. 4.13) mostró diferencias solo entre sitios. El sitio semiárido presentó mayor número de bandas (10) respecto del subhúmedo (8). Los resultados sugieren que el clima y las propiedades inherentes al suelo contribuyen significativamente a las diferencias en la estructura de las comunidades de hongos.

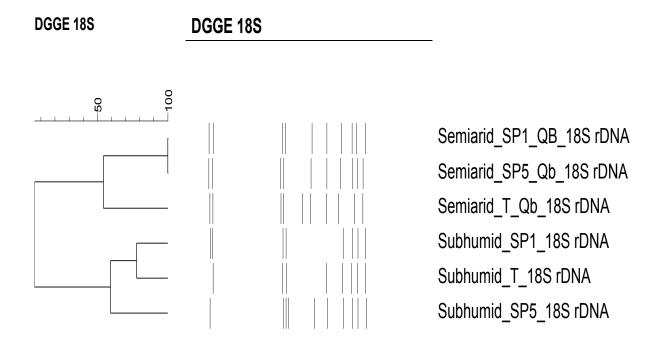


Figura 4.13. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 18S DGGE para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años.

Al igual que con TRFLP 18S no se obtuvieron perfiles DGGE 18S (Fig.4.14) asociados a las diferentes coberturas arbóreas. Esto sugiere que las bacterias son sensibles al tipo de sustrato que ingresa al suelo (composición química de hojas de árboles) debido probablemente a que este dominio posee mayor diversidad metabólica.

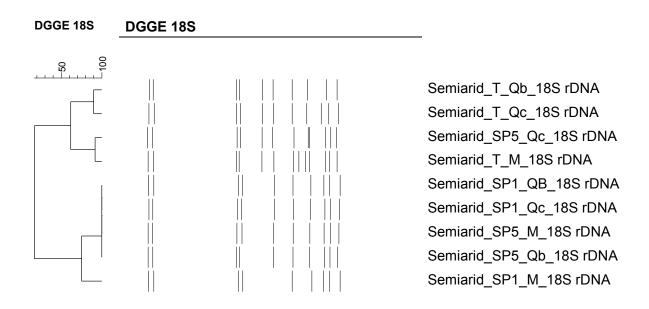


Figura 4.14. Dendograma construido en base a los perfiles ADNr 18S DGGE para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años habilitados. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*.

Conclusiones

El sitio y la estacionalidad son los factores que mayor influencia ejercen sobre la abundancia tanto de microorganismos cultivables como no cultivables en bosques y sistemas silvopastoriles del Chaco. La densidad de microorganismos cultivables y no cultivables es mayor en el sitio subhúmedo. Las variaciones estacionales observadas estarían relacionadas a los eventos de precipitación.

La transformación de bosques nativos a sistemas silvopastoriles modifica la estructura de las comunidades microbianas del suelo luego de un año de la habilitación mediante RBI. Muchos grupos bacterianos se restauran a los cinco años luego del disturbio generado por el paso del rolo y siembra de *Panicum maximum cv Gatton panic*. La influencia de las diferentes especies arbóreas sobre la diversidad microbiana sólo pudo ser puesta de manifiesto mediante la técnica DGGE, lo que evidencia su grado de sensibilidad con respecto a los otros procedimientos empleados en este estudio

La estructura de comunidades fúngicas estimadas por TRFLP se modifican por el uso silvopastoril denotando que son mas sensibles que las bacterias a la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles.

CAPITULO 5

EFECTO DE LOS SISTEMAS SILVOPASTORILES EN LA FUNCIONALIDAD DEL SUELO

Introducción

El incremento en la demanda global de alimentos está llevando a la intensificación de las prácticas agropecuarias y al incremento en la presión sobre los recursos naturales, entre ellos el suelo. Esta situación plantea un desafío de producir dentro de los límites de la sustentabilidad. El cambio del uso del suelo, y el creciente reconocimiento de la necesidad de mejorar la sostenibilidad de las prácticas agropecuarias, ha llevado a la adopción generalizada de los procesos de mínimo impacto (Bisset et al., 2013). Por lo tanto, para garantizar que los disturbios antrópicos son compatibles con la conservación del suelo se requiere del estudio de sus efectos para detectar la magnitud de su impacto. En este sentido reviste vital importancia el componente microbiano, ya que los microorganismos cumplen diversos roles en el funcionamiento de los ecosistemas, por ello es deseable incrementar la diversidad de la biota del suelo responsable de las funciones ecosistémicas claves. Las comunidades microbianas, catalizan un amplio rango de procesos que son importantes para la productividad y sostenibilidad del ecosistema suelo. Las relaciones directas entre estructura y función de las comunidades microbianas son difíciles de dilucidar, es por ello que tanto la estructura como la función son parámetros que caracterizan la respuesta de los microorganismos a la perturbación y al cambio de uso del suelo (Bissett et al., 2013).

La evaluación de la microbiota representa un enfoque promisorio para caracterizar y detectar factores que afecten la calidad del suelo (Buckley & Schmidt, 2001) y ello tiene consecuencias en todo el ecosistema (Pace, 1997), ya que los microorganismos del suelo son vitales para el continuo ciclado de nutrientes y para la conducción del ecosistema por encima del suelo (Cairney, 2000; Klironomos *et al.*, 2000; Ovreas, 2000).

Las comunidades microbianas pueden ser consideradas una propiedad biológica dinámica del suelo que cambia frecuentemente en respuesta al uso y manejo y pueden proveer una medida directa del funcionamiento del suelo (Garbisu *et al.*, 2011). Las diferencias en la actividad enzimática del suelo entre los diferentes ecosistemas puede reflejar la integridad

funcional y servicios de los ecosistemas asociados y deben tenerse en cuenta a la hora de cambiar el uso de suelo por ejemplo: las prácticas menos conservadoras en una región determinada (Mijangos et al., 2014).

Las enzimas del suelo, derivadas principalmente de los microorganismos, juegan un rol esencial en la catálisis de reacciones necesarias para el ciclado de nutrientes y son las responsables de la formación de moléculas orgánicas estables que contribuyen al funcionamiento del ecosistema suelo. Dado que la actividad enzimática está influenciada por factores físicos, químicos y biológicos, son usadas como índices de actividad microbiana, respondiendo rápidamente a los cambios en el ambiente (Chao-Rong & Qi-Chun, 2011).

La actividad deshidrogenasa tiene un rol fundamental en las etapas iniciales de oxidación de la materia orgánica del suelo (Trasar Cepeda *et al.*, 2003) y ha sido usado exitosamente como un indicador sensible para el monitoreo de calidad de suelo en la Región Chaqueña (Albanesi *et al.*, 2003). La actividad β-glucosidasa está involucrada en la etapa final de la degradación de la celulosa y está relacionado a las entradas de materia orgánica al suelo (Moeskops, 2012). La hidrólisis del diacetato de fluoresceína es un método rápido, sensible y ampliamente aceptado como un estimador de la actividad microbiana global (Adam & Duncan, 2001). La medición del desprendimiento del CO₂ es útil para describir el efecto de determinadas factores sobre los procesos oxidación de la materia orgánica y se ha empleado para estimar la biomasa microbiana del suelo activa (West *et al.*, 1987).

Otro enfoque que permite describir la funcionalidad de los microorganismos del suelo es el empleo de otras técnicas bioquímicas. Dos metodologías ampliamente difundidas en el ámbito de la microbiología de suelo son BIOLOG y Respiración Múltiple Sustrato Inducido. El primero mide la actividad microbiana mediante una reacción de reducción de tetrazolio (Garland & Mills, 1991) mientras que el segundo es una medición directa del CO₂ producido (Degens & Harris, 1997; Campbell *et al.*, 2003) o consumo de O₂ (Garland *et al.*, 2003) por la biota presente en el suelo.

BIOLOG es una marca registrada de un procedimiento de determinación del perfil fisiológico de la comunidad en estudio (CLPP, community level physiological profiling). Este procedimiento consiste en la extracción de las células de la muestra de suelo y su inoculación d en microplacas conteniendo un medio base con diferentes fuentes de carbono y un colorante indicador redox. El metabolismo de cada fuente de carbono es cuantificado por colorimetría a través de la reducción del colorante tetrazolio. Aunque es una técnica basada en cultivo, se ha demostrado que células no cultivables responden a este método (Garland & Lehman, 1999). Por lo tanto, este método no sería tan sesgado como las técnicas de cultivo tradicionales (Preston-Mafham et al., 2002). Es importante destacar que este ensayo in vitro, sólo muestra la potencialidad fisiológica y no refleja necesariamente la actividad fisiológica de la comunidad a campo (Garland & Lehman, 1999). En sentido inverso, la falta de metabolismo de un sustrato no refleja la funcionalidad de la comunidad in situ. CLPP refleja sólo las características funcionales de aquellos microorganismos capaces de crecer o estar activos en condiciones de ensayo, dando una imagen incompleta de la funcionalidad de la comunidad (Smalla et al. 1998, Preston-Mafham et al., 2002). Por otra parte, la diversidad metabólica no indica la diversidad de especies, como en el caso de una comunidad compuesta de pocas especies generalistas y un gran número de especies especialistas (Garland, 1997; Konopka et al., 1998).

Aún con las limitaciones que presenta este método, provee resultados rápidos y reproducibles que permite discriminar comunidades de bacterias en muestras ambientales (San Miguel *et al.*, 2007). Por tal motivo, está siendo ampliamente empleado en estudios de ecología microbiana (Weber *et al.*, 2007; San Miguel *et al.*, 2007; Weber & Legge, 2009; Tiquia, 2010).

Comprender las respuestas bioquímicas y microbiológicas de la conversión de bosques nativos a sistemas silvopastoriles colaborará en la toma de decisiones basadas en criterios científicos para mejorar la sustentabilidad de los sistemas ganaderos.

En este contexto se hipotetiza que las diferencias entre sitios en el pH, carbono orgánico y estructura de las comunidades microbianas se reflejan en diferencias en las actividades enzimáticas y en los perfiles metabólicos de la microbiota del suelo.

La variación en la entrada de residuos al suelo asociado a los diferentes usos del suelo y coberturas seguramente genera diferencias en la bioquímica del suelo, el propósito de estos estudios es caracterizar cuali y cuantitativamente estas diferencias.

Objetivos

- 1. Analizar el efecto del RBI sobre la funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo a corto y mediano plazo en dos subregiones del Chaco: semiárida y subhúmeda.
- 2. Describir la influencia de las diferentes coberturas arbóreas en la funcionalidad de las comunidades microbianas del suelo en el bosque y sistema silvopastoril de la subregión semiárida.

Resultados y discusión

1. Actividad deshidrogenasa (Dhasa)

A partir de los resultados mostrados en la fig. 5.1, claramente se observa que los valores de actividad Dhasa de las muestras testigo presentan diferencias significativas, siendo mayores para el sitio semiárido en ambas estaciones.

La actividad Dhasa sólo se vió afectada por la transformación de bosques a sistema silvopastoril en el sitio semiárido, en el que mostró un descenso de un 30% en invierno y 53 % en verano. Sin embargo, este descenso muestra una leve recuperación al quinto año.

El sistema silvopastoril altera la variabilidad estacional de la actividad de la microflora oxidante. Sólo las muestras de bosque nativo del sitio semiárido presentaron diferencias estacionales en los valores de Dhasa, siendo mayores en verano. Estas diferencias estacionales se pierden con la transformación de bosque nativo a sistema silvopastoril.

Los valores de actividad Dhasa registrados en este estudio fueron ligeramente superiores a lo reportado por Albanesi *et al.* (2003a) (1,7 a 3,6 mg TPF kg⁻¹ h⁻¹) para sistemas agrícolas convencionales del centro este de Santiago del Estero (Fig. 5.1).

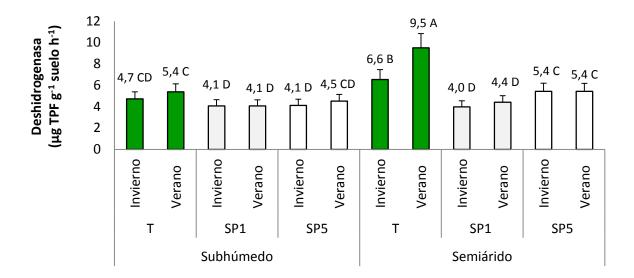


Figura 5.1. Valores promedio de actividad deshidrogenasa para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

En coincidencia con lo reportado por otros autores, en nuestro estudio la actividad deshidrogenasa se comporta como un posible indicador de actividad microbiana del suelo para áreas semiáridas (García *et al.*, 1994; Jorge-Mardomingo *et al.*, 2013).

Los valores de Dhasa en el sitio semiárido (Fig. 5.2) no mostraron patrones asociados a las diferentes especies arbóreas.

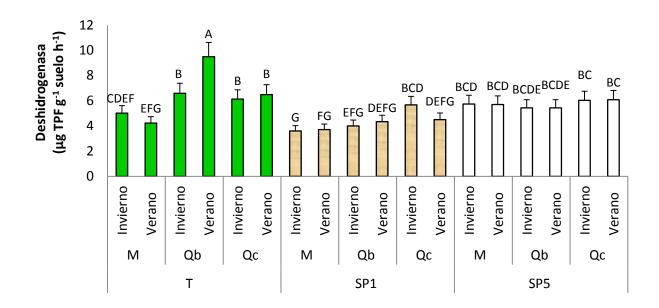


Figura 5.2. Valores promedio de actividad deshidrogenasa para los diferentes usos del suelo y coberturas. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

2. Actividad β-glucosidasa (β-asa)

Los resultados mostraron que las consecuencias de la conversión de bosques a sistemas silvopastoriles y los efectos de la estacionalidad sobre la actividad β-glucosidasa dependen del sitio.

En general los valores de β -asa (Fig. 5.3) fueron mayores en el sitio subhúmedo. Esto podría ser atribuido a una mayor disponibilidad de sustrato sugerido por un mayor contenido de COT y COP. La mayor actividad β -glucosidasa en T se debió probablemente al mayor ingreso de carbono al suelo dado por el aporte de necromasa de los arbustos que están presentes en el bosque. Otros autores reportaron que la remoción de los residuos de la superficie del suelo se traduce en una significativa reducción de las actividades enzimáticas como la β glucosidasa en

corto tiempo (Fekete *et al.*, 2011) debido posiblemente a la disminución de los sustratos disponibles para la biomasa microbiana (Ralte *et al.*, 2005; Yin *et al.*, 2014). Por otra parte esta actividad pudo haber estado influenciada por la naturaleza química del carbono que ingresa al suelo. Esta hipótesis es soportada por Ng *et al.* (2014) quienes reportaron que las formas de C del suelo explican entre el 46 y el 86% de las variaciones en la actividad y composición microbiana.

La mayor actividad β-glucosidasa en invierno, en el ambiente subhúmedo, podría atribuirse a una precipitación de 35 mm acontecida siete días previos al muestreo, evento que pudo haber estimulado la actividad microbiana del suelo (Huxman *et al.*, 2004; Carbone *et al.*, 2011; Bustamante *et al.*, 2012; Dijkstra *et al.*, 2012).

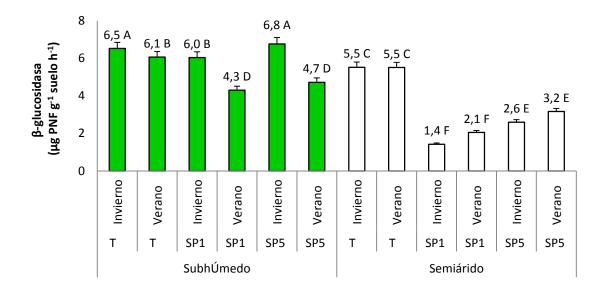


Figura 5.3. Valores promedio de actividad β-glucosidasa para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Las muestras del sitio semiárido mostraron valores de actividad β-glugosidasa claramente dependientes de la transformación a sistema silvopastoril. Luego del primer año se observa un descenso brusco que tiende a revertirse a los cinco años. Los resultados mostrados en la figura 5.4 indican que este comportamiento no es dependiente de las diferentes coberturas.

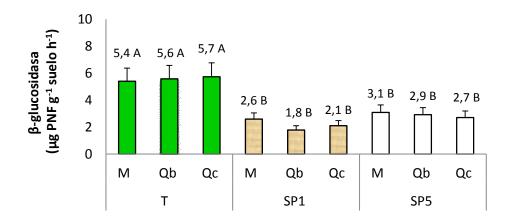


Figura 5.4. Valores promedio de actividad β-glucosidasa para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

3. Hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA)

Los resultados mostraron que las consecuencias de la conversión de bosques a sistemas silvopastoriles y los efectos de la estacionalidad sobre la actividad FDA dependen del sitio. En el sitio subhúmedo (Fig. 5.5) la FDA fue mayor en la época invernal. Este comportamiento está relacionado con lo observado para β-glucosidasa.

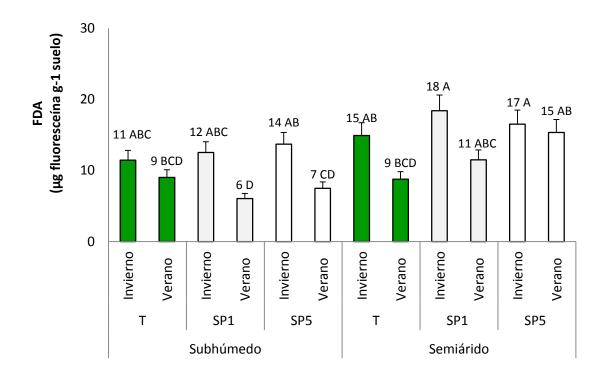


Figura 5.5. Valores promedio de actividad hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA) para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

La actividad FDA en el sitio semiárido (Fig. 5.5) estuvo influenciada por las estaciones y fue mayor en verano probablemente debido a una mayor biomasa microbiana (Fig. 4.6). Esto indica que la FDA tiene alta dependencia ambiental (precipitaciones) y baja sensibilidad al cambio del uso del suelo.

En el sitio semiárido (Fig. 5.6) se registraron valores de FDA menores bajo la cobertura de quebracho colorado. Esto sugiere que sólo algunas funciones del suelo son influenciadas por la cobertura arbórea y en este caso la menor actividad bajo Qc podría deberse a la alta concentración de fenoles y taninos (Tabla 3.4) que tienen actividad antimicrobiana.

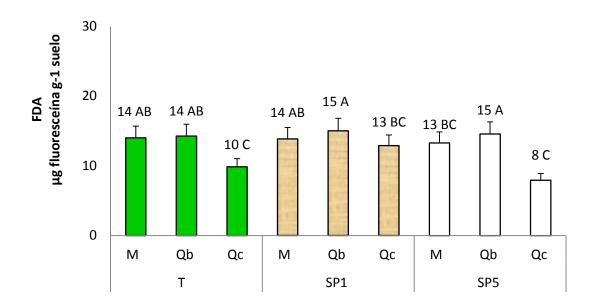


Figura 5.6. Valores promedio de actividad hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA) para los diferentes usos del suelo y coberturas. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

El análisis de las diferentes actividades enzimáticas evidencia que la actividad FDA y β -glucosidasa presentan mayor sensibilidad a los eventos discretos de precipitación que la actividad Dhasa. La actividad Dhasa tiene alto poder de discrimincación entre usos del suelo en el semiárido y β -glucosidasa en los dos ambientes estudiados.

4. Respiración

Los valores medios de respiración fueron similares a lo informado por Anriquez *et al.* (2005) y Albanesi *et al.*, (2013a) para sistemas pastoreados del Chaco con aplicación de fuego prescripto. A su vez estos valores fueron menores a lo reportado por Abril *et al.* (2005) para

sistemas ganaderos con una tendencia a la pérdida de materia orgánica del suelo por sobrepastoreo. Las consecuencias de la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles sobre la respiración del suelo estuvieron influenciadas por el sitio. En el sitio subhúmedo no se registraron diferencias mientras que en en sitio semiárido siguió el T>SP5>SP1 (Fig.5.7). Este comportamiento fue semejante a la actividad deshidrogenasa y puede deberse a que ambas determinaciones reflejan procesos relacionados. Esta idea se sostiene en el hecho de que diversos autores han encontrado una alta correlación entre respiración y actividad deshidrogenasa del suelo (Aquilera et al., 1988; Włodarczyk et al., 2002).

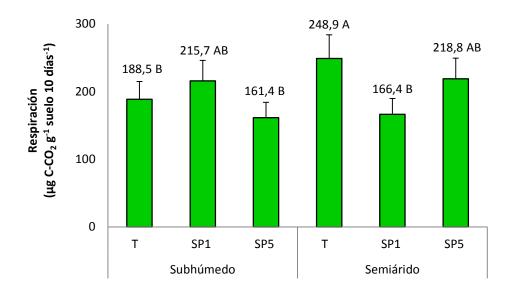


Figura 5.7. Valores promedio de respiración edáfica para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Para el sitio semiárido, los valores medios de respiración del suelo estuvieron influenciados por los diferentes usos del suelo y las coberturas. La liberación de CO₂ por parte de los microorganismos heterótrofos se redujo en el primer año en coincidencia con Anriquez *et al.* (2005) y luego se restableció a los cinco años. Esto podría deberse a la gran cantidad de residuos de arbustos de alta relación C:N que ingresa al suelo producto del RBI. En esta

situación los microorganismos se enfrentan a un desequilibrio del sustrato entre la relación C:N de las plantas leñosas que son muy altos en comparación con la relación C:N baja de la biomasa microbiana (Spohn & Chodak, 2015). Los efectos del RBI en el primer año generaron cambios en la estructura de las comunidades de bacterias del suelo (ver cap. 4) y probablemente ello se refleje en una diferencia metabólica.

La menor respiración registrada bajo la cobertura de quebracho colorado (Fig. 5.8) podría estar relacionado al alto contenido de taninos que presenta esta especie (Tabla 3.4) con efecto antimicrobiano.

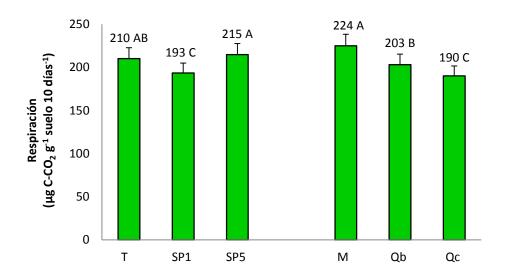


Figura 5.8. Valores promedio de respiración edáfica para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis Iorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común (dentro de cada factor) no son significativamente diferentes (p> 0,05).

5. Perfiles BIOLOG

La representación en dendrograma del análisis de los datos obtenidos por el procedimiento EcoPlate de Biolog, muestra claramente que los perfiles metabólicos (CLPP) dependen fuertemente de los sitio en estudio (Fig. 5.9).

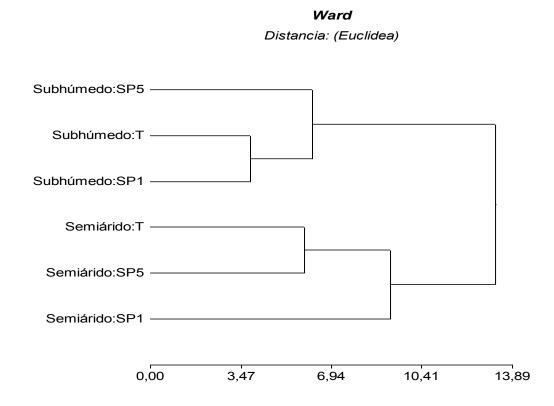


Figura 5.9. Dendograma construido en base a los perfiles BIOLOG para los diferentes sitios y usos del suelo. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años.

En el sitio subhúmedo fueron necesarios 5 años para detectar las diferencias en los potenciales catabólicos (*AWCD*) (Fig. 5.10), perfiles fisiológicos (Fig. 5.9) e índices de diversidad (Tabla 5.1) mientras que en el sitio semiárido después de un año de la intervención se detectaron cambios en los CLPP, los cuales se reestablecieron a los cinco años.

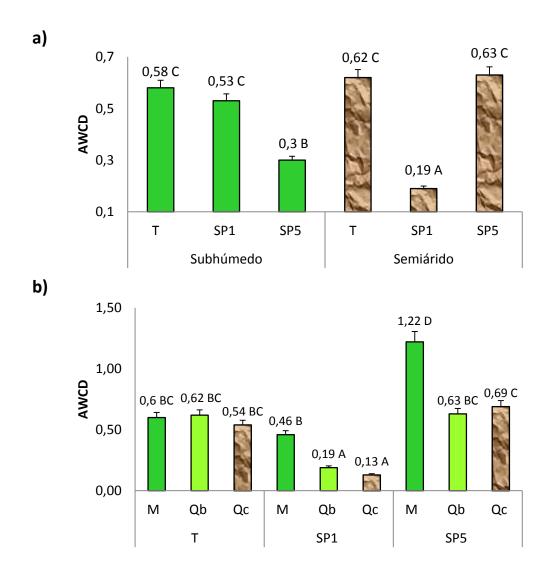


Figura 5.10. Valores promedio de AWCD (average well color development) para los diferentes sitios y usos del suelo (a) y para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido (b). Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de Schinopsis lorentzii; Qb, suelo bajo la cobertura de Aspidosperma quebracho blanco y M, suelo bajo la cobertura de Ziziphus mistol Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

Estos resultados evidencian que los sitios (subhúmedo y semiárido) son diferentes en cuanto a su resiliencia. Se define resiliencia como la capacidad de volver a un estado orignial después de un disturbio (Seybold *et al.*, 1999). La similitud en los perfiles BIOLOG entre el bosque y SP5; y la discrepancia de estos respecto de SP1 (semiárido) daría una noción de la capacidad que tendrían las comunidades microbianas de este sitio para volver al estado inicial, en términos de funcionalidad, en coincidencia con Rivest *et al.* (2013) quienes reportaron alta resiliencia microbiana en sistemas agroforestales. Sin embargo embargo no sucede lo mismo en el sitio subhúmedo lo que sugiere que la resiliencia puede variar de acuerdo a las condiciones específicas de cada sitio (Romero *et al.*, 2014).

Tabla 5.1. Valores promedio de índices de diversidad calculados en base a los perfiles BIOLOG para los diferentes sitios y usos del suelo.

Sitio	Uso del suelo	Riqueza	Shannon
	Т	18 ± 1 B	2,7± 0,35 B
Subhúmedo	SP1	17 ± 2 B	2,7± 0,15 B
	SP5	12 ± 1 A	2,3 ± 0,22 A
	Т	24 ± 1 C	2,9 ± 0,24 C
Semiárido	SP1	16 ± 1 B	2,6± 0,4 B
	SP5	24 ± 2 C	3,0± 0,4 C

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

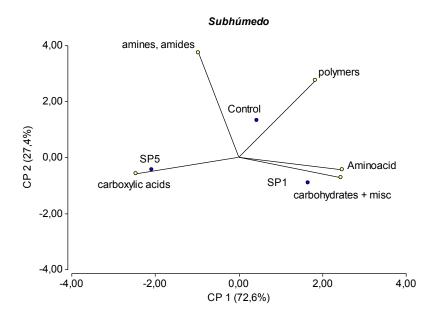
La aparente discrepancia entre los patrones de comportamiento obtenidos por ADNr- 16S y BIOLOG se explica fácilmente a partir de la comprensión de los fundamentos de cada una de estas metodologías, y por lo tanto el alcance de estos análisis. Los procedimientos 16S-TRFLP y DGGE van dirigidos a las comunidades totales (cultivables y no cultivables) de bacterias. En estos procedimientos se detecta la diversidad genómica (limitada a los genes 16S rDNA). En tanto que con el método BIOLOG se estudia principalmente el metabolismo de comunidades cultivables. En definitiva, una vez más se muestra que estos procedimientos no deberían ser considerados como alternativas, sino más bien como complementarios en el estudio de las comunidades.

Tabla 5.2. Valores promedio de índices de diversidad caculados en base a los perfiles BIOLOG para los diferentes usos del suelo y coberturas en el sitio semiárido.

Uso del suelo	Cobertura	Riqueza	Shannon
	М	22 ± 2 B	2,8 ± 0,21 BC
Т	Qb	24 ± 2 B	2,9 ± 0,23 BC
	Qc	21 ± 3 B	2,8 ± 0,19 BC
	М	26 ± 5B	3,0± 0,23 C
SP1	Qb	16 ± 2 A	2,6± 0,24 AB
	Qc	15 ± 2 A	$2,4 \pm 0,28 \text{ A}$
	М	26 ± 3 B	3,1± 0,26 C
SP5	Qb	24 ± 3B	3,0± 0,31 C
	Qc	26 ± 2B	3,0± 0,19 C

Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*. Medias con letra común no son significativamente diferentes (p> 0,05).

También se observó una variación en los tipos de fuentes de C entre usos del suelo dentro de cada sitio. En el subhúmedo SP1, la biota mostró preferencia por los carbohidratos y aminoácidos mientras que en SP5 la biota mostró preferencia por los ácidos carboxílicos (Fig. 5.11). La biota en el semiárido SP1 mostró preferencia por las aminas, amidas y polímeros mientras que para SP5 fueron los ácidos carboxílicos y aminoácidos. Independientemente del sitio los resultados sugieren que, cuando se transforman los bosques nativos en sistemas silvopastoriles, las comunidades microbianas son impulsadas a usar preferentemente los ácidos carboxílicos. La diferencia en los tipos de fuentes de C entre usos del suelo dentro de cada sitio estaría indicando tempranamente un cambio en la composición del carbono del suelo.



......continúa página siguiente

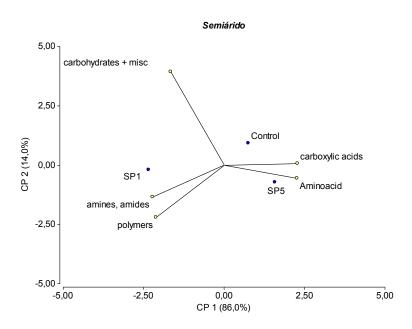


Figura 5.11. Análisis de componentes principales construido en base a la utilización de fuentes de carbono agrupadas por naturaleza química para los diferentes usos del suelo dentro de cada sitio. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años.

Los perfiles fisiológicos para el sitio semiárido (Fig. 5.12) y los índices de diversidad (Tabla 5.2) no mostraron un patrón asociado a las diferentes especies arbóreas. Sin embargo, el análisis de componentes principales con base en la utilización de fuentes de carbono agrupadas por naturaleza química (Fig. 5.13) sugiere que los perfiles fisiológicos estarían relacionados con la composición química de las hojas de las diferentes especies arbóreas. La comunidad microbiana bajo quebracho colorado en el bosque utiliza preferentemente polímeros posiblemente porque esta especie tiene alta concentración de fenoles y taninos en las hojas (Tabla 3.4). Bajo la cobertura de mistol los microorganismos usan preferentemente carbohidratos y aminoácidos posiblemente porque esta especie presenta menor contenido de fibra y mayor contenido de proteínas.

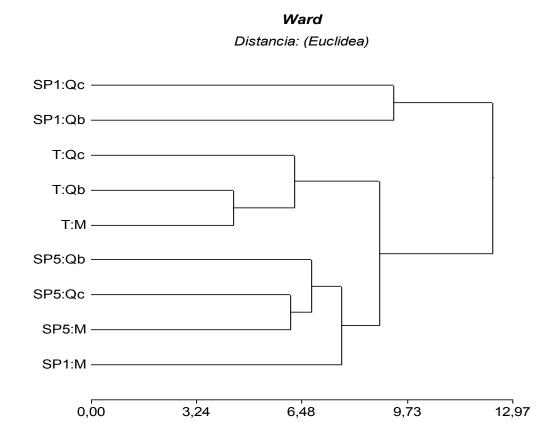


Figura 5.12. Dendograma construido en base a los perfiles BIOLOG para los diferentes usos del suelo y coberturas para el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis Iorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*.

La preferencia por determinadas fuente de C y N se modificó en SP por el cambio en las entradas de carbono y nitrógeno al suelo. Esto se explicaría en primer lugar por el ingreso de material lignocelulósico aplastado por el rolo proveniente de un gran diversidad de arbustos (ver mat y métodos) con diferente composición química (Tabla 3.4). En segundo lugar por el ingreso de necromasa de Gatton panic. Estos resultados sugieren que el efecto del ingreso de residuos aplastado por el rolo y el Gatton panic es mayor al efecto que generan las diferentes especies de árboles sobre los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad.

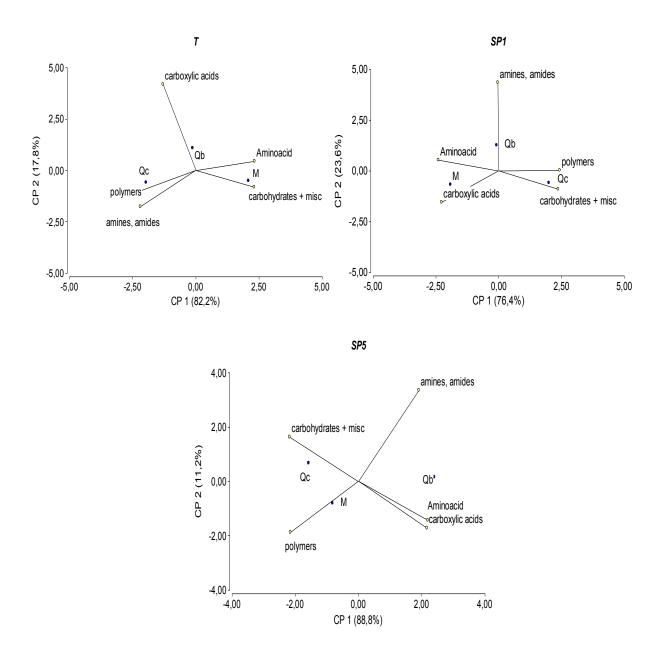


Figura 5.13. Análisis de componentes principales construido en base a la utilización fuentes agrupadas con naturaleza química para las diferentes coberturas dentro de cada uso del suelo en el sitio semiárido. Referencias: (T) bosque nativo; (SP1) sistema silvopastoril de 1 año y (SP5) sistema silvopastoril de 5 años. Qc, suelo bajo la cobertura de *Schinopsis lorentzii*; Qb, suelo bajo la cobertura de *Aspidosperma quebracho blanco* y M, suelo bajo la cobertura de *Ziziphus mistol*.

Conclusiones

Las consecuencias de la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles en la bioquímica del suelo dependen principalmente del sitio. La actividad deshidrogenasa y respiración tienen mayor sensibilidad al cambio de uso del suelo sólo en el semiárido mientras que la actividad β-glucosidasa en ambos sitios.

La dirección de los cambios en los perfiles fisiológicos a nivel de comunidad depende del sitio. Se requiere un año en el semiárido y cinco años en el subhúmedo para detectar los cambios.

En ambos sitios la microbiota de los sistemas silvopastoriles de cinco años muestra una preferencia por los ácidos carboxílicos. La biota de los bosques, a diferencia de los SP, muestras una preferencia más variada por las fuentes de C y N. Este comportamiento estaría anticipando cambios en la composición del carbono orgánico del suelo.

En el bosque del sitio semiárido, los perfiles fisiológicos varían según las diferentes especies arbóreas y esto está relacionado a la composición química diferencial de las hojas de estas estas especies. Las comunidades microbianas del suelo bajo la cobertura de quebracho colorado muestran preferencias por los polímeros, mientras que la microbiota del suelo bajo la cobertura de mistol muestra preferencia por los carbohidratos y aminoácidos.

CAPITULO 6

ANÁLISIS CONJUNTO

Introducción

A nivel mundial hay miles de km² de suelos degradados como consecuencia de la adopción generalizada de un tipo de sistema de producción que prioriza sólo la alta productividad de los cultivos (Cardoso *et al.*, 2013). Esta situación constituye uno de los principales problemas ambientales que afecta a la humanidad, impactando en la capacidad productiva de los suelos y en la calidad ambiental (Reicosky, 2007). Para comprender y diagnosticar el impacto de las actividades productivas sobre el suelo es necesario monitorear los parámetros que permitan inferir su calidad. En este sentido numerosos estudios históricos y recientes se focalizaron en el uso de indicadores, con un incremento notorio en el uso de propiedades microbiológicas (Fig. 6.1).

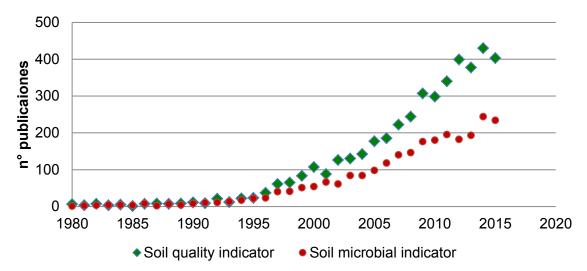


Figura 6.1. Número de artículos publicados por años reportados por el metabuscador scopus usando como palabras clave "soil quality indicator" y "soil microbial indicator". Fuente: www.scopus.com (consultado el 13/06/2016).

Un indicador es una variable que resume o simplifica información relevante haciendo que un fenómeno o condición de interés se haga perceptible y que cuantifica, mide y comunica, en forma comprensible, información relevante. Las principales funciones de los indicadores son: evaluar condiciones o tendencias, comparar transversalmente sitios o situaciones, para evaluar metas y objetivos, proveer información preventiva temprana y anticipar condiciones y tendencias futuras (Cantú *et al.*, 2007). Una variable debe cumplir con ciertos requisitos para que sea considerada como buen indicador de calidad de suelo. Las variables deben ser lo suficientemente sensibles a las modificaciones inducidas por las prácticas de manejo y baja sensibilidad a los cambios debido a variables meteorólogicas (Benintende *et al.*, 2016).

En el norte argentino los indicadores de calidad de suelo han sido seleccionados con diferentes propósitos (Albanesi *et al.*, 2003; Benintende *et al.*, 2015; Rojas *et al.*, 2016) y no ha sido publicado hasta el momento un set de indicadores aplicable universalmente. Cardoso *et al.* (2013) y Rojas *et al.* (2016) sostienen que los indicadores de calidad de suelo deben ser seleccionados a nivel local de acuerdo a las características del suelo, al manejo y a las circunstancias ambientales. Por lo tanto es necesario definir un conjunto de variables que permitan monitorear los cambios en la calidad del suelo en sistemas silvopastoriles de la Región Chaqueña.

Objetivos

- 1. Definir un conjunto adecuado de indicadores para el monitoreo de la calidad de los suelos de sistemas silvopastoriles en ambas subregiones chaqueñas.
- 2. Tipificar los suelos de acuerdo a los factores que determinan su calidad.

Resultados y discusión

1. Correlaciones canónicas

La correlación más alta posible entre la combinación lineal de las variables independientes (variables físicas y químicas) y la combinación lineal de las variables dependientes (biológicas relacionadas a la estructura de las comunidades microbianas) generaron un coeficiente de correlación canónica R=0,95 (p< 0,01). El R²= 0,91 indica que el 91% de la variabilidad de los datos se explica por la primera correlación (Tabla 6.1).

La variable canónica 1 confiere un peso positivo alto a la riqueza de bacterias (r-TRFLP-16S) y a la diversidad de bacterias estimada por el índice de Shannon (Sh-TRFLP-16S). Esto indica que los suelos con alta riqueza de bacterias (TRFLP) tienen mayor diversidad. La variables canónica 2 confiere un peso positivo alto al carbono orgánico total (COT). Esto sugiere que cuando los suelos de la Región Chaqueña tienen alto contenido de carbono orgánico total, tienen alta riqueza y diversidad de bacterias en coincidencia con Noe *et al.* (2012). Estos resultados son un aporte mas al metanálisis a nivel global (~ 600 muestras de suelo) realizado por Delgado- Baquerizo *et al.* (2016), en el que concluyeron que las variaciones en el contenido de materia orgánica del suelo son un importante determinante de la composición y diversidad de bacterias del suelo.

La correlación más alta posible entre la combinación lineal de las variables independientes (variables físicas y químicas) y la combinación lineal de las variables dependientes (biológicas relacionadas a la funcionalidad de las comunidades microbianas) generaron un coeficiente de correlación canónica R=0,99 (p< 0,01). El R²= 0,97 indica que el 97% de la variabilidad de los datos se explica por la primera correlación (Tabla 6.2).

La variable canónica 1 confiere un peso positivo alto a la respiración (RE). La variable canónica 2 confiere un peso positivo alto al carbono potencialmene mineralizable (C₀). Esto sugiere que los suelos con mayor disponiblidad de carbono para la microflora heterótrofa (carbono fácilmente mineralizable), tienen mayor actividad microbiana. Esto pone en evidencia que la funcionalidad del suelo en términos de actividad de la microflora heterótrofa depende en mayor medida del carbono fácilmente disponible (mineralizable) en coincidencia con Chen *et al.* (2016).

La correlación más alta posible entre la combinación lineal de las variables independientes (biológicas relacionadas a la estructura de las comunidades microbianas) y la combinación lineal de las variables dependientes (biológicas relacionadas a la función de las comunidades microbianas) generaron un coeficiente de correlación canónica R=0,99 (p< 0,01). El R²= 0,98 indica que el 98% de la variabilidad de los datos es explica por la primera correlación (Tabla 6.3).

La variable canónica 1 confiere un peso positivo alto a la tasa de mineralización del carbono (kc) y un peso negativo alto a la diversidad funcional estimada por el índice de Shannon (Sh-biolog) y a la respiración (RE). La variable canónica 2 confiere un peso positivo alto a la abundancia de bacterias celulolíticas (BC) y r-TRFLP 16S; y un peso negativo alto a la abundancia de hongos y glomalina fácilmente extraíble (GFE). Esto significa que los suelos con mayor abundancia de bacterias totales, y menor abundancia de hongos microrrícicos y cultivables albergan comunidades microbianas con menor diversidad metabólica, menor actividad microbiana global pero con una alta tasa de mineralización del C. Estos hallazgos están soportados por Creamer et al. (2016) quienes informaron que la respiración basal y los hongos del suelo explicaron gran parte de la capacidad funcional de suelo relacionada al ciclo del carbono.

Tabla 6.1. Correlaciones canónicas y coeficientes de las combinaciones lineales. Variables independientes (propiedades físicas y químicas); Variables dependientes (estructura de las comunidades microbianas del suelo).

Correlaciones canónicas								
	L(1)	L(2)	L(3)	L(4)	L(5)			
R	0,95	0,92	0,77	0,6	0,52			
R ²	0,91	0,85	5 0,6 0,35		0,27			
Lambda	86,94	51,71	24,1	10,94	4,59			
gl	55	40	27	16	7			
p-valor	3,90E-03	0,1	0,62	0,81	0,71			
Interpretar p-valor según manual de referencia								
Coeficientes de las combinaciones lineales								
	L(1)	L(2)	L(3)	L(4)	L(5)			
Cbm	-0,02	0,32	-0,19	-0,13	0,44			
r T-RFLP 16S	1,12	-1,19	-1,19	2,65	-0,84			
Sh-T-RFLP 16S	0,93	0,49	1,5	-0,9	1,13			
BC	0,43	-0,23	-0,61	-0,23	-1,11			
BHT	0,25	-0,36	-0,67	0,56	-0,01			
Hongos	0,06	0,71	0,68	-0,91	-0,37			
r-TRFLP-18S	0,03	-0,55	0,29	0,48	-1,61			
Sh TRFLP-18S	0,13	0,08	-0,44	-0,79	1,25			
r DGGE 16S	-0,56	0,58	-0,07	-0,02	-0,45			
GFE	0,04	-0,85	-0,27	0,89	0,26			
GT	-0,06	0,22	0,54	-0,39	-0,71			
nU	0.20	0.21	0.42	0.07	0.07			
pH	-0,28 0,11	0,21 0,43	0,43 -0,33	0,97 -0,07	0,07 0,87			
Dap COT	0,11 1,31	1,13	-0,33 -0,92	-0,07 1,51	-0,71			
COP	0,48	-0,87	-0,92 1,7	-1,07	-0,71 0,56			
C_0	0,11	1,11	0,36	0,21	-0,46			

Referencias: carbono de la biomasa microbiana (Cbm); riqueza de bacterias (r-TRFLP-16S), índice de Shannon de diversidad bacteriana (Sh-TRFLP-16S); densidad de bacterias celulolíticas cultivables (BC), densidad de bacterias heterótrofas totales cultivables (BHT); densidad de hongos cultivabes (Hongos), glomalina total (GT), glomalina fácilmente extraíble (GFE), riqueza de hongos (r-TRFLP-18S), índice de Shannon de diversidad de hongos (Sh-TRFLP-18S), densidad aparente (Dap), carbono orgánico total (COT), carbono orgánico particulado (COP), carbono potencialmente mineralizable (C₀).

Tabla 6.2. Correlaciones canónicas y coeficientes de las combinaciones lineales. Variables independientes (propiedades físicas y químicas del suelo); Variables dependientes (funcionalidad del suelo).

Correlaciones canónicas							
	L(1)	L(2)	L(3)	L(4)	L(5)		
R	0,99	0,89	0,79	0,35	0,25		
R ²	0,97	0,78	0,62	0,12	0,06		
Lambda	169,99	73,08	31,7	5,23	1,75		
gl	40	28	18	10	4		
p-valor	0,00000	0,00001	0,02000	0,88000	0,78000		
Coeficientes de las combinaciones lineales							
	L(1)	L(2)	L(3)	L(4)	L(5)		
β-gasa	0,04	-0,15	-0,95	-0,57	1,08		
FDA	0,12	0,12	0,83	-1,12	-0,41		
D-hasa	-0,04	0,4	0,97	0,63	0,11		
AWCD	0,12	0,3	-0,37	-1,08	0,43		
kc	-0,42	0,97	0,62	0,01	-0,41		
RE	0,83	-0,06	-0,52	1,24	-1,09		
Sh Biolog	0,07	0,45	0,66	-1,11	-0,94		
r Biolog	-0,2	-0,33	-0,16	1,59	1,47		
рН	-0,08	0,25	0,99	0,36	0,5		
Dap	0,06	0,62	0,52	-0,63	-0,42		
COT	-0,03	1,74	0,59	1,7	-0,92		
COP	-0,12	-0,83	-0,6	-1,38	1,69		
C_0	0,92	0,33	0,06	0,67	0,34		

Referencias: actividad β -glucosidasa (β -asa), hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA), actividad deshidrogenasa (Dh-asa), *Average well color development* (AWCD), tasa de mineralización del carbono (kc), respiración edáfica (RE), índice de Shannon de diversidad de utilización de fuentes de C (Sh-BIOLOG), número de fuentes de carbono utilizadas (r-BIOLOG), densidad aparente (Dap), carbono orgánico total (COT), carbono orgánico particulado (COP), carbono potencialmente mineralizable (C_0).

Tabla 6.3. Correlaciones canónicas y coeficientes de las combinaciones lineales. Variables independientes (estructura de las comunidades microbianas del suelo); Variables dependientes (funcionalidad del suelo).

Correlaciones canónicas								
	L(1)	L(2)	L(3)	L(4)	L(5)	L(6)	L(7)	L(8)
R	0,99	0,96	0,92	0,87	0,79	0,49	0,47	0,22
R ²	0,99	0,92	0,85	0,76	0,62	0,24	0,22	0,05
Lambda	140,83	88,99	58,72	35,86	18,52	6,81	3,57	0,61
gl	88	70	54	40	28	18	10	4
p-valor	3,00E-04	0,06	0,31	0,66	0,91	0,99	0,96	0,96
Coeficientes de las combinaciones lineales								
	L(1)	L(2)	L(3)	L(4)	L(5)	L(6)	L(7)	L(8)
β-gasa	0,42	-0,04	-0,3	-0,9	0,82	-0,93	-0,63	-0,75
FDA	0,23	0,49	-0,44	-0,29	-1,2	0,39	-0,79	-0,48
D-hasa	0,2	0,21	-0,1	0,28	0,36	1,21	-0,17	1
r Biolog	0,45	1,1	0,38	-2,08	-0,76	-2,46	2,19	3,35
Sh Biolog	-0,61	-1,01	-0,95	2,4	0,75	1,37	-3,18	-2,48
AWCD	0,41	0,36	1,3	-0,23	0,2	0,64	0,05	-0,76
kc	0,81	-0,04	-0,44	0,6	-0,92	0,02	-0,6	0,52
RE	-0,56	0,06	-0,28	1,11	0,03	-0,5	1,54	-0,01
Cbm	-0,33	-0,05	-0,32	0,68	0,13	0,35	0,11	0,02
BC	0,68	0,09	-1,55	-1,16	-0,37	0,29	0,12	-0,49
BHT	-0,12	-0,1	0,18	-0,5	3,50E-03	-0,1	-0,69	0,08
Hongos	-0,99	0,45	0,95	0,76	-0,29	1,09	-0,85	0,17
GFE	-0,62	-0,94	0,52	0,25	-0,2	0,66	0,6	1,18
GT	-0,21	-0,1	-0,47	0,21	0,42	1,04	0,12	-0,73
r-TRFLP-18S	0,05	-0,19	-0,18	-0,46	-1,3	0,47	0,24	0,11
Sh- TRFLP-18S	0,06	0,25	0,14	-0,33	0,66	-0,31	-0,23	-0,57
r T-RFLP 16S	0,71	0,37	-0,15	-0,75	-1,78	0,19	2,48	0,04
Sh-T-RFLP 16S	0,51	-0,72	0,88	0,32	2,11	-0,18	-1,13	1,2
r DGGE 16S	-0,03	0,46	0,86	0,49	-0,11	1,34	-0,44	-0,06

Referencias:actividad β -glucosidasa (β -asa), hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA), actividad deshidrogenasa (Dh-asa), Average well color development (AWCD), tasa de mineralización del carbono (kc), respiración edáfica (RE), índice de Shannon de diversidad de utilización de fuentes de C (Sh-BIOLOG), número de fuentes de carbono utilizadas (r-BIOLOG),carbono de la biomasa microbiana (Cbm); riqueza de bacterias (r-TRFLP-16S), índice de Shannon de diversidad bacteriana (Sh-TRFLP-16S); densidad de bacterias celulolíticas cultivables (BC), densidad de bacterias heterótrofas totales cultivables (BHT); densidad de hongos cultivables (Hongos), glomalina total (GT), glomalina fácilmente extraíble (GFE), riqueza de hongos (r-TRFLP-18S), índice de Shannon de diversidad de hongos (Sh-TRFLP-18S).

2. Selección de indicadores mediante el análisis de componentes principales (ACP)

Los dos primeros componentes explicaron el 85 % de la variabilidad de los datos (Fig. 6.2). En el primer eje las variables más contributivas fueron: pH, COT, COP, C₀, kc, r-TRFLP 16S; Sh-TRFLP-16S, r-Biolog, Sh-Biolog, BHT, BC, Hongos, GT y GFE. El primer grupo está constituido por los suelos del ambiente subhúmedo caracterizado por valores mayores de carbono orgánico total y particulado, riqueza y diversidad de bacterias (TRFLP) y abundancia de bacterias totales, celulolíticas y hongos cultivables; y valores menores de pH, , riqueza y diversidad funcional y contenido de glomalinas. El segundo grupo está constituido por los suelos del ambiente semiárido caracterizado por valores menores de carbono orgánico total y particulado, riqueza y diversidad de bacterias (TRFLP) y abundancia de bacterias totales, celulolíticas y hongos cultivables; y valores mayores de pH, riqueza y diversidad funcional y contenido de glomalinas. Las variables más contributivas en el primer eje fueron útiles para distinguir los diferentes sitios por su calidad de suelo. El ACP evidencia que los suelos, además de diferenciarse por el contenido de carbono orgánico, se distinguen por la estructura de las comunidades microbianas y por su funcionalidad. Estos resultados coinciden con Noe et al. (2012) y Noe & Abril (2013) quienes informaron que, en suelos del Chaco, las comunidades microbianas están influenciadas por las condiciones ecológicas (efecto de sitio).

En el segundo eje las variables más contributivas fueron AWCD y Sh-TRFLP-18s. Se distinguen dos grupos. El primer grupo, constituido por los bosque de ambos sitios, SP1 del sitio subhúmedo y SP5 del semiárido, está caracterizado por comunidades microbianas con mayor potencial catabólico (AWCD) y mayor diversidad de hongos (TRFLP). El segundo grupo, constitutido por SP5 del sitio subhúmedo y SP1 del sitio semiárido, está caracterizado por comunidades microbianas con menor potencial metabólico y menor diversidad de hongos. Este conjunto de variables microbiológicas permitieron distinguir claramente a los bosques de los sistemas silvopastoriles y en relativamente corto tiempo, por lo cual serían buenos indicadores de calidad del suelo. Estos resultados coinciden con numerosos autores que proponen a las variables microbiológicas como indicadores tempranos de cambios en la calidad del suelo

debido al manejo agropecuario (Benintende *et al.* 2015; Cruz Ruiz *et al.*, 2015; Dinesh *et al.*, 2015; Navarrete *et al.*, 2015; Rüdiser *et al.*, 2015; van Bruggen *et al.*, 2015; Creamer *et al.*, 2016; Muñoz Rojas *et al.*, 2016). Este análisis muestra que los cambios en la estructura de comunidades de hongos van acompañados de cambios en la funcionalidad potencial del suelo y coinciden con lo enunciado en la sección de correlaciones canónicas. Ello indica que las comunidades de hongos tienen un rol significativo en la capacidad funcional del suelo en coincidencia con Creamer *et al.* (2016). De este estudio se desprende que la actividad microbiana global expresada como AWCD es el indicador más sensible basado en su mayor correlación con el CP2 (ver anexo autovectores) del efecto del manejo silvopastoril en el suelo en sitios contrastantes de la Región Chaqueña. Este aspecto resulta interesante ya que la funcionalidad del suelo es crítica para la salud del ecosistema, particularmente en regiones limitadas por la disponiblidad de agua como el Chaco (Muñoz Rojas *et al.*, 2016).

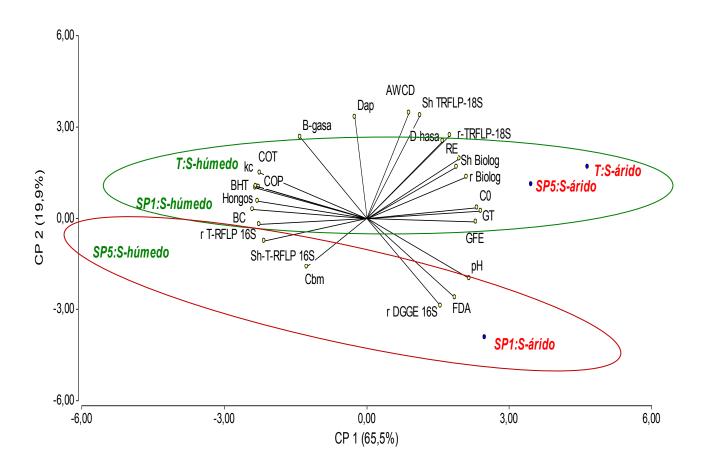


Figura 6.2. Análisis de componentes principales considerando los parámetros físicos, , químicos y biológicos para los diferentes usos del suelo en ambos sitios. Referencias: densidad aparente (Dap), carbono orgánico total (COT), carbono orgánico particulado (COP), carbono potencialmente mineralizable (C_0), Carbono de la biomasa microbiana (Cbm); riqueza de bacterias (r-TRFLP-16S), índice de Shannon de diversidad bacteriana (Sh-TRFLP-16S); abundancia de bacterias celulolíticas cultivables (BC), abundancia de bacterias heterótrofas totales cultivables (BHT); abundancia de hongos cultivabes (Hongos), glomalina total (GT), glomalina fácilmente extraíble (GFE), riqueza de hongos (r-TRFLP-18S), índice de Shannon de diversidad de hongos (Sh-TRFLP-18S), actividad β-glucosidasa (β-asa), hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA), actividad deshidrogenasa (Dh-asa), *Average well color development* (AWCD), tasa de mineralización del carbono (kc), respiración edáfica (RE), índice de Shannon de diversidad de utilización de fuentes de C (Sh-BIOLOG), número de fuentes de carbono utilizadas (r-BIOLOG). Testigo, bosque nativo (T), sistema silvopastoril de 1 año (SP1), sistema silvopastoril de 5 años (SP5).

3. Tipificación de los suelos

En la subregión subhúmeda, donde el suelo presenta mejores condiciones en términos de contenido y calidad de la materia orgánica, los efectos de la implementación de sistemas silvopastoriles son casi imperceptibles, salvo por el potencial catabólico (AWCD) y por la diversidad de hongos (TRFLP- 18S). En cambio en la subregión semiárida, múltiples parámetros respondieron al cambio de uso del uso. De acuerdo a lo detallado en la sección anterior los suelos de los diferentes sitios se distinguen claramente por la mayoría de las propiedades químicas y microbiológicas. Esto reviste mucha importancia ya que la diferencia en la magnitud y dirección de los cambios inducidos por el uso silvopastoril serían explicados por las propiedades intrínsecas de cada suelo. Estos resultados permiten validar la hipótesis general referida a que el efecto del rolado selectivo de baja intensidad sobre el suelo esta influenciado por el sitio. Esto a su vez es sostenido por diversos autores que afirman que los efectos de las intensidades del uso del suelo no son universales y dependen principalmente del tipo de suelo (Drenovsky *et al.*, 2010; Collavino *et al.*, 2014; Rosa *et al.*, 2014; Tardy *et al.*, 2015).

4. Consecuencias generales de las transformación de bosques a sistemas silvopastoriles

Del análisis univariado y multivariado se deduce que los sistemas silvopastoriles implementados sobre bosques secundarios conservan o mejoran las propiedades físicas y químicas. Este comportamiento sugiere que este sistema de manejo es de bajo impacto para la región, comparado transformaciones drásticas como el desmonte total que generan degradación física y química de los suelos del Chaco (Albanesi *et al.*, 2003; Rojas *et al.*, 2016). Esta evidencia coincide con diversos autores a nivel mundial que afirman que los sistemas productivos que incluyen a la vegetación leñosa tienen mayor potencial para secuestrar carbono que aquellos basados en la exclusión total de árboles y arbustos (Jose *et al.*, 2000; Jose, 2009; Matos *et al.*, 2011; Howlett *et al.*, 2011a; Howlett *et al.*, 2011b, Dube *et al.*, 2013; Montagnini *et al.*, 2013; Junior *et al.*, 2014); y a nivel regional que afirman que el reemplazo total de los

bosques nativos por herbáceas anuales trae aparejado consecuencias negativas para el secuestro de carbono (Volante *et al.*, 2012; Rojas *et al.*, 2016).

Las comunidades de bacterias del suelo cambiaron su estructura luego de un año de la transformación de bosques a silvopastoriles, pero a los cinco años se estableció una comunidad muy semejante a la del bosques. Esto coincide con Cubillos *et al.* (2016) que informaron que los sistemas silvopastoriles son una alternativa importante para restaurar los servicios ecosistémicos que ofrecen las comunidades bacterianas del suelo. Contrariamente, las comunidades de hongos del suelo fueron sensibles al cambio de uso del suelo, lo que es atribuible a la menor complejidad comparada con las bacterias (Chroňáková *et al.* 2013). En general se asume que los hongos del suelo son los descomponedores primarios (Tardy *et al.*, 2015), lo que explicaría su mayor sensiblidad a la cantidad y calidad de los residuos que ingresan al suelo.

Los sistemas silvopastoriles impactaron en la funcionalidad del suelo principalmente en el potencial catabólico y diversidad funcional, cuyo efecto se detectó a los cinco años en el ambiente subhúmedo y al año en el ambiente semiárido. Adicionalmente, para el ambiente semiárido, otros parámetros funcionales (respiración y actividad deshidrogenasa), fueron afectados por el uso silvopastoril luego de un año. Sin embargo estos parámetros mostraron una tendencia a la restauración a los cinco años en coincidencia con diversos hallazgos que manifestaron que los sistemas silvopastoriles son capaces de mejorar la funcionalidad del suelo (Vallejo et al., 2010, Vallejo et al., 2012; Peri et al., 2015).

Las cobertura de las especies arbóreas más dominante del bosque Chaqueño (quebracho blanco, quebracho colorado y mistol) tuvieron un efecto diferencial en el contenido de carbono del suelo (mistol > quebrachos) lo que estaría relacionado al ingreso diferencial de residuos vegetales al suelo. Además las comunidades microbianas del suelo bajo cada cobertura fueron diferentes en cuanto a su estructura (DGGE) y diversidad funcional, atribuibles a la composición química diferencial de las hojas de los árboles en coincidencia con Prescott & Grayston (2013). Las comunidades microbianas del suelo bajo la cobertura de quebracho colorado mostraron

preferencias por los polímeros, lo que está relacionado al mayor contenido de taninos y fenoles en las hojas de esta especie. Mientras que la microbiota del suelo bajo la cobertura de mistol muestra preferencia por los carbohidratos y aminoácidos, lo que está relacionado con menor contenido de fibra y mayor contenido de proteína de las hojas.

Lo mencionado anteriormente permite enunciar que los sistemas silvopastoriles son una alternativa interesante para la conservación y/o mejora del suelo que permitiría a su vez frenar el desmonte total (Murgueito *et al.*, 2011). Esto es de suma importancia para la Región Chaco y particularmente para la provincia Santiago del Estero que ha sufrido gran pérdida de bosques por el rápido avance de la frontera agropecuaria en la útlima década, aún después de la promulgación de la ley 26.331 de protección de bosques nativos (Volante *et al.*, 2012; Vallejos *et al.*, 2015; Volante *et al.*, 2016).

Conclusiones

Las consecuencias de la transformación de bosques a sistemas silvopastoriles son dependientes de las condiciones ecológicas de cada subregión. En la subregión subhúmeda, donde el suelo presente mejores condiciones en términos de contenido y calidad de la materia orgánica, los efectos de la implementación de sistemas silvopastoriles son casi imperceptibles, salvo por la disminución del potencial catabólico (AWCD) y la diversidad de hongos (TRFLP-18S). En cambio en la subregión semiárida, múltiples parámetros respondieron al cambio de uso del uso.

Este estudio evidencia que la habilitación de bosques secundarios mediante rolado selectivo de baja intensidad conserva o mejora las propiedades físicas y químicas del suelo, hecho que es atribuible a la conservación de la vegetación leñosa.

Las comunidades bacterianas del suelo de los bosques de ambas subregiones muestran cierto grado de tolerancia al disturbio inducido por el uso silvopastoril, ya que se producen cambios significativos en su estructura luego de un año, lo cual se restaura a los cinco años. Contrariamente, las comunidades de hongos del suelo son muy sensibles al cambio de uso del suelo, lo que es atribuible a la menor diversidad metabólica comparada con las bacterias y por lo tanto a una mayor sensiblidad a la cantidad y calidad de los residuos que ingresan al suelo.

Los sistemas silvopastoriles impactan en la funcionalidad del suelo principalmente en el potencial catabólico y diversidad funcional, cuyo efecto se detecta los cinco años en el ambiente subhúmedo y al año en el ambiente semiárido. Adicionalmente, para el ambiente semiárido, otros parámetros funcionales (respiración y actividad deshidrogenasa), son afectados por el uso silvopastoril luego de un año. Sin embargo estos parámetros muestran una tendencia a la restauración a los cinco años lo que sugiere que los sistemas silvopastoriles son capaces de mejorar la funcionalidad del suelo.

Las cobertura de las especies arbóreas más dominante del bosqueño Chaqueño (quebracho blanco, quebracho colorado y mistol) tienen un efecto diferencial en el contenido de carbono del suelo (mistol > quebrachos) lo que estaría relacionado al ingreso diferencial de residuos vegetales al suelo. Además los suelos bajo la cobertura de las diferentes especies arbóreas albergan comunidades microbianas diferentes en cuanto a su estructura (DGGE) y diversidad funcional. Las comunidades microbianas del suelo bajo la cobertura de quebracho colorado mostraron preferencias por los polímeros, lo que está relacionado al mayor contenido de taninos y fenoles en las hojas de esta especie. Mientras que la microbiota del suelo bajo la cobertura de mistol muestra preferencia por los carbohidratos y aminoácidos, lo que está relacionado con menor contenido de fibra y mayor contenido de proteína de las hojas.

Lo mencionado anteriormente permite enunciar que los sistemas silvopastoriles son una alternativa interesante para la conservación y/o mejora del suelo que permitiría a su vez frenar los desmontes en la Región Chaco y particularmente para la provincia Santiago del Estero que ha sufrido gran pérdida de bosques por el rápido avance de la frontera agropecuaria en la útlima década, aún después de la promulgación de la ley 26.331 de protección de bosques nativos.

Estos resultados son sumamente importantes para la región porque brindan la información necesaria para comprender las consecuencias de la transformación de bosques nativos a sistemas silvopastoriles sobre la dinámica de la materia orgánica, la estructura de las comunidades microbianas y la bioquímica del suelo. Además esta información elucida la capacidad de los sistemas silvopastoriles de restaurar las propiedades del suelo al estado predisturbio. A su vez representan el primer antecedente para la construcción de niveles umbrales, que son requeridos para la evaluación del impacto ambiental de los sitemas silvopastoriles y su desconocimiento es la mayor limitante. Sin embargo es necesario continuar monitoreando la calidad del suelo en sistemas silvopastoriles con énfasis en propiedades microbiológicas. De acuerdo al presente estudio, se sugieren como indicadores de calidad de suelo al potencial catabólico estimado por el AWCD (average well color development) y diversidad de hongos (cultivables y no cultivables).

CAPITULO 7

BIBLIOGRAFÍA

- Abril, A., C Merlo & L. Noe. 2013. Realistic soil C sink estimate in dry forests of western

 Argentina based on humic substance content. Journal of Arid Environments 91: 113-118
- Abril, A., P Barttfeld & EH Bucher. 2005. The effect of fire and overgrazing disturbes on soil carbon balance in the Dry Chaco forest. Forest Ecology and Management 206 (1): 399-405.
- 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 Biology & Biochemistry 33: 943–951.
- Aguilera, M.,G. Borie., P. Rokov & P. Peirano. 1988. Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas. VII Determinación de deshidrogenasas. Agricultura Técnica (Chile) 48: 147-151.
- Albanesi, A. 2008. Rolado y Suelos. En: Kunst, C., R. Ledesma &M. Navall (Eds). RBI. Rolado Selectivo de Baja Intensidad. Ediciones INTA. 139p.
- Albanesi, A., A. Anriquez &A. Polo Sánchez. 2003. Efectos de la agricultura convencional en algunas formas del C en una toposecuencia de la Región Chaqueña, Argentina.

 Agriscientia XX: 9-17.
- Albanesi, A., A. Anriquez., J. Dominguez Nuñez., J. Silberman & C. Kunst. 2013b. Calidad de suelo. Propiedades biológicas y evaluación en ecosistemas semiáridos. En: Albanesi (Ed). Microbiología Agrícola. Un aporte de la investigación argentina. Segunda Edición. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Ediciones Magna. 500p.
- Albanesi, A., C. Kunst., A. Anriquez., J. Silberman., R. Ledesma., M. Navall., J. Dominguez Nuñez., R. Duffau., R. Suarez., D. Werenitzky., E. Raña., L. Sokolic., D. Coria& O. Coria. 2013a. Rolado selectivo de baja intensidad y sistemas silvopastoriles de la Región Chaqueña. En: Albanesi, A; R. Paz; M.T. Sobrero; S. Helman; S. Rodriguez. Hacia la

- construcción del desarrollo agropecuario y agroindustrial. De la FAyA al NOA. Universidad Nacional de Santiago del Estero. Ediciones Magna. 360p.
- Albiach, M.R., R. Canet., M. Ribó& F. Pomares. 2003. Determinación del carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana. En: Gil-Sotres, F., T. Hernández Fernández., C. Trasar Cepeda (Eds). Técnicas de Análisis de Parámetros Bioquímicos en Suelos: Medida de Actividades Enzimáticas y Biomasa Microbiana. Ediciones Mundi-Prensa, España. 370p.
- Alele, P.O., D. Sheil., Y. Surget-Groba., S. Lingling & C.H. Cannon. 2014. How Does Conversion of Natural Tropical Rainforest Ecosystems Affect Soil Bacterial and Fungal Communities in the Nile River Watershed of Uganda?. PLoS ONE 9(8): e104818.
- Allegrucci, N., M.N. Cabello & A.M. Arambarri.2009. Diversity of saprotrophic anamorphic ascomycetes from native forests in Argentina: an updated review. Darwiniana 47: 108 124.
- Almagro, M., Maestre FT., Martínez-López, J., Valencia, E.& A.Rey. 2015. Climate change may reduce litter decomposition while enhancing the contribution of photodegradation in dry perennial Mediterranean grasslands. Soil Biology and Biochemistry 90: 214-223.
- Amann, R., W. Ludwig&K. SchleiferK. 1995. Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. Microbiol. Rev. 59: 143–169.
- Andretta, A., C. Macci., M. Ceccherini., G. Cecchini., G. Masciandro., G. Pietramellara&S. Carnicelli. 2012. Microbial dynamics in Mediterranean Moder humus. Biol Fertil Soils 48:259–270.
- Angueira, C., D. Prieto&J. López. 2007. Sistema de información geográfica de Santiago del Estero. SIGSE 2.0. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Ediciones INTA. CD-ROM.

- Anriquez, A., A. Albanesi., C. Kunst., R. Ledesma., C. López., A. Rodríguez Torresi & J. Godoy. 2005. Rolado de fachinales y calidad de suelos en el Chaco occidental, Argentina. Cl. SUELO (ARGENTINA) 23 (2) 145-157.
- Anriquez, A., R. Ledesma., C. Kunst&A. Albanesi. 2008. El rolado y el agua en los suelos. En: Kunst, C., R. Ledesma., M. Navall (Eds). 2008. RBI. Rolado selectivo de baja intensidad. Ediciones INTA. 137p.
- Austin, A & L. Vivanco. 2006. Plant litter decomposition in a semi-arid ecosystem controlled by photodegradation. Nature 442 (3): 555-558.
- Austin, A&P. Vitousek. 1998. Nutrient dynamics on a precipitation gradient in Hawai. Oecologia 113(4): 519-529.
- Azar, G.S., A.S.F. De Araújo., M.E. De Oliveira & D.M. Azevêdo. 2013. Biomassa e atividade microbiana do solo sob pastagem em sistemas de monocultura e silvipastoril. Semina:Ciencias Agrarias 34 (6): 2727-2736.
- Baah-Acheamfour, M., C.N. Carlyle., E.W.Bork& S.X. Chang.2014. Trees increase soil carbon and its stability in three agroforestry systems in central Alberta, Canada. Forest Ecology and Management 328: 131-139.
- Bainard, L., J. Klironomos&A. Gordon, A.2012.Arbuscular mycorrhizal fungi in tree-based intercropping systems: A review of their abundance and diversity .Pedobiologia54: 57-61.
- Banegas, N., A. Albanesi., R. Pedraza & D. Dos Santos. 2015. Non-linear dynamics of litter decomposition under different grazing management regimes. Plant Soil 393 (1): 47-56.
- Ben-David, E.A., E.Zaady, Y. Sher&A. Nejidat. 2011. Assessment of the spatial distribution of soil microbial communities in patchyaridand semi- arid landscapes of the Negev Desert using combinedPLFA and DGGE analyses. FEMS Microbiol Ecol 76: 492–503.

- Benintende, S., M Benintende., M Sterren., M Saluzzio & P Barbagelata. 2015. Biological variables as soil quality indicators: Effect of sampling time and ability to classify soils by their suitability. Ecological indicators 52: 147- 152.
- Berg, M.P., J.P. Kniese&H.A. Verhoef. 1998. Dynamics and stratification of bacteria and fungi in the organic layers of a scots pine forest soil. Biol Fertil Soils: 26:313–322.
- Bernaschini, M.L., M.L. Moreno., N. Pérez- Harguindeguy& G. Valladares. 2016. Is litter decomposition influenced by forest size and invertebrate detritivores during the dry season in semiarid Chaco Serrano. Journal of Arid Environmental 127: 154-159.
- Bhark, E.W& E.E. Small. 2003. Association between plant canopies and the spatial patterns of infiltration in shrubland and grassland of the Chihuahuan Desert, New Mexico. Ecosystems 6: 185-196.
- Bhattacharya, S.S., K.H. Kim., S. Das., M. Uchimiya., B.H. Jeon., E. Kwon& J.E. Szulejko. 2016.

 A review on the role of organic inputs in maintaining the soilcarbon pool of the terrestrial ecosystem. Journal of Environmental Management 167: 214-227.
- Bini, D., C.A. dos Santos., L. Toledo Bernal., G. Andrade & M. Nogueira. 2014. Identifying indicators of C and N cycling in a clayey Ultisol underdifferent tillage and uses in Winter. Applied Soil Ecology 76: 95–101.
- Bisset, A., A. Richardson., G. Baker., J. Kirkegaard&P. Thrall. 2013. Bacterial community response to tillage and nutrient additions in a long-term wheat cropping experiment. Soil Biology & Biochemistry 58: 281 -292.
- Bradford, M. 1976. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

- Bravo, S. 2008. Manejo de Rolados. Caracteres estructurales de leñosas que influencian la producción de rebrotes frente a tratamientos mecánicos. En: Kunst C., Ledesma R., Navall M. (Eds). RBI. Rolado Selectivo de Baja Intensidad. Ediciones INTA. 139 pp.
- Brodie, E., E. Suzanne& N. Clipson. 2003. Soil fungal community structure in a temperate upland grassland soil. FEMS Microbiol Ecol 1523: 1–10.
- Buckley, D & T. Schmidt. 2001. The structure of microbial communities in soil and the lasting impact of cultivation. Microb.Ecol. 42: 11 –21.
- Buschiazzo, D., Quiroga, A & Stahr, K. 1991.Patterns of organic matter distribution in soils of the Semiarid Argentinean Pampas. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 154 (6):437 441.
- Bustamante, M., V.Verdejo., C. Zúñiga., F. Espinosa., J. Orlando & M. Carú. 2012.

 Comparisonofwateravailabilityeffectonammonia-oxidizing bacteria and archaea in microcosms of a Chile an semiarid soil. Frontiers in Microbiology –TerrestrialMicrobiology 3: 282.
- Buttler, A., F. Kohler&F. Gillet. 2009. The Swiss mountain wooded pastures: patterns and processes. In: Rigueiro-Rodríguez, A., J. McAdam., M.R. Mosquera-Losada (Eds.). Agroforestry in Europe Springer: 377–396.
- Cairney, J. 2000. Evolution of mycorrhiza systems. Naturwissenschaften 87: 467–475. Calle, A., F. Montagnini& A.F. Zuluaga. 2009. Farmer's perceptions of silvopastoral system promotion in Quindío, Colombia. Bois et forets des tropiques 300 (2): 79–94.
- Cambardella, C. & E. Elliot. 1992. Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence. Soil Sci. Soc. Am. J. 56: 777-783.
- Cambardella, C. &E. Elliot. 1994.Carbon and nitrogen dynamics of soil organic matter fractions from cultived grassaland soils. Soil Sci Soc. Am. J. 58: 123-130.

- Campbell, C., S. Chapman., C. Cameron., M. Davidson&J. Potts. 2003. A rapid microtitre plate method to measure carbon dioxide evolved from carbon substrate amendments so as to determine the physiological profiles of soil microbial communities by using whole soil.

 Applied and Environmental Microbiology 69: 3593–3599.
- Cantú, M., A Becker., J Bedano&H Schiavo. 2007. Evaluación de la calidad de suelos mediante el uso de indicadores e índices. Cienc. del Suelo 25, 173–178.
- Cantú, M.P., A. Becker., J.C. Bedano.&H.F. Schiavo. 2007. Evaluación de la calidad de suelos mediante el uso de indicadores e índices. Cienc. Suelo 25: 173–178.
- Carbone, M. S., C. J. Still., A. R. Ambrose., T. E. Dawson ., A. P. Williams., C. M. Boot., S. M. Schaeffer& J. P. Schimel. 2011. Seasonal and episodic moisture controls on plant and microbial contributions to soil respiration. Oecologia: 167: 265–278.
- Carrera, A.L., M.J. Mazzarino., M.B. Bertiller., H.F. del Valle & E.M. Carretero. 2009. Plant impacts on nitrogen and carbon cycling in the Monte Phytogeographical Province, Argentina. Journal of Arid Environments 73: 192–201.
- Carrillo, L., M.R. Benitez Ahrendts & M.J. Maldonado. 2009. Alkali thermophilic actinomycetes in a subtropical area of Jujuy, Argentina. Rev. Argentina Microbiol.41: 112 -116.
- Casals, P.,J. Romero., G. Rusch.& M. Ibrahim.2014.Soil organic C and nutrient contents under trees with different functional characteristics in seasonally dry tropical silvopastures.

 Plant and Soil 374: 643-659.
- Castro, M. 2009. Silvopastoral systems in Portugal: current status and futureprospects. In: Rigueiro-Rodríguez, A., J. Mc Adam& M.R. Mosquera-Losada (Eds.)Agroforestry in Europe 111–126.
- Cernohlávková, J., J. Jarkovský & J. Hofman.2009. Effects of fungicides mancozeb and dinocap on carbon and nitrogen mineralization in soils. Ecotoxicology and Environmental Safety 72: 80–85.

- Chao-Rong, G.E & Q. Zhang. 2011. Microbial Community Structure and Enzyme Activities in a Sequence of Copper-Polluted Soils. Pedosphere 21(2): 164–169.
- Chaudhary V.B., T.E. O'Dell., M.C. Rillig.& N.C. Johnson. 2014. Multiscale patterns of arbuscular mycorrhizal fungal abundance and diversity in semiarid shrublands. Fungal Ecology 12: 32-43
- Chen, Y., G Chen., D Robinson., Z Yang., J Guo., J Xie., S Fu., L Zhou & Y Yang. 2016. Large amounts of easily decomposable carbon stored in subtropical forest subsoil are associated with r-strategy-dominated soil microbes. Soil Biology and Biochemistry, 95, 233-242.
- Chigineva, N.I., A.V.Aleksandrova., S. Marhan., E. Kandeler.& A.V. Tiunov. 2011. The importance of mycelial connection at the soil–litter interface for nutrient translocation, enzyme activity and litter decomposition. Applied Soil Ecology 51: 35–41.
- Chroňáková A., J. Ascher., J. Jirout., M.T. Ceccherini., D. Elhottová., G. Pietramellara.&M. Šimek. 2013. Cattle impact on composition of archaeal, bacterial, and fungal communities by comparative fingerprinting of total and extracellular DNA. Biology and Fertility of Soils 49(3):351-361.
- Colares, M. & A. Arambarri. 2008. Ziziphus mistol (Rhamnaceae): morfo-anatomía y rquitectura foliar. Lat. Am. J. Pharm. 27: 568-577.
- Collavino, M., J. Tripp., I.Frank., M. Vidoz., P. Calderoli., M. Donato., J. Zehr&M. Aguilar. 2014. nifH pyrosequencing reveals the potential for location-specific soil chemistry to influence N2-fixing community dynamics. Environmental Microbiology 16 (10): 3211-3223.
- Conti, M & L. Giufrré. 2011. Edafología. Bases y aplicaciones ambientales Argentinas. Editorial Facultad Agronomía. Universidad de Buenos Aires. 628p.
- Creamer, RE., SE Hannula., JP Van Leeuwen., D Stone., M Rutgers., RM Schmelz., PC de Ruiter., N Bohse Hendriksen., T Bolger., ML Bouffaud., M Buee., F Carvalho., D Costa.,

- T Dirilgen., R Francisco., BS Griffiths., R Griffiths., F Martin., P Martins da Silva., S Mendes., PV Morais., C Pereira., L Philippot., P Plassart., D Redecker., J. Römbke., JP Sousa., M Wouterse & P Lemanceau. 2016. Ecological network analysis reveals the inter-connection between soil biodiversity and ecosystem function as affected by land use across Europe. Applied Soil Ecology 97: 112-124.
- Cruz Ruiz, E., A Cruz Ruiz., R Vaca., P del Aguila & J Lugo. 2015. Assessment of Soil Parameters Related With Soil Quality in Agricultural Systems. Life Science Journal 12 (1): 154- 161.
- Cubbage, F., G. Balmelli., A. Bussoni., E. Noellemeyer., A. Pachas., H. Fassola., L. Colcombet.,
 B. Rossner., G. Frey., F. Dube., M. Lopes de Silva., H. Stevenson., H. Hamilton & W.
 Hubbard. 2012. Comparing silvopastoral systems and prospects in eight regions of the
 World. AgroforestSyst 86: 303- 314.
- Cubillos, A.M., V.E. Vallejo., Z. Arbeli., W. Terán., R.P. Dick., C.H. Molina., E. Molina.&F. Roldan. 2016. Effect of the conversion of conventional pasture to intensive silvopastoral systems on edaphic bacterial and ammonia oxidizer communities in Colombia. European Journal of Soil Biology 72: 42-50.
- De Araújo Marques, J., L. Cunha Leite., & D Moya Romero. 2011. Bienestar animal en sistemas silvopastoriles. Revista Colombiana de Ciencia Animal. 4 (1): 79-87.
- Degens, B & J. Harris. 1997. Development of a physiological approach to measuring the catabolic diversity of soil microbial communities, Soil Biol. Biochem. 29: 1309-1320.
- Delgado- Baquerizo, M., FT Maestre., PB Reich., P Trivedi., Y Osanai., YR Liu., K Hamonts., TC Jeffries & BK Singh. 2016. Carbon content and climate variability drive global soil bacterial diversity patterns. Ecological Monographs. doi:10.1002/ecm.1216.
- Di Rienzo J.A., F. Casanoves., M.G. Balzarini., L. Gonzalez., M. Tablada&C.W. Robledo. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.

- Dijkstra, FA., D.J. Augustine., P. Brewer& J.C. von Fischer. 2012. Nitrogen cycling and water pulses in semiarid grasslands:are microbial and plant processes temporally asynchronous? Oecologia: 170:799–808.
- Dinesh, R., A Ganeshamurthy & SB Chaudhuri. 2015. Effects of land-use change on biochemical and microbial parameters in soils of the Andaman Island, India. In:

 Brearley, FQ., AD Thomas (Eds). Land- use Change Impacts on Soil Processes: Tropical and Savannah Ecosystems. CAB International. pp 8- 18.
- Dominguez, A.&J.C. Bedano. 2016. The adoption of no-till instead of reduced tillage does not improve some soil quality parameters in Argentinean Pampas. Applied Soil Ecology 98: 166-176.
- Drenovsky, RE., KL Steenwerth., LE Jackson & KM Scow. 2010. Land use and climatic
- Dube, F., N.V. Thevathasan., N.B. Stolpe., E. Zagal., A.M. Gordon., M. Espinosa & K. Sáez.2013. Selected carbon fluxes in Pinus ponderosa-based silvopastoral systems, exotic plantations and natural pastures on volcanic soils in the Chilean Patagonia. Agroforestry 87 (3): 525-542.
- Duffau, A.R. 2009. Indicadores de calidad de suelos para evaluar sustentabilidad ecológica en sistemas agropecuarios de la Región Chaqueña. Informe de proyecto. Univ. Nac. De Santiago del Estero. 30p.
- Duval, M.E., J.A. Galantini., J.O. Iglesias., S. Canelo., J.M. Martinez & L. Wall. 2013. Analysis of organic fractions as indicators of soil quality under natural and cultivated systems. Soil & Tillage Research 131: 11–19.
- Eldridge, D.J., G. Beecham&J.B. Grace.2015. Do shrubs reduce the adverse effects of grazing on soil properties? Ecohydrology8 (8): 1503-1513.

- Elizondo, A.M., E.C. Mercado., B.C. Rabinovitz & M.E. Fernandez-Miyakawa. 2010. Effect of tannins on the in vitro growth of Clostridium perfringens. Veterinary Microbiology 145: 308–314.
- factors structure regional patterns in soil microbial communities. Global Ecology and Biogeography: A Journal of Macroecology 19: 27 39.
- Fekete, I., C. Varga., Z. Kotroczó., Z. Tóth & G. Várbiró.2011. The relation between various detritus inputs and soil enzyme activities in a Central European deciduous forest.

 Geoderma 167-168: 15–21.
- Fierer, N., M.A. Bradford& R.B. Jackson. 2007. Toward an ecological classification of soil bacteria. Ecology 88: 1354-1364.
- Figuerola, E., L. Guerrero., D. Türkowsky., L. Wall&L. Erijman. 2014. Crop monoculture rather than agriculture reduces the spatial turnover of soil bacterial communities at a regional scale. Environmental Microbiology 17(3):678-88.
- Figuerola, E., L. Guerrero., S. Rosa., L. Simonetti., M. Duval., J. Galantini., J. Bedano., L. Wall&L. Erijman. 2012. Bacterial Indicator of Agricultural Management for Soil under No-Till Crop Production. PLoS ONE 7(11): e51075.
- Forsythe, E. 1975. Física de suelos. Primera Edición, San José de Costa Rica. Editorial IICA. Serie: Libros y Manuales Educativos N° 25. 212 p.
- Francaviglia, R., A. Benedetti., L. Doro., S. Madrau & L. Ledda. 2014. Influence of land use on soil quality and stratification ratios underagro-silvo-pastoral Mediterranean management systems. Agriculture, Ecosystems and Environment 183: 86–92.
- Frey, S.D., E.T. Elliott&K. Paustian. 1999. Bacterial and fungal abundance and biomass in conventional and no-tillage agroecosystems along two climatic gradients. Soil Biology and Biochemistry 31: 573-585.

- Galantini, J.A., N. Senesi., G. Brunetti&R. Rosell. 2004. Influence of texture on the nitrogen and sulphur status and organic matter quality and distribution in semiarid Pampean grassland soils. Geoderma 123: 143–152.
- Gallizi, F., A. Duffau & F. Ezcurra. 1995. Estudio de suelos del establecimiento agrícola ganadero "La 2 A". Reconocimiento y clasificación. Fertilidad química y física actual de la capa arable. Informe técnico. Facultad de Agronomía y Agroindustrias. Universidad Nacional de Santiago del Estero.
- Garbeva, P., J.A. van Veen.& J.D. van Elsas.2004.Microbial diversity in soil: Selection of Microbial Populations by Plant and Soil Type and Implications for Disease Suppressiveness. Annu. Rev. Phytopathol. 42:243–70.
- Garbisu, C., I. Alkorta & L. Epelde.2011. Assessment of soil quality using microbial properties and attributes of ecological relevance. Applied Soil Ecology49(1):1-4.
- García E.M., A.Juárez Sequeira., M.A.Nazareno&J. Arroquy. 2013. Polifenoles y valoración nutricional de hojas de especies leñosas del Chaco seco. Revista Argentina de producción Animal 33 (1): 185.
- García, C., T. Hernández., F. Costa & B. Ceccanti.1994. Biochemical parameters in soils regenerated by the addition of organic wastes. Waste Management & Research 12 (6): 457-466.
- Garland, J. & A. Mills. 1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community level sole-carbon-source utilization. Applied and Environmental Microbiology 57: 2351-2359.
- Garland, J & R. Lehman. 1999. Dilution/extinction of community phenotypic characters to estimate relative structural diversity in mixed communities. FEMS Microbiology Ecology 30: 333–343.

- Garland, J. 1997. Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. FEMS Microbiology Ecology 24: 289–300.
- Garland, J., M. Roberts., L. Levine& A. Mills. 2003. Community-level physiological profiling performed with an oxygen-sensitive fluorophore in a microtitre plate. Applied and Environmental Microbiology 69: 2994–2998.
- Giller, K., M. Beare., P. Lavelle., A. Izac&M. Swift. 1997. Agricultural intensification, soil biodiversity and agroecosystem function. Appl. Soil Ecol. 6: 3 –16.
- Gimenez, A.M., P. Hernandez, M.E. Figueroa& I. Barrionuevo. 2011 Diversidad del estrato arboreo en los bosques del Chaco Semiarido. Quebracho19 (1,2):24-37.
- Gomez, A & M. Navall. 2008. Efecto del rolado sobre la estructura del bosque, implicancias para el manejo forestal. En: Kunst, C., R. Ledesma & M. Navall (Eds). 2008. RBI. Rolado selectivo de baja intensidad. Ediciones INTA. 137p.
- Gonzáles-Pedraza, A.& N. Dezzeo. 2014. Change in the labile and recalcitrant organic matter fractions due to transformation of semi-deciduous dry tropical forest to pasture in the western llanos, Venezuela. In: Greer (Ed). Dry forest.Chapter 4.Pages 105-132. Nova Science Publishers, Inc.
- Guo, L.B & R.M. Gifford. 2002. Soil carbon stocks and land use change. Global Change Biol. 8: 345–360.
- Hansen, V., D. Müller-Stöver., L.J. Munkholm., C. Peltre., H. Hauggaard-Nielsen & L.S. Jensen. 2016. The effect of straw and wood gasification biochar on carbon sequestration, selected soil fertility indicators and functional groups in soil: An incubation study. Geoderma 269: 99-107.
- Hartmann, M., B. Frey., R. Kflliker&F. Widmer. 2005. Semi-automated genetic analyses of soil microbial communities: comparison of T-RFLP and RISA based on descriptive and discriminative statistical approaches. Journal of Microbiological Methods 61: 349–360.

- Haynes, R. 2005. Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: An overview. Advances in Agronomy85: 221-267.
- Hotelling, H.1936. Relations Between Two Sets of Variables. Biometrika 28: 321-377.
- Houghton, R.A. 1999. The annual net flux of carbon to the atmosphere from changes in land-use 1850-1990. Tellus 51B: 298-313.
- Howlett, D.S., G. Moreno., M.R. Mosquera Losada., P.K.R. Nair & V.D. Nair.2011b. Soil carbon storage as influenced by tree cover in the Dehesa cork oak silvopasture of central-western Spain. Journal of Environmental Monitoring 13 (7): 1897-1904.
- Howlett, D.S., M.R. Mosquera-Losada., P. Nair., V.D. Nair & A. Rigueiro-Rodríguez. 2011a. Soil carbon storage in silvopastoral systems and a treeless pasture in northwestern Spain. Journal of Environmental Quality 40 (3): 825-832.
- Hu, W., M.A. Shao& B.C. Si.2012. Seasonal changes in surface bulk density and saturated hydraulic conductivity of natural landscapes. Eur J Soil Sci 63(6):820–830.
- Huxman, T.E., K.A. Snyder., D. Tissue., A.J. Leffler., K. Ogle., W.T. Pockman., D.R. Sandquist.,
 D.L. Potts & S. Schwinning. 2004. Precipitation pulses and carbon fluxes in semiarid and arid ecosystems. Oecologia 141: 254-268.
- Ibrahim, M., M. Chacón., C.Cuartas., J.F. Naranjo., G. Ponce., P. Vega., F. Casasola&J. Rojas. 2007. Almacenamiento de carbono en el suelo y la biomasa arbórea en diferentes sistemas de usos de la tierra en Colombia, Costa Rica y Nicaragua. Agroforestería en las Américas 45: 27–36.
- Ibrahim,M., C. Villanueva., F. Casasola&J. Rojas. 2006. Sistemas silvopastoriles como una herramienta para el mejoramiento de la productividad y restauración de la integridad ecológica de paisajes ganaderos. Pastos y Forrajes 29 (4): 383.
- IRAM. 2009. Norma IRAM- SAGPyA 29574:2009. Determinación del pH en suelo para uso agropecuario.

- Islam, M., A. Dey&M. Rahman. 2015. Effect of Tree Diversity on Soil Organic Carbon Content in the Homegarden Agroforestry System of North-Eastern Bangladesh. Small-scale Forestry 14 (19): 91-101.
- Iwara, A.I., F.O. Ogundele., U.W. Ibor &T.N. Deekor. 2011. Multivariate Analysis of Soil-Vegetation Interrelationships in a South-Southern Secondary Forest of Nigeria. International Journal of Biology 3 (3): 73-82.
- Jangid, K., M.A. Williams., A.J. Franzluebbers., J.S. Sanderlin., J.H. Reeves., M.B. Jenkins., M.D. Endale., D.C. Coleman&B. Whitman. 2008. Relative impacts of land-use, management intensity and fertilization upon soil microbial community structure in agricultural systems. Soil Biol. biochem. 40 (11): 2843-2853.
- Jassey, V., G. Chiapusio., D.Gilbert., A. Buttler., M.L. Toussaint & P. Binet. 2011. Experimental climate effect on seasonal variability of polyphenol/phenoloxidase interplay along a narrow fen-bog ecological gradient in Sphagnum fallax. Global Change Biology 17: 2945–2957.
- Jiménez de Ridder, P &M. Bonmatí Pont. 2003. Determinación de actividad β-glucosidasa del suelo. En: Gil-Sotres, F., T. Hernández Fernández., C. Trasar Cepeda (Eds). Técnicas de Análisis de Parámetros Bioquímicos en Suelos: Medida de Actividades Enzimáticas y Biomasa Microbiana. Ediciones Mundi-Prensa, España. 370p.
- Jorge-Mardomingo, I., P. Soler-Rovira., M. Casermeiro., M. de la Cruz&A. Polo. 2013. Seasonal changes in microbial activity in a semiarid soil after application of a high dose of different organic amendments. Geoderma 206: 40–48.
- Jose, S. 2009. Agroforestry for ecosystem services and environmental benefits: an overview. Agroforest Syst 76:1–10
- Jose, S., A. Gillespie., J. Seifert., D. Mengel & P. Pope. 2000. Defining competition vectors in a temperate alley cropping system in the midwestern USA. 3. Competition for nitrogen and litter decomposition dynamics. Agroforest Syst 48:61–77.

- Junior, P.R., M.L. Soares., I.G. Ribeiro., A.S. Da Costa., G.K. Donagemma & E.S. Mendonça. 2014. Soil carbon stock in silvopastoral system, pasture and sugarcaneculture. Idesia 32 (1): 35-42.
- Junker, T., C. Paatzsch&T. Knacker.2010. A water–sediment screening tool for measuring biodegradation of organic chemicals. Science of the Total Environment 408: 3803–3810.
- Juste, A., B Thomma & B Lievens. 2008. Recent advances in molecular techniques to study microbial in food-associated matrices and processes. Food Microbiol 25:745-76
- Karlen, D.I., M.J. Mausbach., J.W. Doran., R.G. Cline., R.F. Harris&G.E. Schuman. 1997. Soil quality: a concept, definition, and framework for evaluation. Soil. Sci. Soc. Am. J. 61: 4-10.
- Keiser, AD; JD Knoepp & MA Bradford. 2013. Microbial communities may modify how litter quality affects potential decomposition rates as tree species migrate. Plant Soil 373 (1): 167-176.
- Khodzhaeva, AK &V.M. Semenov. 2015. Distribution of active organic matter in the soil profiles of natural and agricultural ecosystems. Eurasian Soil Science 48 (12): 1361-1369.
- Kibblewhite, M.G., K. Ritz&M.J. Swift. 2008. Soil health in agricultural systems, Philos, Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 363 (1492): 685-701.
- Kim, M., B. Boldgiv., D. Singh., J. Chun., A. Lkhagva&J. Adams. 2013. Structure of soil bacterial communities in relation to environmental variables in a semi-arid region of Mongolia.

 Journal of Arid Environments 89: 38-44.
- Klironomos, J., J. Mc Cune., M. Hart& J. Neville. 2000. The influence of arbuscular mycorrhizae on the relationship between plant diversity and productivity. Ecol. Lett. 3: 137–141.
- Konopka, A., L. Oliver & R. Turco Jr. 1998. The use of carbon substrate utilization patterns in environmental and ecological Microbiology. Microbial Ecology 35: 103–115.
- Kujur, M & A. Kumar Patel. 2014. Kinetics of soil enzyme activities under different ecosystems: An index of soil quality. Chilean J Agric Res 74(1): 96-104.

- Kumada, S., T Kawanishi, Y Hayashi, K Ogomori, Y Kobayashi, N Takahashi, M Saito, H Hamano, T Kojima & K Yamada. 2008. Litter carbon dynamics analysis in forests in an arid ecosystem with a model incorporating the physical removal of litter. Ecological modelling 215: 190–199.
- Kumar, P., R.P. Singh., A. Kumar Singh.&V. Kumar. 2014. Quantification and distribution of agroforestry systems and practices at global level. Hortflora Research Spectrum 3 (1): 1-6.
- Kunst , C., M.Navall., R. Ledesma., J. Silberman., A. Anriquez., D. Coria., S. Bravo., A. Goméz.,
 A. Albanesi., D. Grasso., J. Dominguez Nuñez., A. González., P. Tomsic& J. Godoy.
 2016. Silvopastoral systems in the western Chaco región, Argentina. In Peri, P L., Dube,
 F., Varella, A (Eds.). Silvopastoral Systems in Southern South America. Advances in
 Agroforestry 11.p: 63-87. Springer.
- Kunst, C. 2008. Rolado. Aspectos generales. En: Kunst, C., R. Ledesma.&M. Navall (Eds). RBI. Rolado Selectivo de Baja Intensidad Ediciones INTA. 139 p.
- Kunst, C., R. Ledesma., M. Castañares., M. Cornacchione., H. van Meer & J. Godoy. 2014b.
 Yield and growth features of Panicum maximum (Jacq.) var Trichoglume cv Petrie
 (Green Panic) under woody cover, Chaco region, Argentina. Agroforest Syst 88 (1): 157-171.
- Kunst, C., S. Bravo., R. Ledesma., M. Navall., A. Anriquez., D. Coria., J. Silberman., A. Gómez & A. Albanesi. 2014a. Ecology and Management of the Dry Forests and Savannas of the western Chaco region, Argentina. In: Greer (Ed). Dry Forests: Ecology, Species Diversity and Sustainable Management. Nova Science Publishers. United States of America. 189p.
- Lagerlöf, J., L. Adolfsson., G. Börjesson., K. Knut., G. Palarés Vinyoles&I. Sundh. 2014. Land-use intensification and agroforestry in the Kenyan highland: impacts on soil microbial community composition and functional capacity. Appl. Soil Ecol. 82: 93-99.

- Lal, R. 2004. Soil carbon sequestration impacts on global climate change and food security. Science: 304 (5677): 1623-1627.
- Lupatini, M., A.K. Suleiman ., R.J. Jacques., Z.I. Antoniolli.&E.E. Kuramae., F.A. de Oliveira Camargo & L.F. Würdig Roesch. 2013 Soil-Borne Bacterial Structure and Diversity Does Not Reflect Community Activity in Pampa Biome. PLoS ONE 8(10): e76465.
- Mairura, F.S., D.N. Mugendi., J.I. Mwanje., J.J. Ramisch., P.K. Mbugua & J.N. Chianu. 2007. Integrating scientific and farmers' evaluation of soil quality indicators in Central Kenya. Geoderma 139: 134–143.
- Mao, R., D. Zeng&L. Li. 2011. Fresh root decomposition pattern of two contrasting tree species from temperate agroforestry systems: effects of root diameter and nitrogen enrichment of soil. Plant Soil 347:115–123.
- Martín, N.F., G. Bollero & D.G. Bullock. 2005. Associations between field characteristics and soybean plant performance using canonical correlation analysis. Plant and Soil 273: 39-55.
- Matos, E.S., D. Freese., E.S. Mendonça., A. Slazak&R.F. Hüttl. 2011. Carbon, nitrogen and organic C fractions in topsoil affected by conversion from silvopastoral to different land use systems. Agroforestry Systems 81 (3): 203-211.
- McAdam, J.H., A.R. Sibbald., Z. Teklehaimanot.&W.R. Eason. 2007. Developing silvopastoral systems and their effects on diversity of fauna. Agroforest. Syst. 70: 81–89.
- Mijangos, I., L. Epelde., C. Garbisu&J.A. González-Oreja. 2014. Modification of soil enzyme activities as a consequence of replacing meadows by pine plantations under temperate climate. Pedobiologia 57 (2): 61-66.
- Moeseneder, M.M., J.M. Arrieta., G. Muyzer., C. Winter&G.J. Herndl. 1999. Optimization of terminal-restriction fragment length polymorphism analysis for complex marine

- bacterioplankton communities and comparison with denaturing gradient gel electrophoresis. Appl. Environ. Microbiol. 65: 3518-3525.
- Moeskops, B., D. Buchan., S. Van Beneden., V. Fievez., S. Sleutel., M. Gasper., T. D'Hose & S. De Neve. 2012. The impact of exogenous organic matter on SOM contents and microbial soil quality. Pedobiologia 55 (3): 175–184.
- Montagnini, F., M. Ibrahim& E. Murgueitio Restrepo.2013. Silvopastoral systems and climate change mitigation in Latin America. Bois et Forets des Tropiques 316 (2): 3-16.
- Montaño, N.M., A.L. Sandoval-Pérez., M. Nava-Mendoza., J.M. Sánchez-Yañez&F. García-Oliva. 2013. Variación espacial y estacional de grupos funcionales de bacterias cultivables del suelo de un bosque tropical seco en México. Int. J. Trop. Biol. 61 (1): 439-453.
- Morello, J., S. Matteucci., A. Rodriguez & M. Silva. 2012. Ecorregiones y complejos ecosistemicos Argentinos. Facultad de arquitectura diseño urbanismo. Universidad de Buenos Aires. Orientación grafica editora. Buenos Aires, Argentina.752p.
- Moreno, G & F.J. Pulido. 2009. The functioning, management and persistence of dehesas. In: Rigueiro-Rodríguez, A., McAdam, J., Mosquera-Losada, M.R. (Eds.), Agroforestry in Europe. Springer pp. 127–160.
- Mummey, D & P. Stahl. 2003. Spatial and temporal variability of bacterial 16S rDNA-based T-RFLP patterns derived from soil of two Wyoming grassland ecosystems. FEMS Microbiol Ecol. 46 (1): 113-120.
- Muñoz Rojas, M., T Ericson., K Dixon & D Merritt. 2016. Soil quality indicators to assess functionality of restored soils in degraded semiarid ecosystems. Restoration Ecology. DOI: 10.1111/rec.12368

- Muñoz-Rojas, M., T.E. Erickson., D. Martini., K.W. Dixon&D.J. Merritt. 2016.

 Soil physicochemical and microbiological indicators of short, medium and long term postfire recovery in semi-arid ecosystems. Ecological Indicators 63: 14-22.
- Murgueitio, E.& M. Ibrahim. 2008. Ganadería y medio ambiente en América Latina. En:

 Murgueitio, E., C. Cuartas., J.F. Naranjo (Eds.). Ganadería del futuro: investigación para
 el desarrollo. CIPAV, Cali Colombia, p. 19–40.
- Murgueitio, E., Z. Calle., F. Uribe., A. Calle & B. Solorio. 2011. Native trees and shrubs for the productive rehabilitation of tropical cattle ranching lands. Forest Ecology and Management 261: 1654-1663.
- Nannipieri, P.& P. Eldor. 2009. The chemical and functional characterization of soil N and its biotics components. Soil biology and biochemistry 41: 2357-2369.
- Navarrete, AA., TR Diniz., LPP Braga., GGZ Silva., JC Franchini, R Rossetto., R Edwards & S Tsai. 2015. Multi-Analytical Approach Reveals Potential Microbial Indicators in Soil for Sugarcane Model Systems. PLoS ONE 10(6): e0129765. doi:10.1371/journal.pone.0129765
- Navarro, G., J.A. Molina & S. Vega. 2011. Soil factors determining the change in forests between dry and wet Chacos. Flora 206: 136–143.
- Navas Panadero, A. 2010. Importancia de los sistemas silvopastoriles en la reducción del estrés calórico en sistemas de producción ganadera tropical. Rev. Med. Vet.19: 113-122.
- Ndaw, S.M., A.C. Gama-Rodrigues., E.F. Gama-Rodrigues., K.R. Sales& A.S. Rosado. 2009. Relationships between bacterial diversity, microbial biomass, and litter quality in soils under different plant covers in northern Rio de Janeiro State, Brazil. Can J Microbiol. 55(9):1089-95.

- Negash, M&M. Kanninen. 2015. Modeling biomass and soil carbón sequestration of indigenous agroforestry systems using CO₂FIX approach. Agriculture, Ecosystems and Environment 203: 147-155.
- Nelson, D & L.E. Sommers. 1982. Methods in soil analysis. In: Page, A L (Ed). Agronomy 9, ASA, SSSA. p. 539-579.
- Ng, E., A. Patti., M. Rose., C. Schefe., K. Wilkinson., R. Smernik&T. Cavagnaro. 2014. Does the chemical nature of soil carbon drive the structure and functioning of soil microbial communities? Soil Biology and Biochemistry 70: 54-61.
- Noe, L & A Abril. 2013. Soil microbial diversity in dry woodlands of central-Western Argentina: Response to ecological conditions. In Manzanares, L. (Ed). Woodlands: Structure, Species and Sustainable Mnagement. Nova Science Publishers. Pag. 119- 138.
- Noe, L & A Abril. 2015. Relationship between cellulolysis and humification processes in the west-central arid region of Argentina. Soil Science of America Journal 79 (4): 1123 1130.
- Noe, L., J Ascher., MT Ceccherini., A Abril & G Pietramellara. 2012. Molecular discrimination of bacteria (organic versus mineral soil layers) of dry woodlands of Argentina. Journal of Arid Environments 85: 18- 26.
- Nogueira Cardoso, E., F. Figueiredo Vasconcellos., D. Bini., M. Miyauchi., C. Alcantara dos Santos., P. Lopes Alves., A. Monteiro de Paula., A. Shigueyoshi Nakatani., J. de Moraes Pereira&M. Nogueira. 2013. Soil health: looking for suitable indicators. What should be considered to assess the effects of use and management on soil health?.Sci. Agric. 70 (4): 274-289.
- Nunes, D.A., E.F. Gama-Rodriguez., P.A. Barreto., A.C. Gama-Rodriguez&P.H. Monroe. 2016. Carbon and nitrogen mineralization in soil of leguminous tres in a degraded pasture in northern Rio de Janeiro, Brazil. J. For. Res. 27(1): 91–99.

- Ovreas, L. 2000. Population and community level approaches for analysing microbial diversity in natural environments. Ecol. Lett. 3: 236–251.
- Pace, N.R. 1997.A molecular view of microbial diversity and the biosphere. Science 276: 734 740.
- Page, A.L. 1982. Methods of soil analysis. Part 2: Chemical and microbiological properties.

 Agronomy 9, ASA, SSSA, Madison, Wisconsin, USA. 1159 p.
- Pande, M & J Tarafdar. 2004. Arbuscular mycorrhizal fungal diversity in neem-based agroforestry systems in Rajasthan. Applied Soil Ecology 26: 233–241.
- Peham, T & A.Bruckner . 2012. Optimising whole-soil multiple substrate-induced respiration (MSIR) of soil microbiota for large scale surveillance and monitoring. European Journal of Soil Biology 50: 182-190.
- Pérez, E., M. Soca., L. Díaz&M. Corzo. 2008. Comportamiento etológico de bovinos en sistemas silvopastoriles en Chiapas, México.Pastos y Forrajes 31 (2): 161-171.
- Peri, P., F Dube & A Varella. 2016. Silvopastoral systems in the subtropical and temperate zones of South America: An Overview. In: Peri, P., F Dube., A Varella (Eds). Silvopastoral systems in Southern South America. Advances in Agroforestry 11. Springer International Publishing Switzerland. pp 1-8.
- Peri, P.L., H. Bahamonde & R. Christiansen. 2015. Soil respiration in Patagonian semiarid grasslands under contrasting environmental and use conditions. Journal of Arid Environments 119: 1-8.
- Pichancourt, J., J Firn., I Chades & T G Martin. 2014. Growing biodiverse carbon-rich forests. Global ChangeBiol 20: 382–393.
- Prescott, CE & SJ Grayston. 2013. Tree species influence on microbial communities in litter and soil: current knowledge and research needs. Forest Ecology and Management 309: 19-27.

- Preston-Mafham, J., L. Boddy&P. Randerson. 2002. Analysis of microbial community functional diversity using sole-carbon-source utilization profiles—a critique. FEMS Microbiology Ecology 42: 1–14.
- Prieto, D.,A. Bianchi., L. Nieva., R. Pedraza., G. Angella., H. Elena., H. Van Meer& F. Tolaba. 2006. Sistema de procesamiento de datos agrometeorológicos del NOA (ProdaAgro version 1.0) INTA EEA Santiago del Estero. http://sigse.inta.gov.ar/. (consultado el 12/10/2011).
- Qi, L., X. Zhang., Z. Peng&J. Zhou. 2009. Canonical correlation analysis of soil nutrients, microorganisms and enzyme activities in vegetation restoration areas of degraded and eroded soils in northwestern Hunan Province, China. Frontiers of Forestry in China 4(4): 443-449.
- Ralte, V., H.N. Pandey., S.K. Barik., R.S. Tripathi.& S.D. Prabhu. 2005. Changes in microbial biomass and activity in relation to shifting cultivation and horticultural practices in subtropical evergreen forest ecosystem of north-east India. Acta Oecol. 28: 163–172.
- Reicosky, DC. 2007. Carbon sequestration and environmental benefits from no-till systems. In: Goddard, T; M Zoebisch; Y Gan; W Ellis; A Watson & S Sombatpanit (Eds.), No-till farming systems. Special publication N° 3 by The World Association of Soil and Water Conservation (WASWC).
- Reuschenbacha, P., U. Paggaa & U. Strotmann. 2003. A critical comparison of respirometric biodegradation tests based on OECD 301 and related test methods. Water Research 37: 1571–1582.
- Reynolds, J.F., D.M. Stafford Smith., E.F. Lambin., B.L. Turner., M. Mortimore., S.P.J. Batterbury., T.E. Downing., H. Dowlatabadi., R.J. Fernandez., J.E. Herrick., E. Huber-Sannwald., H. Jiang., R. Leemans., T. Lynam., F.T. Maestre., M. Ayarza&B. Walker. 2007. Global desertification: building a science for dryland development. Science 316: 847-851.

- Rice, R.A&R. Greenberg. 2004. Silvopastoral systems: ecological and socioeconomic benefits and migratory bird conservation. In: Schroth, G., G.A.B. da Fonseca., C.A. Harvey., C. Gascon., H.L. Vasconcelos & A.M. Izac (Eds.). Agroforestry and Biodiversity Conservation in Tropical Landscapes. Island Press, Washington, pp. 453–472.
- Rillig, M.C. 2004. Arbuscular mycorrhizae, glomalin, and soil aggregation. Canadian Journal of Soil Science 84: 355-363.
- Rillig, M.C., F.T. Maestre& L.J. Lamit. 2003. Microsite differences in fungal hyphal length, glomalin, and soil aggregate stability in semiarid Mediterranean steppes. Soil Biology and Biochemistry 35: 1257-1260.
- Rivest, D., M Lorente., A Olivier & C Messier. 2013. Soil biochemical properties and microbial resilience in agroforestry systems: effects on wheat growth under controlled drought and flooding conditions. Science of the Total Environment 463: 51-60.
- Rojas, J.M., J. Prause., G.A. Sanzano., O.E.A Arce & M.C. Sanchez.2016. Soil quality indicators selection by mixed models and multivariate techniques in deforested areas for agricultural use in NW of Chaco, Argentina. Soil & Tillage Research 155: 250–262.
- Romero, C. M., A Abril., L Noe & E Rampoldi. 2014. Resiliencia del proceso de humificación para evaluar la recuperación edáfica en un agroecosistema semiárido del centro de Argentina. Spanish Journal of Soil Science 4 (3): 211-224.
- Rosa, S., F. Behrends Kraemer., M. Soria., L. Guerrero., H. Morrás., E. Figuerola&L. Erijman. 2014. The influence of soil properties on denitrifying bacterial communities and denitrification potential in no-till production farms undercontrasting management in the Argentinean Pampas. Applied Soil Ecology 75: 172–180.
- Roscoe, R., F.M. Mercante., I.C. Mendes., F.B. Reis Júnior., J.C.F. Santos & M. Hungria. 2006. Biomassa microbiana do solo: fracão mais ativa da matéria orgânica. En:Roscoe, R., F.M. Salton., J.C. Mercante (Eds.). Dinâmica da matéria orgânica dosolo em sistemas

- conservacionistas:modelagem matemática e métodos auxil-iares. Embrapa Agropecuária Oeste, Dourados, p. 163–198.
- Rousk, J., P.C. Brookes & E. Baath. 2009. Contrasting Soil pH Effects on Fungal and Bacterial Growth Suggest Functional Redundancy in Carbon Mineralization. Applied and environmental microbiology 75 (6): 1589–1596.
- Rüdisser, J., E Tasser., T Peham., E Meyer & U Tappeiner. 2015. The dark side of biodiversity: Spatial application of the biological soil quality indicator (BSQ). Ecological Indicators 53: 240-246.
- Salton, J.C., J. Mielniczuk., C. Bayer., A.C. Fabrício, M.C.M. Macedo& D.L. Broch.2011.Teor e dinâmica do carbono no solo em sistemas de integrac, ão lavoura-pecuária.Pesq. Agropec. Bras. 46, 1349–1356.
- San Miguel, C.& M. Dulinski, R. Tate. 2007. Direct comparison of individual substrate utilization from a CLPP study: A new analysis for metabolic diversity data. Soil Biology & Biochemistry 39: 1870–1877.
- Santra, P., U.K. Chopra&D. Chakraborty. 2008. Spatial variability of soil properties and its application in predicting surface map of hydraulic parameters in an agricultural farm.CurrSci 95(7): 937–945.
- Saparrat, M., A. Bárcena&P. Balatti. 2013. Microorganismos del suelo y su participación en la formación de la materia orgánica: degradación de lingocelulosa. En: Albanesi, A (Ed).
 Microbiología agrícola: Un aporte de la investigación en Argentina. Segunda Edición.
 Ediciones MAGNA. 500p.
- Sariyildiz, T., G. Savaci & I.S. Kravkaz. 2015. Effects of tree species, stand age and land-use change on soil carbon and nitrogen stock rates in northwestern Turkey. iForest9: 165-170.

- Schinner, F., R. Öhlinger., E. Kandeler&R. Margesin. 1996. Methods in soil biology. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. 426p.
- Schloter, M., O. Dilly &J. Munch. 2003. Indicators for evaluating soil quality. Agriculture, Ecosystems &Environment 98(1): 255-262.
- Scholes, M.C& R.J. Scholes.2013. Dust Unto Dust. Science 342: 565-566.
- Sequeira, CH., SA. Wills., CA Seybold& LT West. 2014. Predicting soil bulk density for incomplete databases. Geoderma 213: 64-73.
- Seybold, C., J Herrick & J Brejda. 1999. Soil resilience: A fundamental component of soil quality. Soil Science. 164: 224-234.
- Shannon, C.E& W. Weaver. 1949. The Mathematical Theory of Communication. University Illinois Press, Urbana, IL.United Estates of America.
- Silva Terra, V.S., R.A. Valgas., C. Reisser (Jr).,L.C. Timm., J.F. Martins Pereira., F.L. Carpena Carvalho&H. Henrique Oldoni. 2014. Multivariate analysis applied to the study of the relationship between soil and plant properties in a peach orchard. R. Bras. Ci. Solo 38:755-764.
- Sinegani, A.S.& J. Maghsoudi. 2011. The effects of water potential on some microbial opulations and decrease kinetic of organic carbon in soil treated with cow manure under laboratory conditions. J. Appl. Sci. Environ. Manage. 15(1): 179-188.
- Smalla, K., U. Wachtendorf., H. Heuer., W. Liu&L. Forney. 1998. Analysis of BiOLOG GN substrate utilization patterns by microbial communities. Applied and Environmental Microbiology 64: 1220–1225.
- Smith CJ., B.S. Danilowicz., A.K. Clear., F.J. Costello., B. Wilson&W.G. Meijer. 2005. T-Align, a web-based tool for comparison of multiple terminal restriction fragment length polymorphism profiles. FEMS Microbiol Ecol 54(3):375-80.

- Smith, J., B. Pearce & M.Wolfe. 2012. Reconciling productivity with protection of the environment: Is temperate agroforestry the answer? Renewable Agriculture and Food Systems: 28(1): 80–92.
- Spohn, M. & L. Giani. 2011. Impacts of land use change on soil aggregation and aggregate stabilizing compounds as dependent on time. Soil Biology & Biochemistry 43: 1081-1088.
- Spohn, M.& M. Chodak. 2015. Microbial respiration per unit biomass increases with carbon-tonutrient ratios in forest soils. Soil Biology and Biochemsistry 81: 128-133.
- Stefanis, C., A Alexopoulos., C Voidarou., S Vavias & E Bezirtzoglou. 2013. Principal methods for isolation and identification of soil microbial communities. Folia Microbiol 58:61-68
- Storie, R.E. 1970. Manual de Evaluación de Suelos. Primera Edición. 1970. Editorial Hispano Americana México. 225 p.
- Suuster, E., C. Ritz., H. Roostalu., E. Reintam., R. KÖlli.&A. Astover. 2011. Soil bulk density pedotransfer functions of the humus horizon in arable soils. Geoderma 163(1–2):74–82.
- Suzuki, C., M. Takenaka., N. Oka., K. Nagaoka&T. Karasawa. 2012. A DGGE analysis shows that crop rotation systems influence the bacterial and fungal communities in soils. Soil Science and Plant Nutrition 58: 288-296.
- Sylvia, D.M., J.F. Fuhrmann., P.G. Hartel&D.A. Zuberer.2005. Principles and Applications of Soil Microbiology. New Jersey, Pearson Education Inc. Prentice Hall Publisher. 672p.
- Tabatabai, M.A. 1994. Soil Enzymes. En Weaver, R.W., J.S. Angle & P.S. Bottomley (Eds). Methods of soil analysis. Part 2: Microbiological and biochemical properties. SSSA Book Series 5, Madison, Wisconsin, USA. 37: 775-834.
- Talia, P., S.M.Sede., E. Campos., M. Rorig., D.Principi., D. Tosto., E. Hopp., D. Grasso&A. Cataldi. 2012. Biodiversity characterization of cellulolytic bacteria present on native

- Chaco soil by comparison of ribosomal RNA genes. Research in Microbiology 163: 221-232.
- Tan, Z,X., R. Lal., N.E. Smeck., F.G. Calhoun ., R.M. Gehring&B. Parkison. 2003. Identifying associations among soil and site variables using canonical correlation analysis. Soil Science 168(5): 1-7.
- Taok, M., M. Cochet., A. Pauss&O. Schoefs. 2007. Monitoring of microbial activity in soil using biological oxygen demand measurement and indirect impedancemetry. European Journal of Soil Biology 43: 335-340.
- Thorn, G. 1997. The fungi in soil. En: van Elsas, J., J. Trevors & E. Wellington (Eds.). Modern Soil Microbiology. Marcel Dekker, New York, p. 63–127.
- Tiquia, S. 2010. Metabolic diversity of the heterotrophic microorganisms and potential link to pollution of the Rouge River. Environmental Pollution 158: 1435–1443.
- Torres, P., A. Abril & E. Bucher. 2005. Microbial succession in litter decomposition in the semiarid Chaco woodland. Soil Biology and Biochemistry 37 (1): 49–54.
- Torsvik, V., F. Daae., R. Sandaa&L. Ovreas., 1998. Review article: novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments. J. Biotechnol. 64: 53–62.
- Torsvik, V., J. Goksoyr&F. Daae. 1990. High diversity in DNA of soil bacteria. Appl. Environ. Microbiol. 56: 782–787.
- Trasar Cepeda, C.,F. Gil Sotres&M. Leirós De La Peña. 2003. Determinación de la actividad deshidrogenasa del suelo. En: Gil-Sotres, F., T. Hernández Fernández&C. Trasar Cepeda. (Eds). Técnicas de Análisis de Parámetros Bioquímicos en Suelos: Medida de Actividades Enzimáticas y Biomasa Microbiana. Ediciones Mundi-Prensa, España. 370p.

- Trivedi, P., I.C. Anderson.&B.K. Singh. 2013. Microbial modulators of soil carbon storage: integrating genomic and metabolic knowledge for global prediction. Trends in Microbiology 21 (12): 641-651.
- Tumwebaze, S., E. Bevilacqua., R. Briggs&T. Volk. 2012. Soil organic carbon under a linear simultaneous agroforestry system in Uganda. Agroforest Syst 84:11–23.
- Vallejo, V., Z. Arbelí., W. Terán., N. Lorenz., R. Dick&F. Roldan. 2012. Effect of land management and Prosopis juliflora (Sw.) DC trees on soil microbial community and enzymatic activities in intensive silvopastoral systems of Colombia. Agriculture, Ecosystems and Environment 150: 139–148.
- Vallejo, V.E., F. Roldan&R.P. Dick.2010. Soil enzymatic activities and microbial biomass in an integrated agroforestry chronosequence compared to monoculture and a native forest of Colombia. Biology and Fertility of Soils 46 (6): 577-587.
- Vallejos, M., JN Volante., MJ Mosciaro., LM Vale., ML Bustamante & JM Paruelo. 2015.

 Transformation dynamics of the natural cover in the Dry Chaco ecoregion: A plot level geo-database from 1976 to 2012. Journal of Arid Environments 123: 3-11.
- van Bruggen, A., K Sharma., E Kaku., S Karfopoulos., V Zelenev & W Blok. 2015. Soil health indicators and Fusarium wilt suppression in organically and conventionally managed greenhouse soils. Applied Soil Ecology 86: 192- 201.
- van Elsas, J., G. Frois-Duarte., A. Keijzer-Wolters& E. Smit. 2000. Analysis of the dynamics of fungal communities in soil via fungal- specific PCR of soil DNA followed by denaturing gradient gel electrophoresis. J. Microbiol Methods 43: 133–151.
- van Elsas, J.D; F.G.H. Boersma. 2011. A review of molecular methods to study the microbiota of soil and the mycosphere. European Jorunal of Soil Biology 47: 77- 87.
- Van Veen, J.A & P.J. Kuikman. 1990. Soil structural aspects of decomposition of organic matter by micro-organisms. Biogeochemistry 11: 213–233.

- Vardavakis, E. 1989. Seasonal fluctuations of aerobic cellulolytic bacteria, and cellulase and respiratory activities in a soil profile under a forest. Plant and Soil 115: 145-150.
- Vesterdal, L., I.K. Schmidt., I. Callesen., L.O. Nilsson&P. Gundersen. 2008. Carbon and nitrogen in forest floor and mineral soil under six common European tree species. Forest Ecology and Management 255: 35-48.
- Villamil, M.B., F.E. Miguez & G.A. Bollero. 2008. Multivariate analysis and visualization of soil quality data for no-till systems. J. Environ. Qual. 37: 2063.
- Volante, J.N., D. Alcaraz-Segura., M.J. Mosciaro., E.F. Viglizzo & J.M. Paruelo. 2012. Ecosystem functional changes associated with land clearing in NW Argentina. Agriculture, Ecosystems and Environment 154: 12-22.
- Volante, JN., MJ Mosciaro., GI Gavier-Pizarro & JM Paruelo. 2016. Agricultural expansion in the Semiarid Chaco: Poorly selective contagious advance. Land Use Policy 55: 154-165.
- Wander, M. 2004. Soil organic matter fractions and their relevance to soil function. En: Magdoff, K&R.R. Weil, R.R. (Eds.). Soil Organic Matter in Sustainable Agriculture. CRC Press, Boca Raton, Florida, EE.UU, p. 67–102.
- Wang, G., C. Welham., C. Feng., L. Chen & F. Cao.2015. Enhanced soil carbOn storage under agroforestry and afforestation in subtropical China. Forests 6 (7): 2307-2323.
- Wang, Q., W Wang., X He., W Zhang., K Song & S Han. 2015. Role and Variation of the Amount and Composition of Glomalin in Soil Properties in Farmland and Adjacent Plantations with Reference to a Primary Forest in North-Eastern China. PLoS ONE 10(10): e0139623. doi:10.1371/journal.pone.0139623
- Weber, K&R. Legge.2009. One-dimensional metric for tracking bacterial community divergence using sole carbon source utilization patterns. J. Microbiol. Methods 79: 55–61.

- Weber, K., J. Grove., M. Gehder., W. Anderson & R. Legge. 2007. Data transformations in the analysis of community-level substrate utilization data from microplates. Journal of Microbiological Methods 69: 461–469.
- West, A.W., G.P. Sparling&W.P. Grant. 1987. Relationship between mycelium and bacterial population in stored, air dried and glucose-amended arable and grassland soil. Soil Biology & Biochesmistry 19: 599-605.
- Włodarczyk, T., W. Stępniewski &M. Brzezińska. 2002. Dehydrogenase activity, redox potential, and emissions of carbon dioxide and nitrous oxide from Cambisols under flooding conditions. Biology and Fertility of Soils 36(3): 200-206.
- Woese, C.R. 1987. Bacterial evolution. Microbiol. Rev. 51:221–271.
- Wright, S.F. &A. Upadhyaya. 1996. Extraction of an abundant and unusual protein from soil and comparison with hyphal protein of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Science 161: 575–586.
- Wu, Q.S., M.Q. Cao., Y.N. Zou&X.H. He. 2014. Direct and indirect effects of glomalin, mycorrhizal hyphae, and roots on aggregate stability in rhizosphere of trifoliate orange. Scientific Reports 4: 5823.
- Yanni, S.F., E.C. Suddick & J. Six. 2015. Photodegradation effects on CO₂ emissions from litter and SOM and photo-facilitation of microbial decomposition in a California grassland. Soil Biology and Biochemistry 91: 40-49.
- Yin, R., H. Deng., H. Wang& B. Zhang. 2014. Vegetation type affects soil enzyme activities and microbial functional diversity following re-vegetation of a severely eroded red soil in subtropical China. Catena 115: 96–103.
- Zaho, J., X. Wu., C. Nie., T. Wu., W. Dai., H. Liu & R. Yang. 2012. Analysis of unculturable bacterial communities in tea orchard soils based on nested PCR-DGGE. World J Microbiol Biotechnol 28:1967–1979.

- Zhang, Y., L. Chen., Z. Wu &C. Su. 2011. Kinetic parameters of soil -glucosidase response to environmental temperature and moisture regimes. Rev. Bras. Cienc. Solo 35: 1285-1291Zhang, Y., C. Cao&P. Zhang. 2013. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis Detects Bacterial and Cyaonbacterial Diversities in Biological Soil Crusts in a Semiarid Desert, China. Advanced Materials Research Vols. 726-731: 3680-3684..
- Zhang, Y.J., M. Xie., G. Wu., D.L. Peng & W.B. Yu. 2015. A 3-year field investigation of impacts of Monsanto's transgenic Bt-cotton NC 33B on rhizosphere microbial communities in northern China. Applied Soil Ecology 89: 18–24.

ANEXO

Tabla 1. Fuentes de carbon de BIOLOG MicroPlate.

12	g.	gine	anin		ne	Acid	nyla	au					
	L-Arginine	Asparag	L- Phenylalanin e	L-Serine	-Threoni	Glycyl-L- Glutamic Acid	Phenyleth mine	outrescin					
11	D-Galactonic Acid y- Lactone	D- Galacturonic L-Asparagine Acid	2-Hydroxy Benzoic Acid	4-Hydroxy Benzoic Acid	N-Acetyl- Y- DGlucosamin Hydroxybutyri L-Threonine e cAcid		α-Ketobutyric Phenylethyla Acid mine	D-Malic Acid Putrescine					
10	β-Methyl- DGIucoside	D-Xylose	i-Erythritol	D-Mannitol	N-Acetyl- DGIucosamin e	D- Glucosaminic Itaconic Acid Acid	Glucose-1- Phosphate	D,L-a-Glycerol Phosphate					
6	Water	Pyruvic Acid Methyl Ester	Tween 40	Tween 80	a- Cyclodextrin	Glycogen	D-Cellobiose	a-D-Lactose					
8	L-Arginine	D- Galacturonic L-Asparagine Acid	L- Phenylalanin Tween 40 e	L-Serine	L-Threonine	Glycyl-L- Glutamic Acid	α-Ketobutyric Phenylethyla Acid mine	Putrescine					
7	D-Galactonic Acid y- Lactone	D- Galacturonic Acid	2-Hydroxy Benzoic Acid	4-Hydroxy Benzoic Acid	N-Acetyl Y- DGlucosamin Hydroxybutyri L-Threonine e cAcid	D- Glucosaminic Itaconic Acid Acid	a-Ketobutyric Acid	D-Malic Acid Putrescine					
9	β-Methyl- DGIucoside	D-Xylose	i-Erythritol	D-Mannitol	N-Acetyl- DGIucosamin e	D- Glucosaminic Acid	Glucose-1- Phosphate	D,L-α-Glycerol Phosphate					
5	Water	Pyruvic Acid Methyl Ester	Tween 40	Tween 80	α- Cyclodextrin	Glycogen	D-Cellobiose	a-D-Lactose					
4	L-Arginine	D- Galacturonic L-Asparagine Acid	L- Phenylalanin Tween 40 e	L-Serine	L-Threonine	GIycyl-L- GIutamic Acid	a-Ketobutyric Phenylethyla Acid mine	Putrescine					
3	D-Galactonic Acid y- Lactone	D- Galacturonic Acid	2-Hydroxy Benzoic Acid	4-Hydroxy Benzoic Acid	N-Acetyl- Y- DGlucosamin Hydroxybutyri L-Threonine c cAcid	D- Glucosaminic Itaconic Acid Acid	a-Ketobutyric Acid	D-Malic Acid Putrescine			xilicoz	5	1
2	β-Methyl-D- Glucoside	D-Xylose	i-Erythritol	D-Mannitol	N-Acetyl- DGIucosamin e	D- Glucosaminic Acid	Glucose-1- Phosphate	D,L-a-Glycerol Phosphate	Carbohidrato S	Polímeros	Acidos carboxilicoz	Amino ácidos	
Ţ	Water	Pyruvic Acid Methyl Ester	Tween 40	Tween 80	a- Cyclodextrin	Glycogen	D-Cellobiose	a-D-Lactose					
	A		0	0	ш	<u></u>	G	±					

Tabla 2. Autovectores correspondientes al análisis de componenetes principales considerando los parámetros físicos, químicos y biológicos para los diferentes usos del suelo en ambos sitios.

Autovectores		
Variables	e1	e2
рН	0,22	-0,21
Densidad aparente (Dap)	-0,03	0,35
Carbono orgánico total (COT)	-0,24	0,1
Carbono orgánico particulado (COP)	-0,23	0,15
Carbono de la biomasa microbiana (Cbm)	-0,13	-0,17
β- glucosidasa (B-gasa)	-0,15	0,28
Hidrólisis de diacetato de fluoresceína (FDA)	0,19	-0,27
Deshidrogenasa (D-hasa)	0,18	0,28
Riqueza funcional (r Biolog)	0,22	0,14
Diversidad funcional (Sh Biolog)	0,2	0,17
Potencial catabólico (AWCD)	0,09	0,36
Riqueza de bacterias (r T-RFLP 16S)	-0,24	-0,02
Diversidad de bacterias (Sh-T-RFLP 16S)	-0,22	-0,08
Carbono potencialmente mineralizable (C0)	0,24	0,03
Tasa de mineralización del carbono (kc)	-0,24	0,11
Respiración (RE)	0,2	0,2
Abundancia de bacterias celulolíticas (BC)	-0,25	0,03
Abundancia de bacterias heterótrofas (BH)	-0,24	0,11
Abundancia de hongos	-0,24	0,06
Glomalina fácilmente extraíble (GFE)	0,24	-0,01
Glomalina total (GT)	0,25	0,02
Riqueza de hongos (r-TRFLP-18S)	0,17	0,26
Diversidad de hongos (Sh TRFLP-18S)	0,12	0,35
Riqueza de bacterias (r DGGE 16S)	0,16	-0,3
Correlación cofenética= 0,975		