JAT

MÓDULO SOSTENIBILIDAD:

LA VIDA DEL SUELO Y LA FERTILIZACIÓN

CREA REGIÓN SUR DE SANTA FE

IMPACTO A LARGO PLAZO DE LA APLICACIÓN COMBINADA DE FERTILIZANTES MINERALES SOBRE INDICADORES MICROBIOLÓGICOS DE LA CALIDAD DEL SUELO

Dra. Romina A. Verdenelli

Director: Dr. José Manuel Meriles

Codirector: Dra. Silvina Vargas Gil

FCEFyN

CONICET UNC Universidad Nacional de Córdoba I M B I V

Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal (IMBIV) CONICET - UNC

Instituto de Ciencia y Tecnología de los Alimentos (ICTA)

UNC

INTA IPAVE

Instituto de Patología Vegetal (IPAVE-INTA)

Cátedra de Química Orgánica FCEFyN- UNC

Microorganismos edáficos

- ✔ Descomposición de la materia orgánica
- ✔ Degradar compuestos orgánicos
- ✔ Mineralización y ciclado de nutrientes
- ✔ Producción de exoenzimas

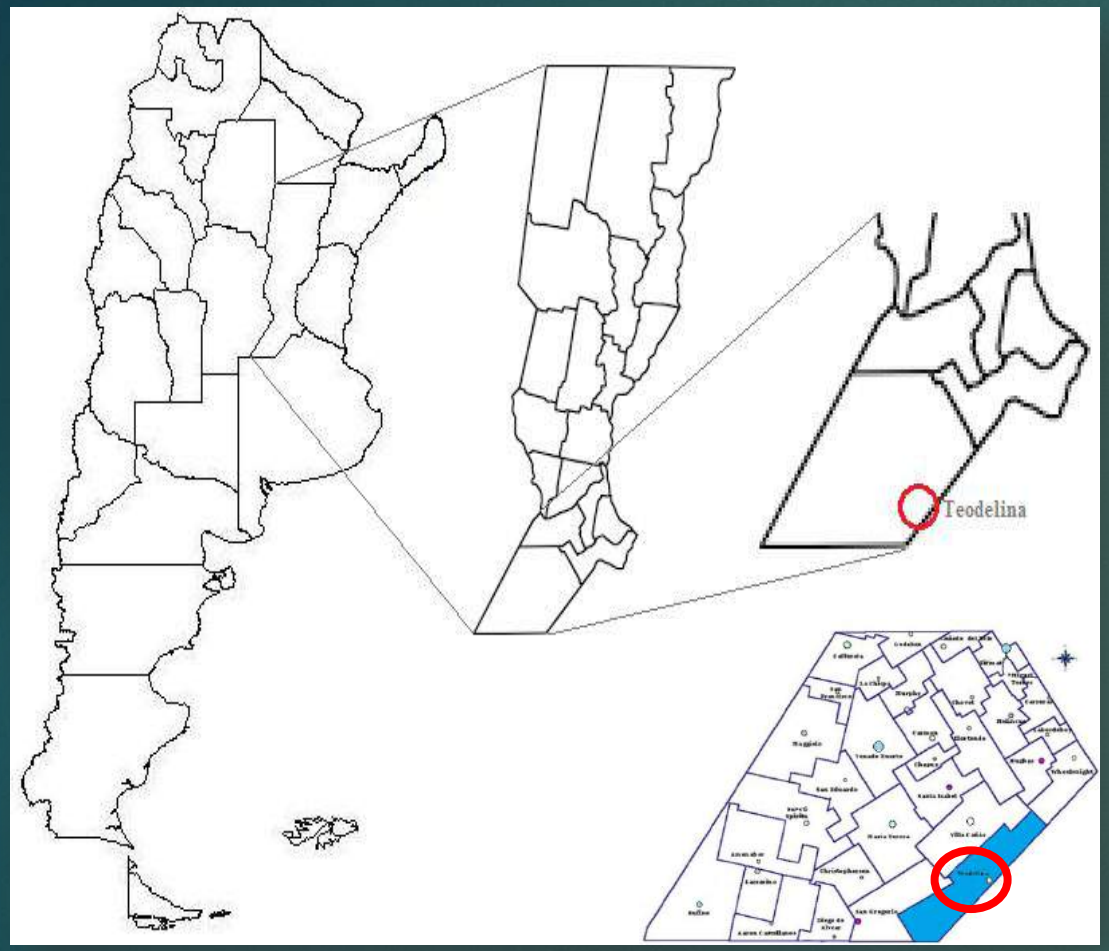
Medida integral de la calidad del suelo

- ✔ Aumentan la biomasa microbiana
- ✔ Aumentar su actividad
- ✔ Aumentar la tasa de descomposición de MO
- ✔ Afectar estructura de las comunidades microbianas
- ✔ Poco o ningún efecto de la fertilización sobre la estructura de comunidades y su funcionalidad

- ✔ Tipo y dosis de fertilizante
- ✔ Condiciones de aplicación
- ✔ Condiciones climáticas y edáficas
- ✔ Combinaciones e Interacciones entre los nutrientes en el suelo.

La información disponible es contradictoria

SITIO EXPERIMENTAL

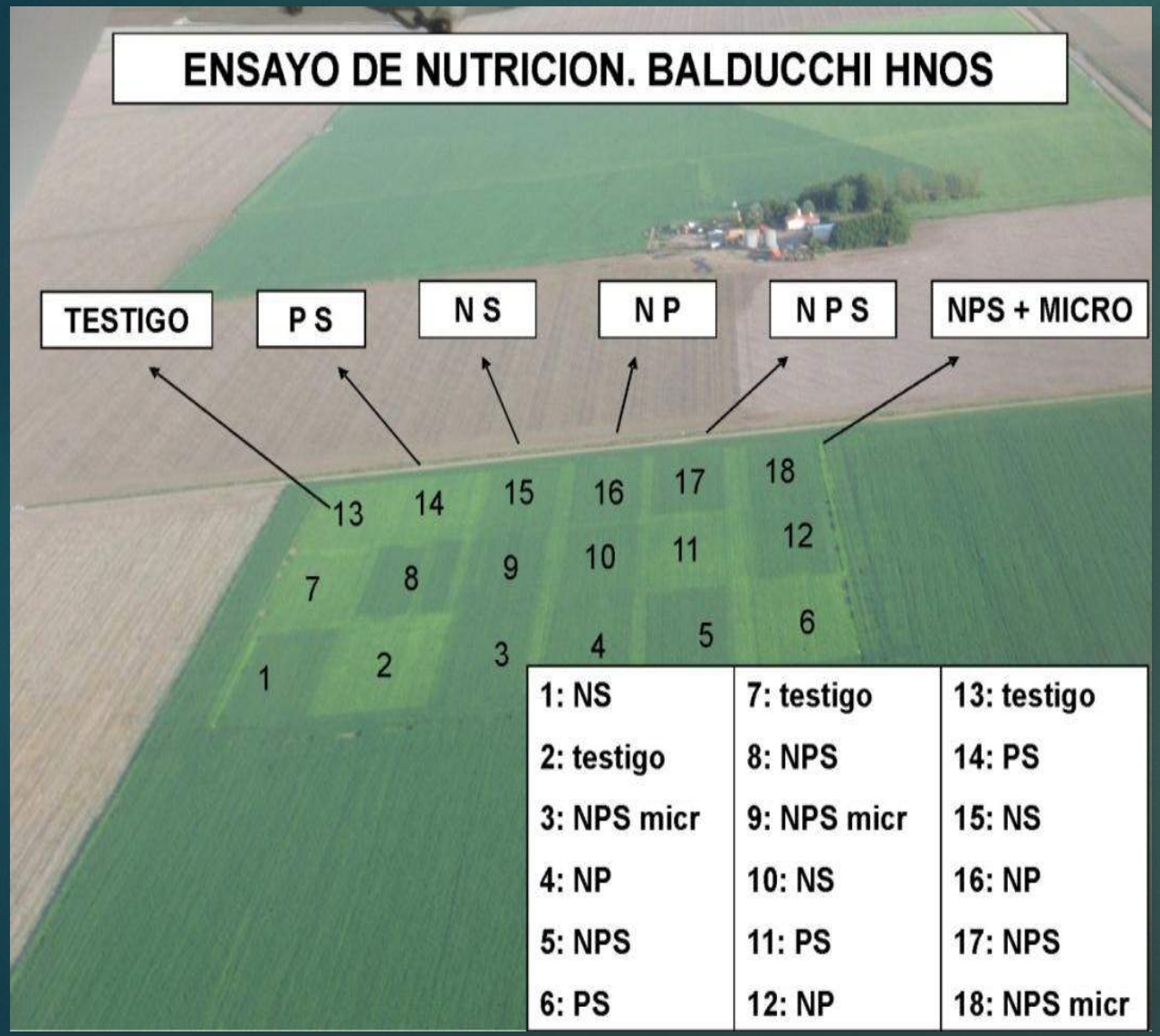


Consorcio Regional de Experimentación Agropecuaria (CREA)

Características del sitio:

- ✔ **Hapludol típico (Molisol)**
- ✔ **Textura franco-limosa**
  limo (53.2%), arena (35.1 %) y arcilla (11.8%)
- ✔ **El clima templado, temperatura media 17°C**
- ✔ **Precipitaciones 600-800 mm anuales**
- ✔ **+ 60 años de agricultura**
- ✔ **El ensayo de fertilización fue iniciado en 2000**

DISEÑO EXPERIMENTAL



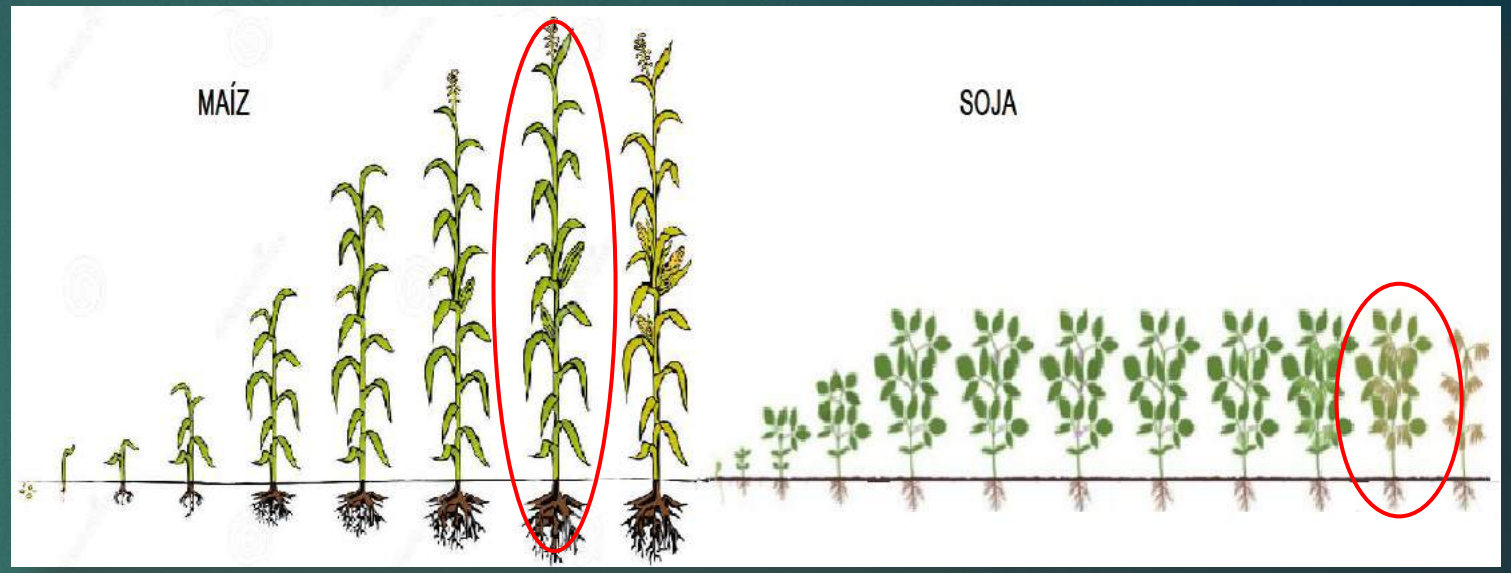
Características del ensayo:

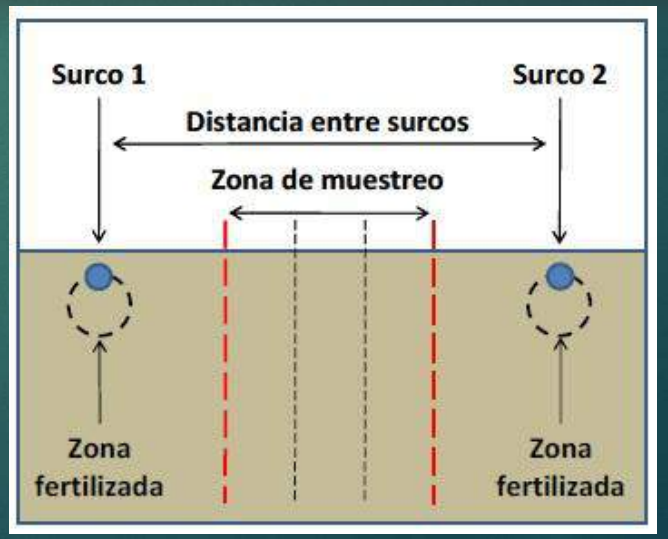
- ✔ Sistema de rotación Maíz/Soja y Trigo como invernal
- ✔ Siembra directa
- ✔ 6 tratamientos por triplicado
- ✔ 3 Bloques completos al azar
- ✔ Fertilización anual en pre-siembra

  - Se utilizaron dosis de N no limitantes
  - P y S con dosis estimadas para la reposición de la extracción en grano más un 10%

MUESTREOS

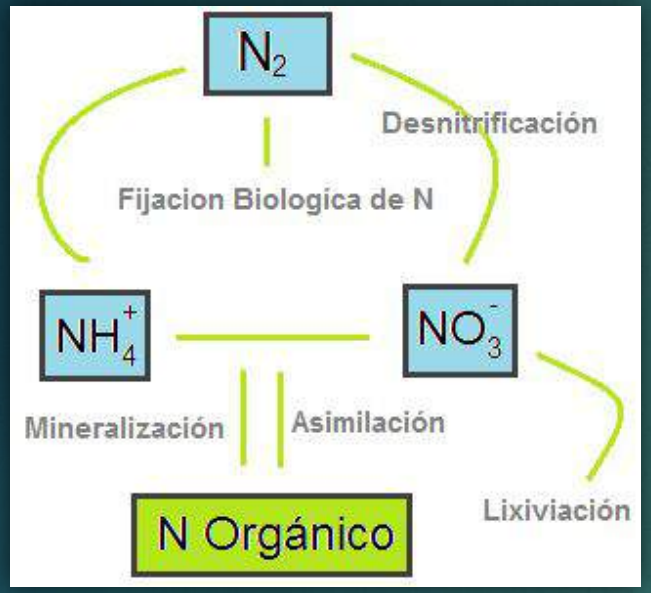
- ✔ Cuatro campañas consecutivas
  - 2010-2011 MAÍZ
  - 2011-2012 SOJA
  - 2012-2013 MAÍZ
  - 2013-2014 SOJA
- ✔ Profundidad 0-10 cm
- ✔ 6 muestras en cruz en cada parcela/réplica
- ✔ Muestreos en pre-cosecha





Nitrógeno (N)

Urea



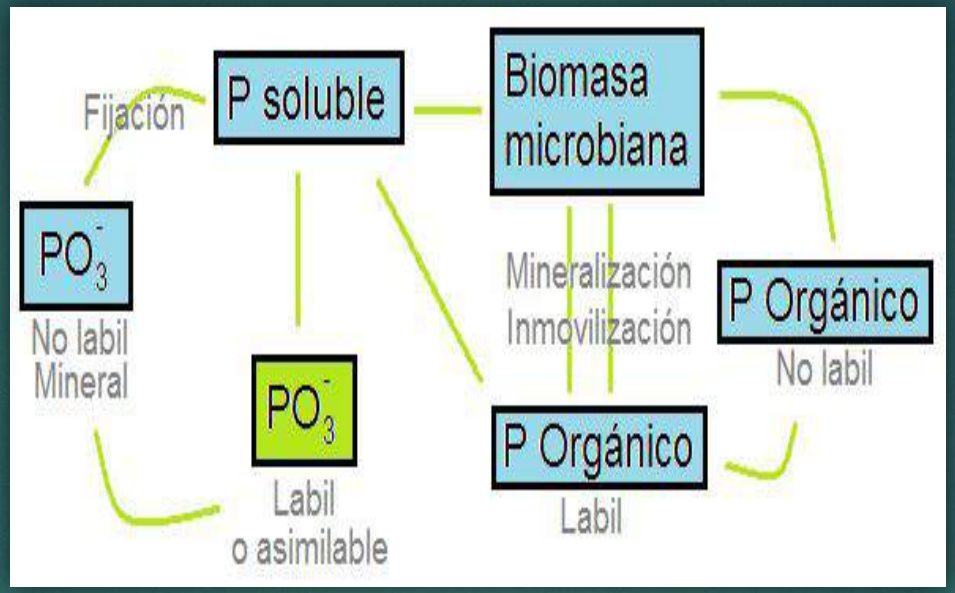
• Considerado móvil

Controla la dinámica del carbono orgánico total del suelo (COT)

Efecto acidificante en suelos

Fósforo (P)

FMA



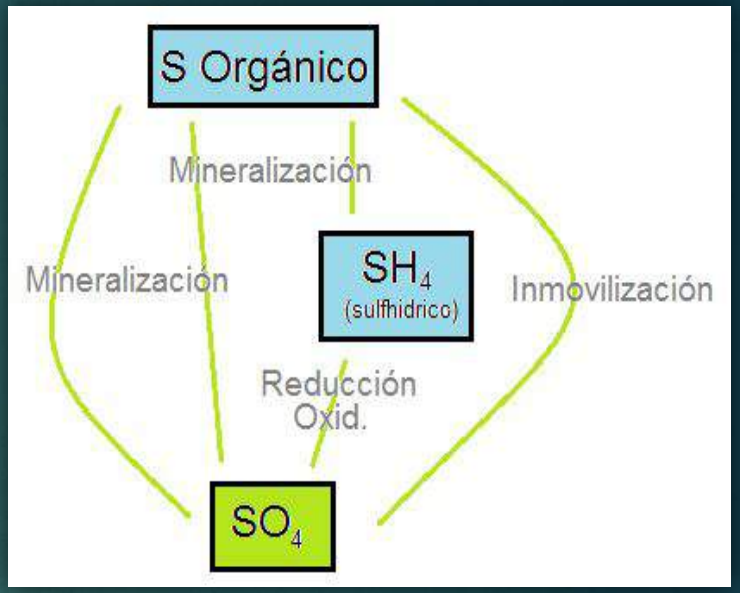
• Nutriente muy poco móvil

Efecto residual

Relacionado con incrementos de biomasa aérea

Azufre (S)

Azufertil (19%)



• Nutriente con cierto grado de movilidad en suelo

Poco efecto residual

Aumenta la cantidad de residuos de cultivos devueltos al suelo

MICROORGANISMOS

Materia orgánica (MO)

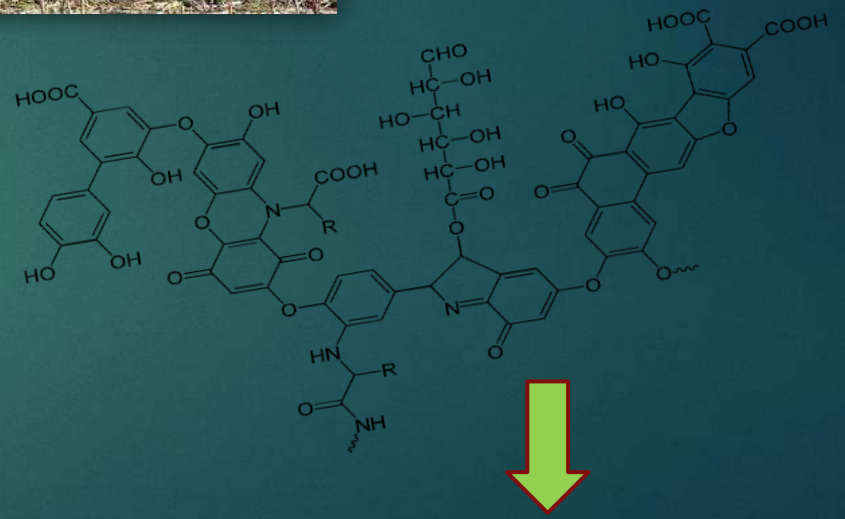
Carbono orgánico total (COT)

- Está constituida por sustancias carbonadas orgánicas
- Recurso esencial de macronutrientes tales como N, P y S

Mantenimiento de la productividad agrícola

La calidad y sustentabilidad ambiental

Contribuye al crecimiento de las plantas



INDICADOR SENSIBLE DE LA DEGRADACIÓN DEL SUELO

MICROORGANISMOS

Objetivo

Estudiar la estructura y función de las comunidades microbianas de suelo desde distintos enfoques (químico, bioquímico y molecular) para establecer el impacto de la aplicación a largo plazo de diferentes combinaciones de fertilizantes minerales en suelos productivos de Argentina.

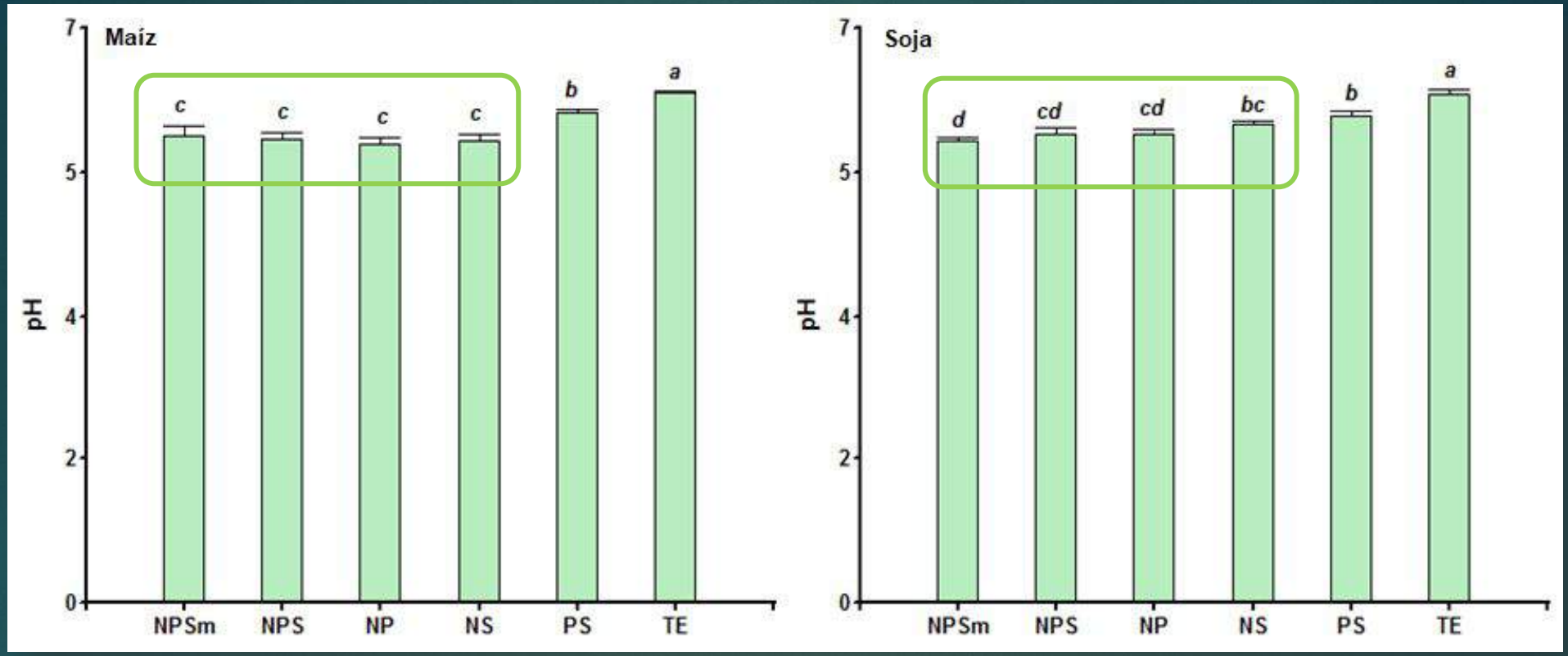
Objetivos específicos

- **La calidad química**
- La actividad y diversidad funcional de las comunidades microbianas
- El perfil estructural de las comunidades microbianas
- La abundancia y diversidad genética de las comunidades microbianas

Establecer cuáles propiedades edáficas resultan más influyentes

Resultados

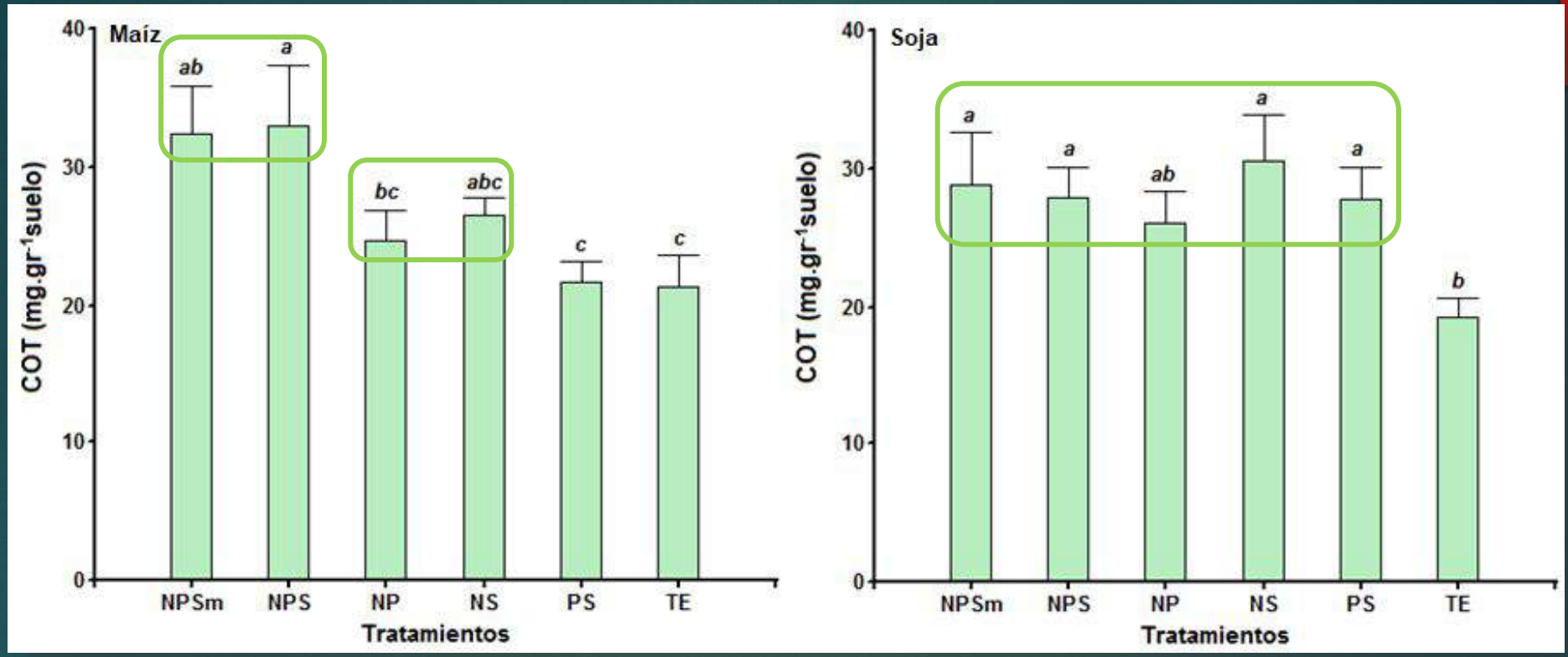
pH



La aplicación continua en el tiempo de fertilizantes nitrogenados produjo una leve pero significativa acidificación del suelo

- Residuos ácidos o experimentar reacciones que producen la liberación de protones (H^+) en el suelo

CO
T



La aplicación continua en el tiempo de fertilizantes causó incrementos del COT del suelo

- La fertilización (N principalmente) promueve incrementos de biomasa aérea y radical → Restitución de residuos orgánicos al suelo

- Incrementos de la MO están directamente asociada con la dosis y número de nutrientes incorporados

Nutrientes disponibles

La aplicación continua de fertilizantes produjo incrementos en el suelo

Nitratos Marcada influencia de la SD

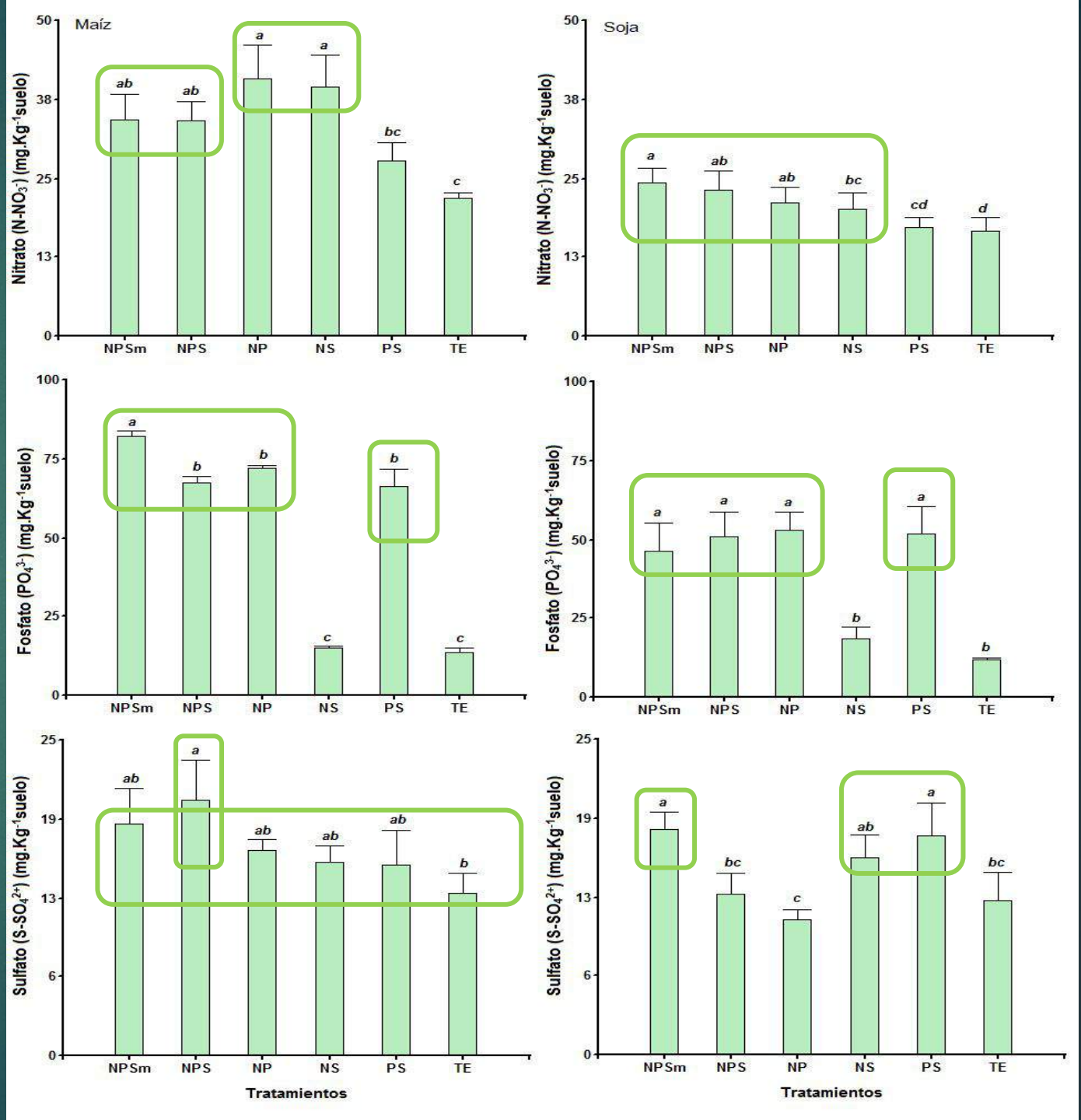
Evita la exposición de las formas orgánicas de N a procesos de oxidación

Menos expuesto a pérdidas por lavado o desnitrificación

Fosfatos Acumulación residual de fosfatos en los tratamientos fertilizados con P

Sulfatos Regiones templadas y con bajo pH el sulfato es propenso a ser lixiviado

S aportado por los fertilizantes genera enlaces S-C



Objetivo

Estudiar la estructura y función de las comunidades microbianas de suelo desde distintos enfoques (químico, bioquímico y molecular) para establecer el impacto de la aplicación a largo plazo de diferentes combinaciones de fertilizantes minerales en suelos productivos de Argentina.

Objetivos específicos

- La calidad química
- **La actividad y diversidad funcional de las comunidades microbianas**
- El perfil estructural de las comunidades microbianas
- La abundancia y diversidad genética de las comunidades microbianas

Establecer cuáles propiedades edáficas resultan más influyentes

Actividad Metabólica/Funcional

Síntesis y liberación de enzimas
Productos derivados del metabolismo microbiano

MICROORGANISMOS

Suministra información sobre la capacidad del suelo para llevar a cabo reacciones específicas

- ✔ Descomposición de la MO
- ✔ Reciclado de material vegetal
- ✔ Ciclado de nutrientes
- ✔ Movilización e inmovilización de minerales
- ✔ Mejora en la aireación del suelo
- ✔ Inhibición de patógenos

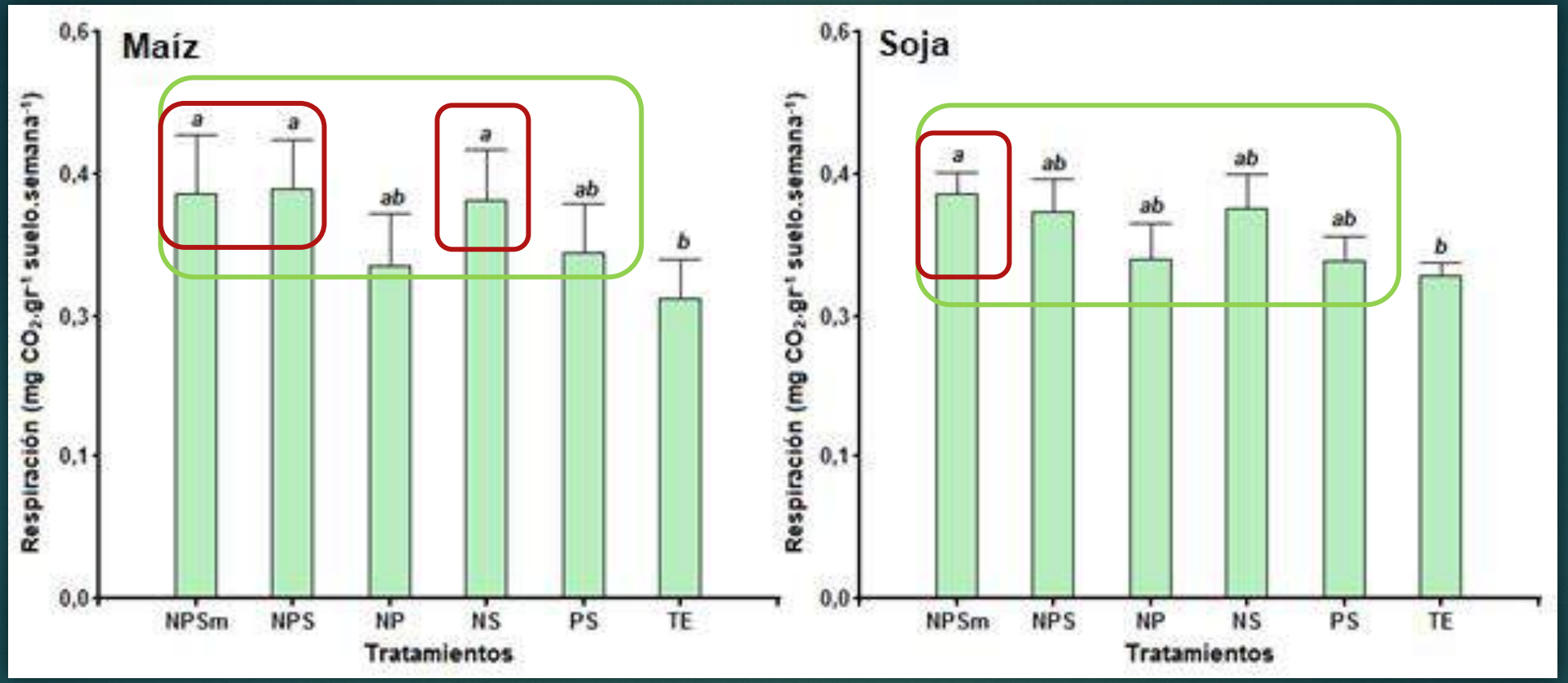
Utilizada como herramienta para monitorear cambios en la matriz edáfica

INDICADOR SENSIBLE DE LA CALIDAD DEL SUELO

Resultados

Respiración microbiana

- Parámetro más usados para cuantificar la actividad metabólica → **Indicador de calidad edáfica**



La aplicación de fertilizantes produjo incrementos en la respiración microbiana del suelo, con énfasis en los triple fertilizados.

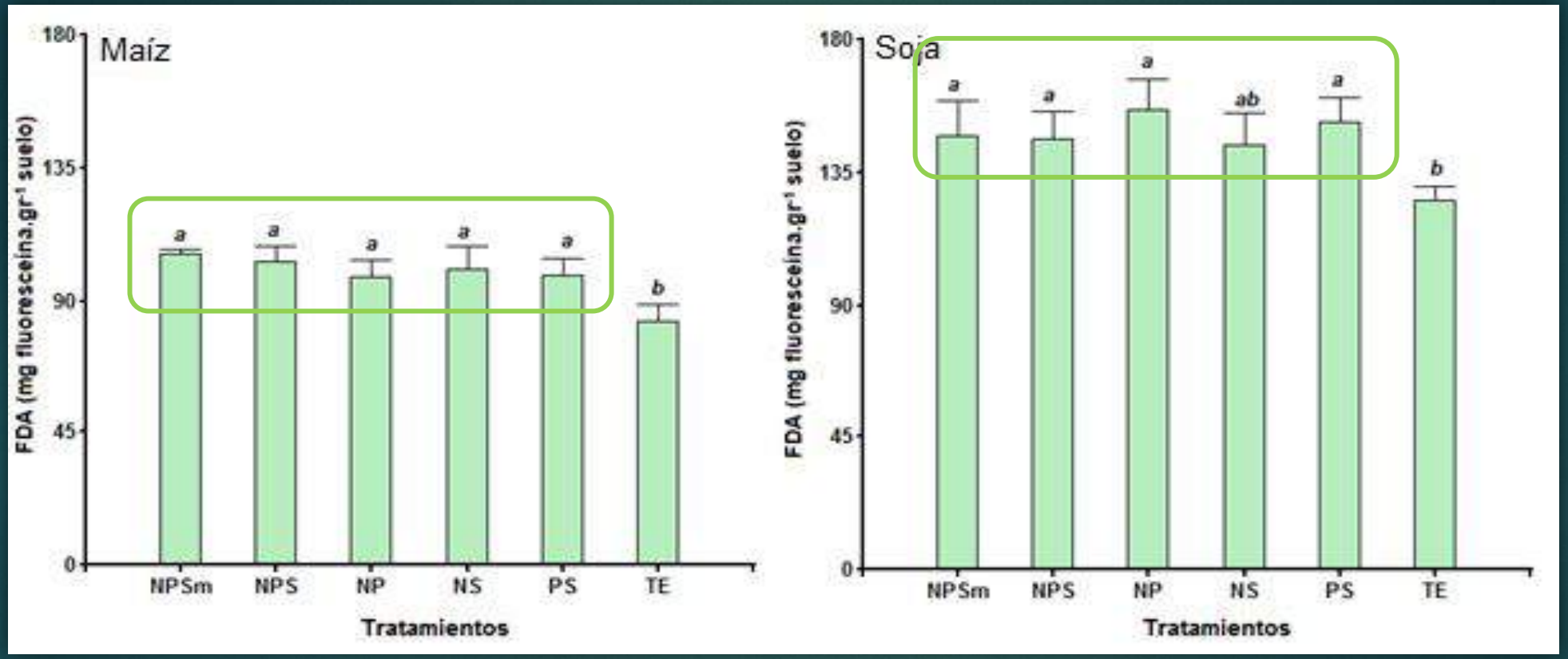
- Incorporación de fertilizantes y su consecuente incremento en el COT

Actividad FDA

Exoenzimas y enzimas unidas a membrana

Involucradas en la descomposición microbiana de la MO

Indicador de calidad edáfica

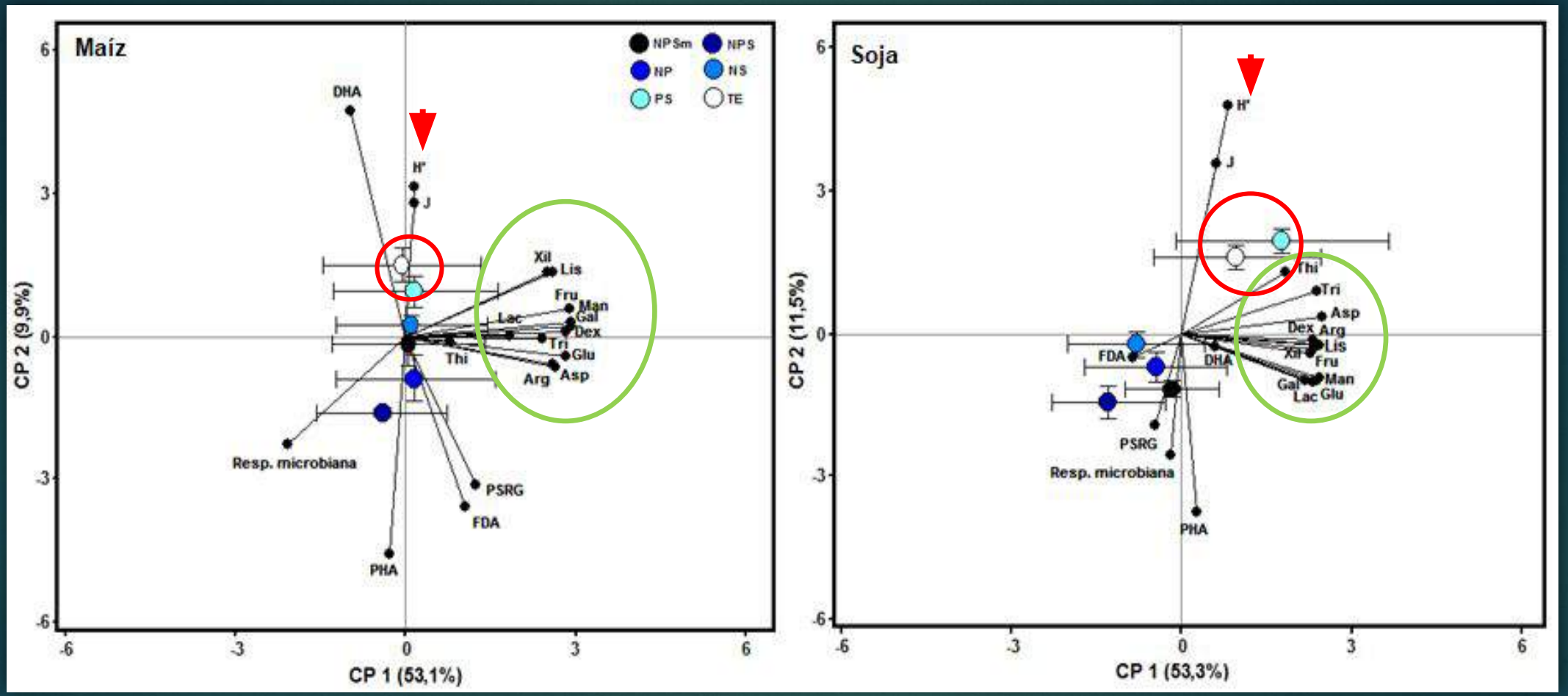


La aplicación de fertilizantes produjo incrementos en la actividad FDA

- En respuesta al aumento del contenido de COT y nutrientes disponibles del suelo

Análisis de integración con foco en diversidad catabólica

Estima la diversidad funcional de descomposición realizadas por microorganismos heterotróficos



- Relación positiva entre el TE con H´ → Mayor variabilidad en el consumo de diferentes fuentes de C
- Relación positiva entre las variables de actividad metabólica/enzimática con los tratamientos nitrogenados

Objetivo

Estudiar la estructura y función de las comunidades microbianas de suelo desde distintos enfoques (químico, bioquímico y molecular) para establecer el impacto de la aplicación a largo plazo de diferentes combinaciones de fertilizantes minerales en suelos productivos de Argentina.

Objetivos específicos

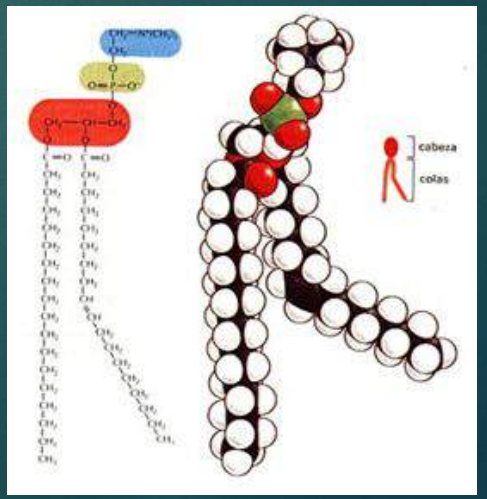
- La calidad química
- La actividad y diversidad funcional de las comunidades microbianas
- **El perfil estructural de las comunidades microbianas**
- La abundancia y diversidad genética de las comunidades microbianas

Establecer cuáles propiedades edáficas resultan más influyentes

Estructura de comunidades microbianas

Perfiles de fosfolípidos de ácidos grasos (PLFA)

- Permite la identificación y cuantificación de ésteres metílicos
- Provee información de las comunidades microbianas a nivel fenotípico y de biomasa microbiana total



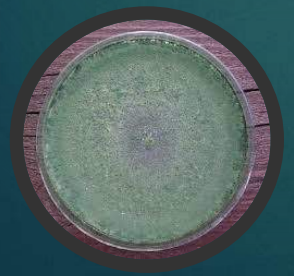
Cultivo en placa

Un número limitado de microorganismos pueden ser cultivados (1%)

Biocontroladores ecológicamente relevantes

- Propiedades de biopesticidas
- Propiedades como biofertilizantes
- Promotores de crecimiento de plantas

Trichoderma sp.

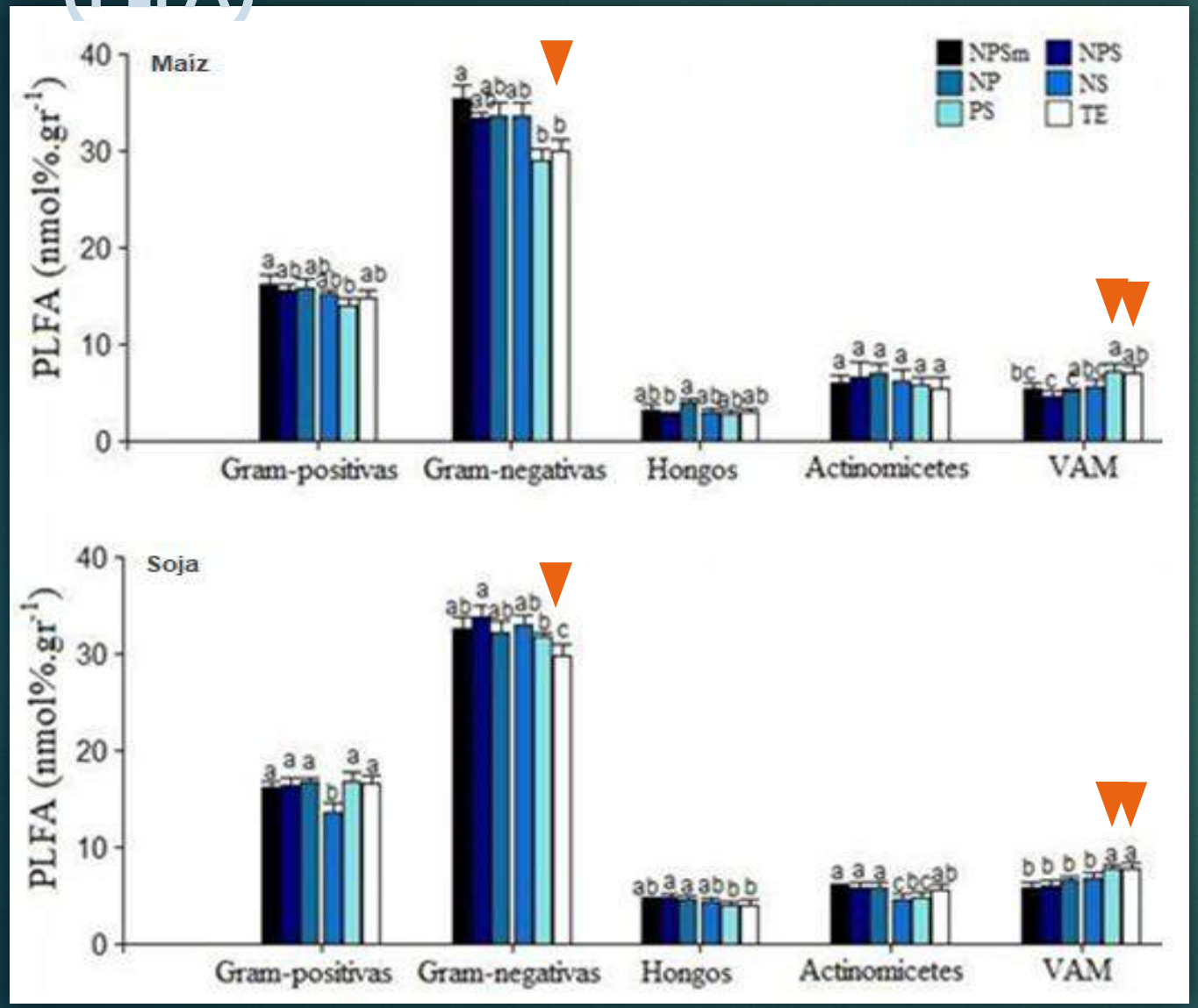


Gliocladium sp.

Actinomicetes

Resultados

Perfiles de fosfolípidos de ácidos grasos (PLFA)



Biomasa de grupos taxonómicos

- Incremento de bacterias Gram-negativas en los tratamientos fertilizados

Relacionado a las sustancias orgánicas disponibles del suelo

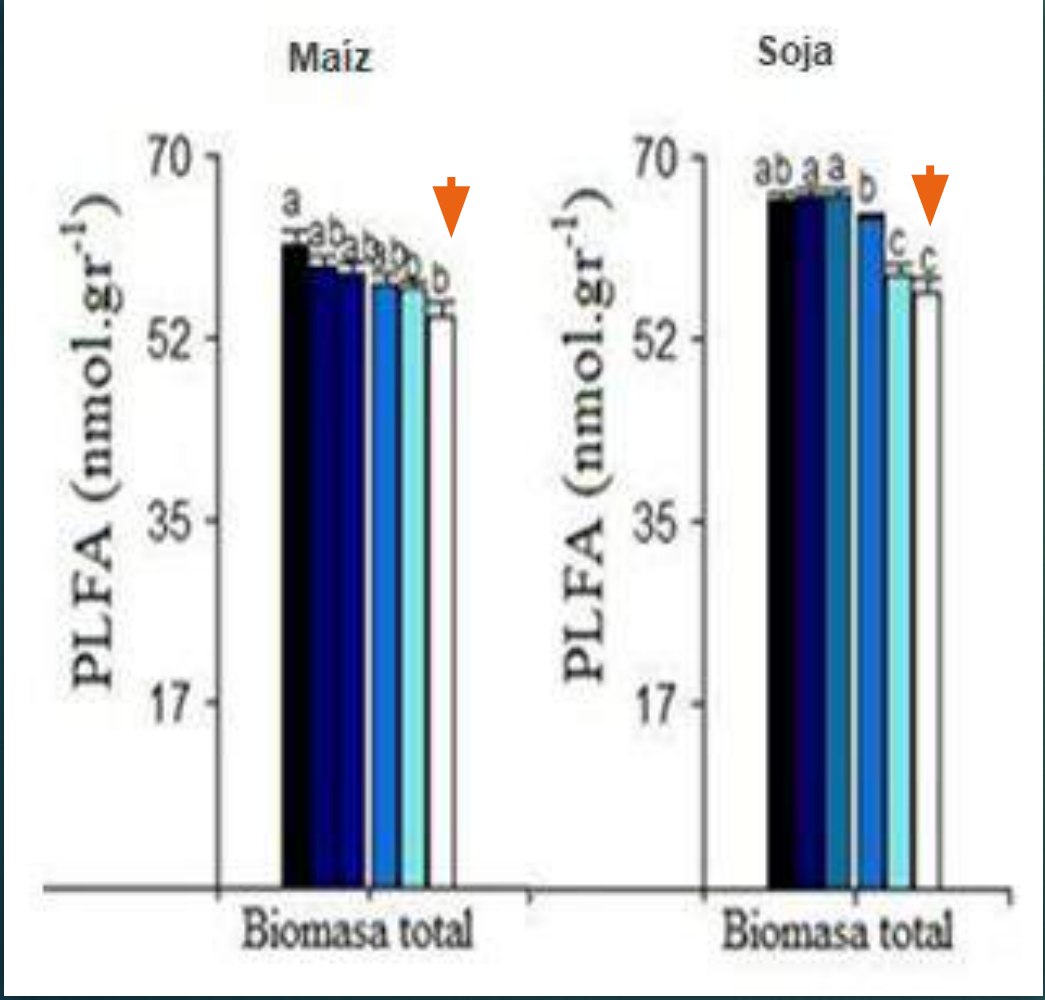
- Incremento significativo de la biomasa de las VAM en TE y PS

El PLFA 16:1ω5c disminuye con la disminución del pH del suelo

- **La composición de la comunidad microbiana estuvo dominada por bacterias**

Perfiles de fosfolípidos de ácidos grasos (PLFA)

Biomasa total



Todos los tratamientos fertilizados con N incrementaron la biomasa microbiana total

Mayor disponibilidad de sustratos orgánicos, producto de un incremento de biomasa vegetal y del COT

Objetivo

Estudiar la estructura y función de las comunidades microbianas de suelo desde distintos enfoques (químico, bioquímico y molecular) para establecer el impacto de la aplicación a largo plazo de diferentes combinaciones de fertilizantes minerales en suelos productivos de Argentina.

Objetivos específicos

- La calidad química
- La actividad y diversidad funcional de las comunidades microbianas
- El perfil estructural de las comunidades microbianas
- **La abundancia y diversidad genética de las comunidades microbianas**

Establecer cuáles propiedades edáficas resultan más influyentes

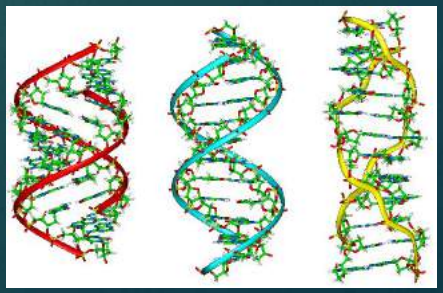
Abundancia y diversidad genética

METAGENÓMICA

Conjunto de todos los genomas de microorganismos en un hábitat determinado

La variabilidad genética entre las comunidades presentes en el ecosistema edáfico

El estudio del polimorfismo de segmentos de ADN o ARN



"HUELLAS DIGITALES"

ARN ribosomal

- 16 S
- 18 S

- ✔ **Polimorfismo de fragmentos largos de restricción terminal (T-RFLP)**
- ✔ **Cuantificación por qPCR**

Resultados

Análisis T-RFLP

Índices de diversidad Bacterias

Tratamientos	Maíz					
	Diversidad (H´)	Uniformidad (J)	Riqueza (Chao)	Diversidad (H´)	Uniformidad (J)	Riqueza (Chao)
NPS	4,54 c	0,908 a	4465 e	4,69 c	0,908 a	
	4,57 bc	0,907 a	4753 e	4,75 c	0,908 a	
NP	4,87 a	0,908 a	8515 b	5,03 a	0,908 a	
NS	4,64 b	0,908 a	5460 d	4,93 b	0,909 a	
PS	4,70 b	0,908 a	6105 c	5,02 a	0,908 a	
TE	4,92 a	0,909 a	9453 a	4,96 a	0,908 a	

Pérdida de diversidad y riqueza bacteriana en los tratamientos fertilizados con N en relación al TE y a PS.

Análisis T-RFLP Índices de diversidad Hongos

Tratamiento	Maíz Diversidad (H´)	Maíz Uniformidad (J)	Maíz Riqueza (Chao)	Soja Diversidad (H´)	Soja Uniformidad (J)	Soja Riqueza (Chao)
NPK	3.61 c	0.905 a	703 d	4.23 b	0.907 a	24
NS	3.76 b	0.907 a	946 c	4.23 b	0.908 a	241
NP	3.89 a	0.907 a	1225 b	4.62 a	0.907 a	61
PS	3.78 b	0.906 a	990 c	4.55 a	0.908 a	45
N	3.99 a	0.907 a	1485 a	4.55 a	0.908 a	
T	3.91 a	0.906 a	1275 b	4.28 b	0.908 a	628 c

Pérdida de diversidad y riqueza fúngica en los tratamientos triple fertilizados.

Objetivo

Estudiar la estructura y función de las comunidades microbianas de suelo desde distintos enfoques (químico, bioquímico y molecular) para establecer el impacto de la aplicación a largo plazo de diferentes combinaciones de fertilizantes minerales en suelos productivos de Argentina.

Objetivos específicos

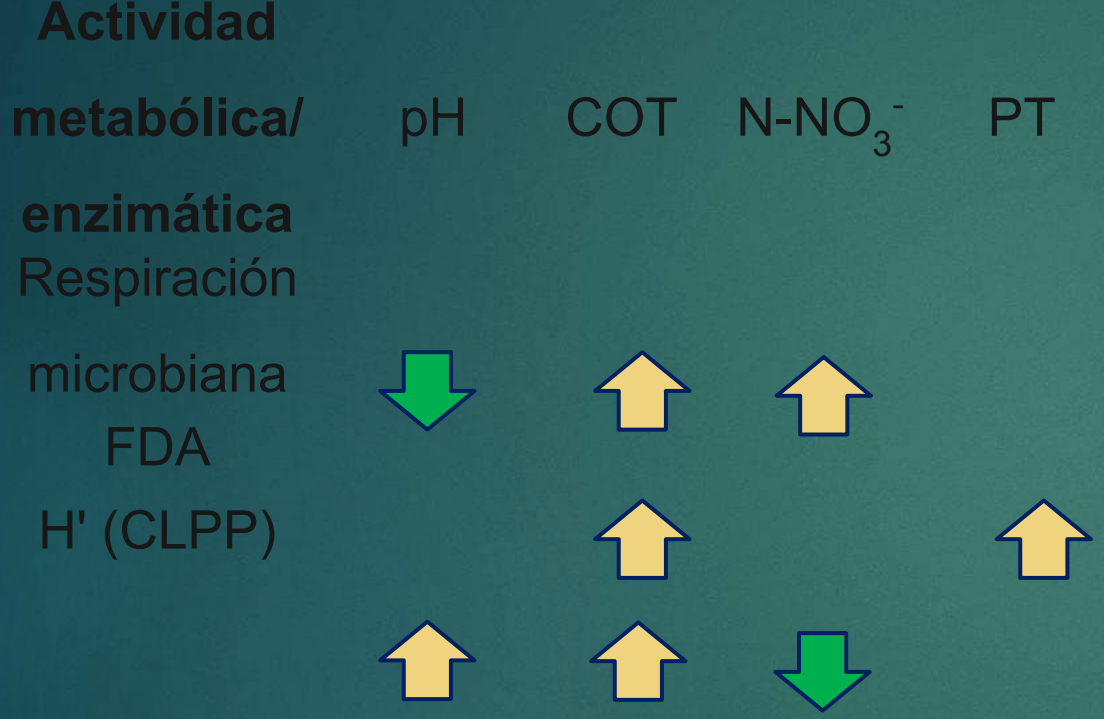
- La calidad química
- La actividad y diversidad funcional de las comunidades microbianas
- El perfil estructural de las comunidades microbianas
- La abundancia y diversidad genética de las comunidades microbianas

Establecer cuáles propiedades edáficas resultan más influyentes

Resultados

Correlaciones altamente significativas entre variables químicas y variables microbianas

Sistema integral maíz/soja



- **COT y Respiración microbiana**

la fertilización con N puede aumentar las tasas de descomposición y la respiración

Estimulación particularmente de descomponedores

- **COT y FDA**

el C orgánico proporciona un mejor ambiente para estabilizar y proteger las enzimas extracelulares

COT y diversidad catabólica

altos niveles de COT pudieron incrementar la diversidad en el consumo de sustrato -> COT elevados → limita el consumo de C específico

Nitratos, PH y diversidad catabólica

consecuencia de la disminución del pH o del incremento del COT.

Correlaciones altamente significativas entre variables químicas y variables microbianas

Sistema integral maíz/soja

Perfil estructural	pH	COT	$N\text{-}NO_3^-$
Gram-negativa	↓	↑	↑
VAM	↓		
BIO (PLFA total)			↑

- Correlación positiva entre el COT y la mayoría de los taxones microbianos
- Correlación positiva entre el nitratos y la biomasa total
- Correlación negativa entre el ph y biomasa total

- La composición de la comunidad provocadas por la fertilización estuvieron más ligadas a la disponibilidad de C y N

Correlaciones altamente significativas entre variables químicas y variables microbianas

Sistema integral maíz/soja

Abundancia y diversidad genética	pH	COT	$N\text{-}NO_3^-$	PT	ST
Diversidad H'					
Riqueza Chao	↑		↓	↑	↓
			↓	↑	↓

- PH mas ácidos en suelo pueden ocasionar pérdidas de biodiversidad microbiana

- **El nitrato, en directa relación con el pH, influyó negativamente en las comunidades bacterianas.** → Altos contenidos de nitratos y ST en suelo pueden ocasionar pérdidas de biodiversidad microbiana

Objetivo

Estudiar la estructura y función de las comunidades microbianas de suelo desde distintos enfoques (químico, bioquímico y molecular) para establecer el impacto de la aplicación a largo plazo de diferentes combinaciones de fertilizantes minerales en suelos productivos de Argentina.

Conclusiones

- Las mayores diferencias en el conjunto de variables analizadas fueron observadas entre los tratamientos triple fertilizados y el TE.

- El COT, el pH y el contenido de nitratos fueron las propiedades más determinantes en el direccionamiento de la composición, función y diversidad de las comunidades microbianas.

Conclusiones Finales

- En general, el cultivo presentó poca influencia sobre los parámetros microbianos analizados. Probablemente, el sistema de rotación sostenido en el tiempo logró una estabilidad de las comunidades microbianas, independientes del cultivo en cada fase de la rotación. Se deberían analizar sistemas bajo otros manejos y determinar las comunidades microbianas asociadas a cada cultivo

- Teniendo en cuenta los resultados podríamos afirmar que lo suelos bajo fertilización, principalmente los triple fertilizados, presentan mayor biomasa microbiana pero menor diversidad catabólica y genética suelos altamente especializados.

- A futuro, análisis de secuenciación masiva permitirían establecer cuan especializadas están las comunidades microbianas presentes en cada tratamiento y establecer cuales grupos microbianos fueron perjudicados por la fertilización

Muchas Gracias!!

rverdenelli@gmail.com