

TECNICAS APLICADAS AL ESTUDIO DE LA DIVERSIDAD MICROBIANA DEL SUELO

Inés E. García de Salamone¹

¹ Universidad de Buenos Aires, Argentina. Facultad de Agronomía. Correo electrónico: igarcia@agro.uba.ar

INTRODUCCION

Es sabido que los sistemas de manejo de los cultivos modifican la estructura y biodiversidad de las comunidades microbianas del suelo. El aumento sostenido de la concentración de carbono orgánico (COS) es necesario para establecer un sistema de manejo de suelos que disminuya la degradación de la materia orgánica del suelo (MOS) y consecuentemente de su calidad. A pesar de ser subestimada en la agricultura tradicional, la descomposición del ciclo del C, gobierna diversos procesos agronómicos que ocurren en el suelo y se manifiestan sobre él afectando su productividad (Scow, 1997). Los microorganismos del suelo controlan la mineralización del C y consecuentemente regulan la recirculación de nutrientes en el suelo. Los cultivos conforman la base de la pirámide trófica, pues representan la fuente de energía y nutrientes disponibles para los microorganismos heterótrofos que mayoritariamente descomponen los residuos aportados. Esto, además de ser una fuente de nutrientes para las plantas puede actuar como destino del N disponible por la formación de biomasa microbiana (Andrén et al., 1993). Es sabido que la calidad de los residuos definida por la relación C/N es determinante de su tasa de descomposición. La comprensión del impacto de las interacciones de los cultivos dentro de una rotación con la degradación de C y la mineralización del N y P que ocurren en el suelo es una meta relevante de la investigación ecológica y agronómica (Rorig et al., 2004; Triplett y Dick, 2008). Los cambios en la tasa de circulación del C y de los nutrientes minerales en el suelo como consecuencia de las interacciones entre las plantas y otros organismos, aparentemente, involucrarían modificaciones en la estructura y el funcionamiento de las comunidades bióticas del suelo (Rorig et al., 2004; García de Salamone et al., 2006; Grandy et al., 2006). En un agroecosistema, la pronta respuesta de los procesos microbianos y estructura de las comunidades a alteraciones físicas, químicas y biológicas constituyen un aspecto de la calidad del suelo. Los cambios en la estructura de las comunidades microbianas en sistemas perturbados generalmente están asociados a emisiones de gases con efecto invernadero (CO₂, NO o N₂O) y pérdida del N por lixiviación (Jackson et al., 2003).

Dominancia numérica y diversidad de microorganismos del suelo

En la **Tabla 1** se ve representada la superioridad numérica que presentan los microorganismos del suelo en diversos ecosistemas terrestres. La estimación de los valores es en si misma una subestimación dado que los muestreos en varios casos no abarcaron toda la profundidad del perfil de suelo si no que las muestras fueron extraídas en promedio del primer metro de profundidad y se utilizaron metodologías que contemplan los microorganismos cultivables. Se sabe que estos en sus mejores estimaciones abarcan menos del 14% de la comunidad microbiana presente en una muestra de suelo. A pesar de estas consideraciones, la estimación de aproximadamente 10^{30} células microbianas para los suelos de toda la tierra representa valores elevados si se los compara con los órdenes de magnitud de otros organismos vivos como los humanos (10^9), termitas (10^{17}) o número de células humanas en el planeta (10^{22}) o con magnitudes del planeta como: volumen de los océanos (m³) (10^{18}) y Masa de la Tierra (g) (10^{27}) o con magnitudes del universo: Distancia media del Sol a la Tierra (m) (10^{11}) y Radio del universo (m) (10^{26}). En base a estos datos se podría denominar a la comunidad microbiana del suelo como “la mayoría invisible”.

Tabla 1. Números de microorganismos en el suelo de ecosistemas diversos.

Tipo de Ecosistema	Área x 10 ¹² m ²	Número de Células x 10 ²⁷
Selva tropical lluviosa	17.0	1.0
Selva tropical estacional	7.5	0.5
Selva templada de Coníferas	5.0	0.3
Selva templada Caducifolia	7.0	0.4
Selva Boreal	12.0	0.6
Bosque y Matorral	8.0	28.1
Sabana	15.0	52.7
Pradera templada	9.0	31.6
Desierto arbustivo	18.0	63.2
Tierra cultivada	14.0	49.1
Tundra y Cordillera	8.0	20.8
Pantanos	2.0	7.3
Total	123.0	255.6

Adaptado de Whitman et al., (1998). Proc. Natl. Acad. Sci. 95. (6578-6583)

Sin embargo, la significancia ecológica es muy marcada dado que también en términos de reservorio de macronutrientes, los microorganismos edáficos contienen 350-550 Pg de C : 85-130 Pg de N y 9-14 Pg de P mientras las plantas sólo 560 Pg de C, 10 Pg de N y 1 Pg de P, respectivamente.

El análisis de los ciclos biogeoquímicos (Schlesinger 1991) indica que el ciclo del C global es conducido por fijación del CO₂ en la fotosíntesis de las plantas pero el compartimento edáfico es más relevante que el atmosférico debido a la intensidad de flujos, cantidades y cambios producidos. Respecto al ciclo del N global es conducido completamente por reacciones microbianas (Paul, Clark 1996).

El compartimento más grande es inerte y está representado por el N₂ atmosférico (3.9 x 10²¹ g o 78% de la composición de gases). Los procesos microbianos dominan el intercambio entre atmósfera y tierra/mar de este elemento. La diversidad microbiana vinculada a cada uno de los procesos involucrados es claramente evidente. El balance entre fijación biológica de N y desnitrificación regula las entradas y salidas del N al sistema y la nitrificación representa el único proceso de conversión de amonio en nitrato y es llevado a cabo en su mayoría por bacterias autótrofas con requerimientos de aireación y pH bastante ajustados.

En síntesis, los microorganismos edáficos constituyen un enorme reservorio de diversidad genética, un significativo reservorio de nutrientes y un catalizador primario de las transformaciones de nutrientes.

En la **Figura 1** se puede observar el conjunto de factores que modifican la diversidad genética y fisiológica de las comunidades microbianas edáficas.

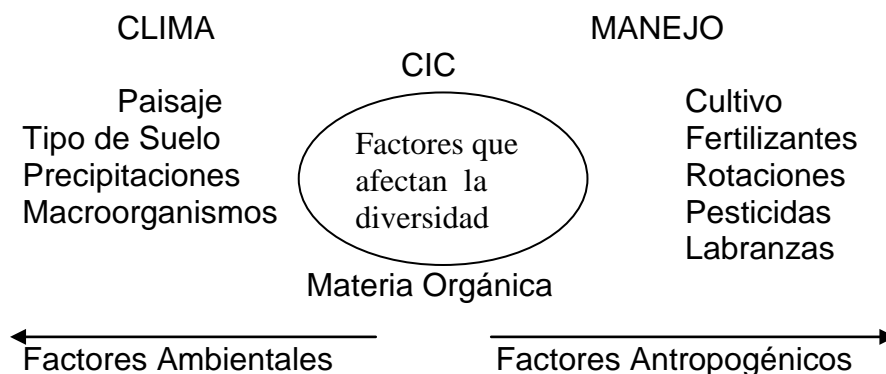


Figura 1. Esquema de los factores ambientales y antropogénicos que afectan la diversidad en los agroecosistemas. (Maddoni, Vilariño, García de Salamone 2004).

Varias estimaciones del número total de especies bacterianas (**Tabla 2**) indican que están son muy variables y las técnicas utilizadas son la fuente de esa variabilidad. Un análisis simplista que parecería indicar que si hay entre 1000 y 10000 especies por gramo de suelo no sería necesario preocuparse por perder cierta cantidad de funciones críticas. Sin embargo aún si se acepta que una parte importante de la redundancia funcional existe en la mayoría de las comunidades microbianas (Naeem *et al.* 1995). En este sentido se debe tener en cuenta que: i. La ocurrencia de ciertos procesos microbianos está limitada a ambientes muy particulares. Por ejemplo: fijadores de nitrógeno arbóreos en una selva tropical y ii. Las interacciones entre diversidad e invasión en un habitat nuevo. Por ejemplo la microflora nativa y un patógeno o un agente de biocontrol introducido en una raíz en desarrollo.

Por otro lado, se pueden establecer categorías de microorganismos en base a su sensibilidad a los cambios en la diversidad (**Tabla 3**). Para un mismo ciclo biogeoquímico se pueden encontrar grupos de microorganismos con distinto grado de sensibilidad. Tal es así que los microorganismos nitrificadores y fijadores de N₂ atmosférico están ubicados en las categorías de alta y baja sensibilidad, respectivamente.

Tabla 2. Varias estimaciones del número total de especies bacterianas.

Fuente	Metodología considerada	Valores estimados
Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Vol. 2)	Phenotypic Numerical Taxonomy	~3100 spp.
Vitek Database (Biomerieux)	Phenotypic Numerical Taxonomy	~1000 spp.
Torsvik et al. 1990 Torsvik et al. 2002	Hibridación DNA:DNA	~4000-10,000 spp per gram of soil

Funcionalidad y diversidad microbiana

Los problemas vinculados al estudio de la funcionalidad y diversidad microbiana están vinculados a dos aspectos principales que son característicos de las comunidades microbianas edáficas. El primero es la "Hiperdensidad" pues dado que se pueden encontrar entre 10⁷ y 10⁹ células por gramo de suelo es imposible obtener un catálogo completo de todos los tipos presentes. El segundo inconveniente es la "Hiperdiversidad". La posibilidad que haya 10⁴ tipos microbianos por gramo de suelo da la pauta que

no existe ningún método que pueda abarcarlos a todos. Por otro lado, la existencia de tipos microbianos de baja densidad complica la posibilidad de estudiarlos por métodos tradicionales de cultivo. En este sentido el planteo frecuente está vinculado a como se pueden realizar experimentos manipulativos para estudiar diversidad microbiana cuando solamente podemos cultivar un pequeño porcentaje de los microorganismos presentes en una muestra. Esto es porque cuando intentamos cultivar microorganismos a partir de una muestra de suelo, aun cuando se utilicen varios medios de cultivo y condiciones fisicoquímicas de incubación, la cantidad de microorganismos que logramos contar es solamente lo que se denomina “la minoría cultivable”. Sin embargo, la evaluación de un subgrupo microbiano debería ser suficiente para detectar cambios en la dinámica total de la comunidad, siempre y cuando haya interacciones entre el subgrupo medido y los otros miembros que integran la misma.

Tabla 3. Grupos de sensibilidad a la pérdida de organismos o sus funciones en orden decreciente (Anderson 2003).

Grado de sensibilidad	Organismos o Funciones
Alta	Nitrificadores Nitrificación Actinomicetes Descomposición de la materia orgánica <i>Rhizobium</i>
Media	Bacterias Producción de CO ₂ Hongos Desnitrificación Amonificación
Baja	Fijación de N ₂ <i>Azotobacter</i> Amonificadores Degradadores de proteínas

Técnicas para evaluar diversidad microbiana a nivel de comunidades

Las técnicas microbiológicas para el estudio de la diversidad se pueden clasificar en aquellas que permiten analizar la diversidad fisiológica y aquellas que abordan la diversidad estructural. En este último caso es necesario aplicar técnicas moleculares y la información obtenida está basada en comparaciones con patrones o biblioteca de genes. En el primer caso, la mayoría de los trabajos, en vez de analizar comunidades como matrices de abundancia de especies como se hace en Ecología se analizan los perfiles funcionales basados en el uso de sustratos o perfiles estructurales basados en abundancia de biomarcadores tales como: ácidos nucleicos y lípidos de membrana. El análisis de los perfiles fisiológicos de comunidades microbianas puede lograrse a través de una evaluación rápida de múltiples propiedades fisiológicas tales como el uso de fuentes de carbono (FC) basado en distintas herramientas tales como: i. La reducción de un colorante redox o la medición del cambio de absorbancia en celdas de microplaca luego de un periodo corto de incubación (Garland, Mills 1991; Di Salvo, García de Salamone 2008); ii. El consumo de O₂ sobre un fluorómetro sensible en la celda de la microplaca y iii. La producción de CO₂ en el espacio gaseoso en la parte superior de cada celda (respiración inducida por múltiples FC). Los análisis de ácidos grasos en unión ester con fosfolípidos se pueden basar en: i. La detección de la presencia de lípidos asociados con células viables (procariotas y eucariotas); ii. Su rápida transformación de lípidos polares a lípidos neutros (diglicéridos) y iii. Ensayos de viabilidad celular basados en la integridad de las membranas. Esta información puede ser usada para evaluar la totalidad de biomasa de células viables aunque no se

hacen recuentos sino conversiones de datos. Por otra parte dado que ciertos lípidos son específicos, estos pueden ser usados como biomarcadores para detectar tanto el estado fisiológico como la composición de la comunidad microbiana presente en la muestra.

Los recuentos de microorganismos viables y cultivables de distintos grupos taxonómicos y funcionales pueden brindar mucha información sobre la dinámica de las comunidades microbianas a lo largo de una rotación o un ciclo de un cultivo.

Con relación al impacto de los cereales sobre la estructura y funcionamiento de las comunidades microbianas la labor científica de este grupo de investigación se centró en hallar variables relacionadas con la actividad de los microorganismos del suelo que indiquen la influencia de la rotación de cultivos en diferentes suelos de la Región Pampeana, Argentina manejados bajo siembra directa. En este sentido, se encontró que la cantidad de hongos y actinomicetes en el suelo son indicadores biológicos que permiten detectar variaciones estacionales en la secuencia trigo/soja en dos localidades Ramírez (Entre Ríos) y Bengolea (Córdoba) (Rorig et al., 2004; García de Salamone et al., 2006). Los datos para el género bacteriano *Pseudomonas* muestran una significativa variación que indica versatilidad, pues incluye exponentes que son detoxificadores del ambiente, promotores de crecimiento vegetal y controladores biológicos de otros microorganismos (García de Salamone et al., 2005). Consecuentemente, el N potencialmente mineralizable también muestra variaciones estacionales en la secuencia trigo/soja en suelos Argiudoles típicos (Zubillaga et al., 2007). Asimismo, se podría considerar que estas oscilaciones se relacionan con variaciones de las cadenas tróficas de los microorganismos y microfauna de los suelos. La cantidad de microorganismos nitrificadores y la disponibilidad química de nitratos mostraron diferencias significativas entre momentos de muestreo del ciclo del cultivo de trigo pero no entre ambientes productivos dentro de un lote de producción (D'Auria et al., 2010). La nitrificación potencial no varió entre ambientes ni momentos de muestreo indicando que las condiciones imperantes en el lote determinan la actividad de los nitrificadores. El análisis de regresión entre estas dos variables indicó que la cantidad de los microorganismos oxidantes del amonio a nitrato aumenta hacia floración mientras los nitratos se reducen entre los momentos de encañazón y floración del canopeo de trigo.

Con respecto a la mineralización del C y N, las comunidades de celulolíticos y nitrificadores varían con las condiciones impuestas por los cultivos de la rotación (Rorig et al., 2004). Estos autores observaron que para dos situaciones edafoclimáticas, el cultivo de trigo favorece la actividad de estos grupos funcionales de microorganismos en contraposición a la soja que los reduce. Además, las cantidades de nitrificadores son significativamente aumentados por la presencia de las plantas y reducidos en ausencia de estas. El conjunto de variables microbiológicas medidas en distintos momentos de la secuencia trigo/soja muestran que las condiciones impuestas al suelo provocan cambios cuantificables en la microbiota edáfica. Aunque es sabido que estas técnicas de recuento cuantifican una proporción muy pequeña de las comunidades de microorganismos presentes, la detección de cambios en las comunidades de microorganismos cultivables permite aceptar que alteraciones en la funcionalidad de estas pueden ser estimadas (García de Salamone et al., 2006). Otro enfoque utilizado por el grupo de trabajo ha sido la obtención de los perfiles de utilización de fuentes carbonadas de las comunidades microbianas edáficas cuando varios niveles de compactación fueron aplicados al suelo simulando intensidades crecientes del uso de maquinaria (García de Salamone et al., 2004). Aplicando esta técnica fue posible establecer que la inoculación con bacterias promotoras del crecimiento vegetal también altera las comunidades microbianas rizosféricas en el cultivo trigo (Naiman et al., 2009) y arroz (García de Salamone et al., 2007).

Un número significativo de microorganismos del suelo están involucrados en la mineralización del P orgánico. Éste debe convertirse a P inorgánico para ser utilizado por las plantas. La mineralización de la mayoría del P orgánico es llevada a cabo por fosfatasa, siendo importantes los niveles de fosfatasa microbianas detectadas en suelos (García 1999). La fijación y precipitación del P en los suelos es un fenómeno altamente dependiente del pH y del tipo de suelo. Un importante mecanismo de solubilización de fosfatos minerales se realiza a través de la producción y liberación de ácidos

orgánicos sintetizados por microorganismos del suelo (Paul, Clark 1996). Esto provoca una acidificación del medio y liberación del P inorgánico. Existirían otras vías solubilizadoras de fosfatos minerales, como la producción de ácidos inorgánicos y sustancias quelantes, mientras que la capacidad de los microorganismos de solubilizar fosfatos minerales dependería de la fuente de nitrógeno y/o de carbono presentes en el medio. Relacionado con la utilización del P por las plantas es de suma importancia el estudio de las micorrizas arbusculares. Estas asociaciones simbióticas aumentan el área explorada por las raíces favoreciendo el mejor uso de los recursos disponibles (Ribeiro y Saggin-Junior 2004; Chiochio et al., 2002) y la agregación del suelo (Rillig et al., 2002). La magnitud de micorrización natural es considerada un índice de calidad de suelos que responde a prácticas de manejo (García de Salamone et al., 2006; Schalamuk et al., 2003) y es posible favorecerla con la aplicación de ciertos microorganismos. Los hongos formadores de micorrizas arbusculares son simbiontes obligados y forman asociaciones con alrededor del 80% de las especies vegetales. Se ha podido observar que en agroecosistemas con monocultivos, labranza convencional y altas aplicaciones tanto de fertilizantes solubles como de pesticidas el nivel de micorrización natural disminuye más del 50% en comparación con los respectivos sistemas sin perturbar (Sieverding, 1991). Así, es también fundamental considerar que el mantenimiento de la micorrización natural de cada cultivo en una situación edafoclimática determinada es sumamente relevante para la sustentabilidad (Schalamuk et al., 2006). En este sentido el grupo de trabajo realizó estudios de evaluación de micorrización en cultivos de soja en condiciones controladas con distintas dosis de pesticidas (Martinez et al., 1998; Venedekian et al., 1999; Menéndez et al., 1999; Chiochio et al., 2000). También se han realizado ensayos con maíz, trigo y soja (García de Salamone et al., 2006) que demuestran que la micorrización natural es altamente dependiente del manejo histórico y actual del suelo. Así tanto el cultivo antecesor como la fertilización fosforada ejercen efectos significativos sobre esta. Por lo expuesto, resulta relevante conocer la dinámica microbiana en los cultivos de cereales incluidos en la rotación (Studdert et al, 1997) y los efectos sobre esta de la introducción de microorganismos en el sistema suelo-planta para aportar un mejor entendimiento de estas interacciones que es sabido colaboran con la sustentabilidad de los agroecosistemas (Naiman et al., 2009).

BIBLIOGRAFIA

- Anderson T-H. 2003, Microbial eco-physiological indicators to assess soil quality. *Agriculture, Ecosystem and Environment* 98: 285-293.
- Andrén, O; Hansson, A ; Végh, C ; Barley, K. 1993. Nutrient up-take, root growth and depth distribution in two soil types in a rhizotron with vertical and horizontal minirhizotrons. *Swed. J. Agric. Res.*, v. 23, p. 115–126.
- Chiochio, VM.; Venedikian, N; Martinez, AE; Menéndez, AB; Ocampo, JA; Godeas, A. 2000. Effect of the fungicide benomyl on spore germination and hyphal length of the arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus mosseae*. *Revista International Microbiology*. Vol. 3, pp. 163 – 172.
- Chiochio, VM; Rodríguez, MA; Venedikian, N; Martinez, AE; Menéndez, AB; Scervino, JM; Godeas, A. 2002. Una relación con beneficios mutuos: Las raíces de las plantas y los hongos micorrízicos arbusculares. *Bol. Soc. Arg. Bot.* 37 (3-4): 265-275.
- D Auria, F; Escobar Ortega, J.; Lopez de Sabando, M; García de Salamone, I E.; Giorgini, D; Zubillaga, M M. 2010. Mineralización de nitrógeno y microorganismos asociados en un cultivo de trigo de Buenos Aires, Argentina. *Congreso Ecuatoriano de Suelos*.
- Di Salvo, LP; García de Salamone, IE. 2008. Estudios de comunidades microbianas mediante uso de fuentes carbonadas: comparación entre microplacas comerciales y preparadas en laboratorio. (139) XXI Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Potrero de Funes, San Luis. ISBN 978-987-21419-9-8.
- Doran, JW; Zeiss, MR. 2000. *Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil*

- quality. *Applied Soil Ecology* 15: 3-11.
- García, F. 1999. Aspectos principales de siembra directa y los cultivos de soja y maíz en Argentina. In: Conferencia Anual da Revista Plantio Direto. IV.21-32.
- García de Salamone, IE; Rorig, M; Bordato, F.; Michelena, R. 2004. Actividad microbiana luego de la aplicación de compactación sobre un suelo Haplustol éntico bajo siembra directa. En: XVI y XII Congresos latinoamericano y colombiano de la ciencia del suelo. Cartagena de Indias. Colombia. (pp.27/9-1/10).
- García de Salamone, IE; Bordato, F; Michelena, R. 2005. Indicadores microbianos de calidad de suelo luego de la aplicación de compactación sobre un suelo Haplustol éntico bajo siembra directa. V Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología de Suelos y V Encuentro sobre Fijación Biológica de Nitrógeno, San Salvador de Jujuy, Argentina. 6-8 de Julio.
- García de Salamone, IE; Rorig, M.; Di Salvo, L; Michelena, R. 2006. Comunidades microbianas en capas superficiales de un suelo Haplustol éntico bajo siembra directa. XX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Salta, Argentina. 19-22 de Setiembre.
- García de Salamone, IE; Michelena, R; Rodríguez, A; Montemitoli, I; Gatti, S; Rorig, M. 2006. Ocurrencia de micorrizas vesículo arbusculares en plantas de maíz, soja y trigo en sistemas de siembra directa. *Revista de la Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires*. 26 (1): 67-72.
- García de Salamone, IE; Di Salvo LP; Escobar Ortega, JS; Tovagliari, AE. 2007. Respuesta del cultivo de arroz a la inoculación con *Azospirillum* y fisiología de las comunidades bacterianas rizosféricas. VI Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología de Suelos y VI Encuentro sobre Fijación Biológica de Nitrógeno, Río Cuarto, Córdoba, Argentina. 4-6 de Julio. ISBN:978-950-665-438-2.
- Garland, JL; Mills, AL.1991. Classification and characterization of heterotrophic microbial communities on the basis of patterns of community-level sole-carbon-source utilization. *Applied & Environm. J. Microbiol.* 57: 8, 2351-2359.
- Grandy, AS; Robertson, GP; Thelen, KD. 2006. Do productivity and environmental trade-offs justify periodically cultivating No-till cropping systems? *Agron. J.* 98:1377-1383.
- Jackson, L E; Calderonb, F J; Steenwertha, K L; Scow, K M; Rolston, DE. 2003. Responses of soil microbial processes and community structure to tillage events and implications for soil quality. *Geoderma*, v. 114(3-4), p. 305-317.
- Maddoni, GA; Vilariño, P; García de Salamone, IE. 2004 Dinámica de los nutrientes en el sistema suelo-planta. En: Producción de Granos, Bases funcionales para su manejo. (441-477). Eds. Satorre, E, Benech Arnold, R, Slafer, GA, de la Fuente, EB, Miralles, DJ; Otegui, ME; Savin, R. Editorial FAUBA, Universidad de Buenos Aires.
- Martinez, A; Menendez, AB; Chiocchio, VM; Venedikian, N; Godeas, A. 1998. Influencia del insecticida Triflumuron sobre la micorrización por parte de los hongos arbusculares y el crecimiento de las plantas de soja (*Glycine max* var *sojae*). *Revista de la Facultad de Agronomía. La Plata* 103 (2), pp. 135 – 140.
- Menéndez, A; Martinez, AE; Chiocchio, VM; Venedikian, N; Ocampo, JA; Godeas, AM. 1999. Influence of the insecticide Dimetoathe on arbuscular mycorrhizal colonization and growth of soybean plants. *Revista International Microbiology*. Vol. 2 Number 1, pp. 43 - 45.

- Naeem, S., Thompson, L., Lawler S., Lawton, J.H., Woodfin R.M. 1995. Empirical evidence that declining species diversity may alter the performance of terrestrial ecosystems. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B.* 345: 249-262.
- Naiman, A.D.; Latronico, A.E.; García de Salamone, I.E. 2009. Inoculation of Wheat with *Azospirillum brasilense* and *Pseudomonas fluorescens*: impact on the production and rhizospheric microflora. *European Journal of Soil Biology* 45:44-51. doi:10.1016/j.ejsobi.2008.11.001.
- Paul E. A. and F. E. Clark. 1996. *Soil Microbiology and Biochemistry* Academic Press, Inc., San Diego, CA. 340 pp.
- Ribeiro da Silva, EM; Saggin-Junior, OJ. 2004. Estrategias biológicas para la recuperación de áreas degradadas. Pp.13-16. En: *Biología del suelo. Sesión II. Interacción de los organismos del suelo con las raíces vegetales.*
- Rillig, M; Wright, S; Eviner, V. 2002. The role of arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin in soil aggregation: comparing effects of five plant species. *Plant and Soil* vol 238 N°2, pp.325-333.
- Rorig, M; Alderuccio, S; Malcolm V; Olsen, D; Michelena, R; García de Salamone, IE. 2004. Estimaciones del número de microorganismos, producción de nitratos y actividad de fosfatasa alcalina en un suelo Argiudol vértico de la localidad de Ramírez, Entre Ríos, bajo siembra directa y durante la rotación trigo-soja. En: *Biología del Suelo. Transformación de la materia orgánica. Usos y biodiversidad de los organismos edáficos.* Editores: Monzón de Asconegui, M; García de Salamone, I.E.; Miyazaki, S. FAUBA. Bs As.
- Schalamuk, S; Velazquez, S; Chidichimo, H; Cabello, M. 2003. Efecto de la siembra directa y labranza convencional sobre la colonización y esporulación en trigo. *Boletín Micológico* v. 18, p.15-19.
- Schalamuk, S; Velazquez, S; Chidichimo, H; Cabello, M. 2006. Fungal spore diversity of arbuscular mycorrhizal associated with spring wheat: effect of tillage. *Mycologia* 98 (1) 16-22.
- Schlesinger WH; Hasey, MM. 1981. Decomposition of chaparral shrub foliage: losses of organic and inorganic constituents from deciduous and evergreen leaves. *Ecology* 62: 762-774.
- Scow, KM. 1997. Soil Microbial Communities and Carbon Flow in Agroecosystems. In: *Ecology in Agriculture*, Louise E. Jackson (Ed.). *Physiological Ecology Series, Agricultural and Biological Sciences*, Academic Press. pp. 367-413.
- Sieverding, E. 1991. Vesicular arbuscular mycorrhiza management in tropical agrosystems. GTZ. Rossdor, Germany.
- Sisti, CPJ; Santos, HP; Kochhann, R; Alves, BJR; Urquiaga, S; Boddey, RS. 2004. Change in carbon and nitrogen stocks in soil under 13 years of conventional and zero tillage in southern Brazil. *Soil Till. Res.* 76:39-58.
- Studdert, GA; Echeverria, HE; Casanovas, EM. 1997. Crop pasture rotation for sustaining the quality and productivity of a Typic Argiudol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:1466-1472.
- Torsvik, V J Goksøyr and F L Daae. 1990. High diversity in DNA of soil bacteria. *Appl Environ Microbiol.* March; 56(3): 782-787.
- Torsvik, V., Øvreås, L., and Thingstad, T.F. 2002. Prokaryotic diversity - magnitude, dynamics, and

- controlling factors. *Science* 296: 1064-1066.
- Triplett, Jr., GB; Dick, WA. 2008. No-Tillage Crop Production: A Revolution in Agriculture!. *Agron. J.*, v. 100, p. 153-165.
- Urquiaga, S; Jantalia, CP; Alves, BJR; Boddey, RM. 2004. Importancia de la FBN en el secuestro de carbono en el suelo y en la sustentabilidad agrícola. En: *Biología del Suelo. Transformación de la materia orgánica. Usos y biodiversidad de los organismos edáficos*. Eds. Monzón de Asconegui, MA; García de Salamone, IE; Miyazaki, SS. Editorial FAUBA. Universidad de Buenos Aires. pp.1-6.
- Van Soest, PJ; Wine, RH. 1968. The determination of lignin and cellulose in acid detergent fiber with permanganate. *Journal of the Association of Official Analyses in Chemistry* 51: 780-787.
- Venedikian, N; Chiochio, VM; Martinez, AE; Menendez, AB; Ocampo, JA; Godeas, A. 1999. Influence of the fungicides Carbendazim and Chlorotalonil on spore germination, arbuscular mycorrhizal colonization and growth of soybean plants. *Revista Agrochimica*. Vol. XLIII – N° 3-4, págs. 105 – 109.
- Whitman W.B.; C. Coleman; W. J. Wiebe 1998. The unseen majority. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 95: 6578-6583.
- Zubillaga, MM; Cabrera, ML; Kissel, D; Rema, J. 2007. Modelling field scale N mineralization in Coastal Plain soils. *Ecological Modelling* 207: 243-250. Editorial Elsevier.