



## PARÁMETROS BIOLÓGICOS Y NIVELES DE GLOMALINA COMO INDICADORES DE CALIDAD DE UN SUELO IMPLANTADO CON ESPECIES FORESTALES EXÓTICAS EN LA PATAGONIA ARGENTINA

Diana Effron\* y Gabriela Sarti<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Cátedra de Química General e Inorgánica Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Avda. San Martín 4453, CABA \*effron@agro.uba.ar

Recibido: 09-11-14

Aceptado 20-03-15

### RESUMEN

En la Patagonia Argentina dado que el 80% de las hectáreas forestadas corresponden al género *Pinus* surge la necesidad de diversificar las plantaciones forestales. En el suelo, las propiedades biológicas son, en parte, responsables de los cambios en la calidad del mismo y pueden ser usados como indicadores. La glomalina producida por hongos micorrízicos arbusculares ha tomado relevancia en los últimos años como un nuevo indicador. El objetivo de este estudio fue comparar la calidad de un suelo bajo plantaciones de roble europeo (*Quercus robur*) y de pino radiata (*Pinus radiata* D. Don) en Chubut, Argentina, a través de indicadores biológicos tales como carbono de respiración y actividades enzimáticas y vincularlos con los niveles de glomalina. Este trabajo permitió mostrar la influencia de las especies forestales en la calidad del suelo ya que los valores hallados de los parámetros evaluados mostraron valores significativamente mayores en el suelo de roble respecto del de pino, lo cual indica una mayor calidad biológica de ese suelo.

**Palabras clave.** Suelo forestal, propiedades biológicas, niveles de glomalina, roble europeo (*Quercus robur*), pino radiata (*Pinus radiata*).

### BIOLOGICAL PARAMETERS AND GLOMALIN LEVELS AS QUALITY INDICATORS IN A SOIL IMPLANTED WITH EXOTIC FOREST SPECIES IN ARGENTINE PATAGONIA

### SUMMARY

In the Argentine Patagonia there is an increased necessity to diversify forest plantations due to 80% of forested hectares corresponding to the genus *Pinus* species. In soils, biological properties are partly responsible for changes in quality, and may be used as quality indicators. Glomalinal produced by arbuscular mycorrhizal fungi has gained importance in recent years as a new indicator. The aim of this study was to compare the quality of a soil under european oak (*Quercus robur*) and radiata pine (*Pinus radiata* D. Don) plantations in Chubut, Argentina, through biological indicators such as respiration carbon and enzyme activities and to link with glomalinal levels This work allowed to show the influence of forest species in soil quality because values found in the parameters evaluated showed significantly higher values in soil under oak respect of pine, indicating a higher biological quality for that soil.

**Key words.** Forest soil, biological properties, glomalinal levels, european oak (*Quercus robur*), radiata pine (*Pinus radiata*).

## INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, en la Patagonia Argentina se observó un importante incremento de plantaciones de tipo monocultivo de especies exóticas de rápido crecimiento con fines comerciales, tal es el caso de especies del género *Pinus* (Rusch *et al.*, 2014), lo cual trajo como consecuencia la necesidad de evaluar la posibilidad de cultivar otros géneros que permitan la diversificación de las actuales forestaciones debido a los beneficios ecológicos y económicos que este hecho genera. En este sentido, la especie exótica roble europeo (*Quercus robur*) por su adaptación a las condiciones generales del clima en la región, por poseer madera de calidad y reconocido valor en el mercado, podría ser considerada una especie promisoría para ser seleccionada para su implantación (Godoy *et al.*, 2007).

Para evaluar cómo estas plantaciones afectan la calidad de suelo, los indicadores de origen biológico serían buenos indicadores debido a que las propiedades biológicas en los suelos son responsables, en parte, de los cambios en la calidad del mismo debido a que su flora microbiana juega un rol fundamental en la sustentabilidad de los diversos ecosistemas, desarrollando funciones esenciales como ciclado de nutrientes, formación del humus del suelo, mejora de las propiedades físicas y mantenimiento de la biodiversidad de los ecosistemas (Campbell *et al.*, 1997). Además, tienden a reaccionar de manera más rápida que las propiedades físicas y químicas a los cambios producidos por el uso y manejo de los suelos, por lo tanto podrían constituir un buen indicador de respuesta temprana y sensible para ser utilizados en monitoreos de la calidad edáfica (Nannipieri, 1994).

Dentro de los indicadores biológicos se encuentran la respiración microbiana como una medida de la actividad biológica del suelo y la actividad de las enzimas extracelulares. Las enzimas son secretadas extracelularmente principalmente por los microorganismos edáficos debido a su

gran biomasa, su alta actividad metabólica y su corto ciclo de vida, en contraste con otros organismos que también las pueden liberar como las plantas y los animales (Dick y Tabatabai, 1992) y pasan a formar parte de la matriz del suelo (Aon y Colaneri 2001; Tripathi *et al.*, 2007). Dentro de este grupo de enzimas, las fosfatasas se encargan de la hidrólisis de diversos ésteres fosfato orgánicos e inorgánicos. Las  $\beta$ -glucosidasas son hidrolasas encargadas de la degradación final de los oligómeros de bajo peso molecular procedentes de la degradación de la celulosa a unidades de glucosa y la actividad proteasa del suelo es la responsable de la descomposición progresiva del nitrógeno contenido en las proteínas.

La glomalina es una glicoproteína liberada por las hifas y esporas de los hongos micorrízicos arbusculares, HMA, (Wang *et al.*, 2014) la cual posee una fuerte capacidad cementante y estaría involucrada en la estabilidad de los agregados del suelo (Wright y Upadhyaya, 1998; Seguel *et al.*, 2008; Martin *et al.*, 2012). Puede extraerse desde el suelo o desde las hifas de los hongos en distintas fracciones que se definen en términos operativos por procedimientos de extracción, obteniéndose glomalina fácilmente extraíble (GFE) que es considerada como un material recientemente depositado en el suelo y de naturaleza lábil (Wright y Upadhyaya, 1998; Lovelock *et al.*, 2004) y otra fracción denominada glomalina total (GT) que corresponde a la proteína fuertemente unida a las partículas del suelo (Lovelock *et al.*, 2004). Los niveles de glomalina total y fácilmente extraíble han sido determinados en distintos tipos de suelos y bajo diversos cultivos o especies forestales (Wright y Upadhyaya, 1998; Rillig *et al.*, 2001; Borie *et al.*, 2006) y según Rillig *et al.* (2003) la glomalina puede usarse como un indicador para el monitoreo de los efectos del cambio de uso de los suelos. Es por ello que existe un creciente interés en correlacionar los niveles de glomalina con parámetros físico-químicos y biológicos del suelo (Treseder y Turner, 2007; Seguel *et al.*, 2008) para determinar la factibilidad de em-

plearla como un nuevo indicador de calidad en suelos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue comparar la calidad de un suelo bajo plantaciones de roble europeo (*Quercus robur*) y de pino radiata (*Pinus radiata* D. Don) a través de indicadores biológicos tales como carbono de respiración y actividades enzimáticas y vincularlos con los niveles de glomalina total y fácilmente extraíble.

### MATERIALES Y MÉTODOS

El sitio de investigación se encuentra en la Estación Forestal INTA de Trevelin, Chubut, Argentina (43°05' Lat. Sur, 71°31' Long Oeste) con una altitud de 470 m.s.n.m. El suelo corresponde a un Andisol, donde el material originario está compuesto por cenizas volcánicas mezclado con material coluvial. El clima se caracteriza por tener precipitaciones promedio de 942 mm anuales, produciéndose el 80,6% de las mismas entre los meses de abril y septiembre. La temperatura máxima media anual es de 15,7 °C y la mínima media anual de 3,4 °C.

Dentro del predio, se seleccionaron dos sitios, de aproximadamente de 2 ha: (i) uno con un bosque implantado con pino radiata (*Pinus radiata* D. Don.) y otro con roble europeo (*Quercus robur* L.) con igual tiempo de implantación (50 años aproximadamente). En cada sitio, se seleccionaron 10 árboles de cada una de las especies con portes similares y buen estado sanitario. Se tomaron muestras superficiales (0 a 10 cm) de suelo, previo despeje del material vegetal superficial y a una misma distancia del tronco de los árboles seleccionados. Debajo de cada uno de los 10 árboles, para ambas especies, se tomaron 4 muestras de las cuales se hizo una muestra compuesta por árbol, sobre las cuáles se efectuaron las determinaciones. Las muestras húmedas se guardaron en bolsas plásticas que se mantuvieron refrigeradas hasta su posterior análisis en el laboratorio. Las muestras fueron tamizadas por malla de 4 mm o 2 mm según la determinación a realizar. Los resultados se expresaron en base a suelo seco al aire hasta peso constante.

A las muestras de suelo se le realizaron las siguientes determinaciones por duplicado. (i) Carbono de respiración: se determinó midiendo el CO<sub>2</sub> li-

berado durante la incubación del suelo, el que es retenido por una solución de NaOH y posterior valoración del NaOH remanente (Anderson, 1982); (ii) Carbono orgánico: por el método de Walkley y Black (Nelson y Sommers, 1982); (iii) Actividad fosfatasa ácida y actividad β-glucosidasa: se determinó por incubación de las muestras de suelo con los sustratos p-nitrofenil fosfato de sodio (PNP) y p-nitrofenil glucósido (PNG) respectivamente, a temperatura y pH óptimos y posterior lectura espectrofotométrica a 410 nm del p-nitrofenol liberado (Dick *et al.*, 1996); (iv) Actividad de proteasas: se determinó por incubación del suelo durante 2 h a 50 °C, con caseína como sustrato a pH 8,1. La tirosina liberada se determinó por colorimetría con el reactivo de Folin-Ciocalteu (Dilly y Munch, 1996); (v) Glomalina total (GT): Se determinó mediante extracciones sucesivas con citrato de sodio 50 mM a pH 8,0 con autoclavado por 60 minutos hasta desaparición del color pardo rojizo característico de la glomalina con posterior determinación espectrofotométrica a 595 nm de acuerdo al método de Bradford para proteínas (Wright y Upadhyaya, 1998); (vi) Glomalina fácilmente extraíble (GFE): Se determinó mediante una extracción con citrato de sodio 20 mM a pH 7,0 con autoclavado por 30 minutos y posterior determinación espectrofotométrica con igual metodología que la glomalina total (Wright y Upadhyaya, 1998) y (vii) pH: se determinó potenciométricamente a partir de una suspensión suelo:agua en una relación 1:2,5.

Los datos para las variables analizadas fueron analizados estadísticamente mediante un análisis de varianza de una vía correspondiente a un diseño completamente aleatorizado, entre tratamientos correspondiente a las dos especies arbóreas. Las diferencias entre medias de tratamiento fueron determinadas mediante el test de Tukey ( $p < 0,05$ ). Se utilizó el programa estadístico INFOSTAT PROFESIONAL ® Versión 1.1 (Universidad de Córdoba).

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los valores hallados en el presente trabajo mostraron que los valores de las propiedades biológicas y bioquímicas medidos así como del carbono orgánico (Cuadro 1) resultaron significativamente superiores en el suelo de roble euro-

peo respecto del suelo de pino radiata ( $p < 0,05$ ) tanto como los niveles de glomalina total y fácilmente extraíble (Fig. 1).

Nuestros valores de GT y GFE son algo mayores a los obtenidos por Bedini *et al.* (2007) quienes hallaron valores de GT que variaron entre 2 y 10  $\text{mg g}^{-1}$  y entre 0,2 y 1,5  $\text{mg g}^{-1}$  para GFE para suelos sometidos a distintos usos (agricultura, bosques no manejados y pradera natural). Seguel *et al.* (2008) reportaron valores aún mayores a los hallados en el presente trabajo los cuales oscilaron entre 26,7 y 46,1  $\text{mg g}^{-1}$ , que corresponden a un andisol de un bosque mixto de olivillo para GT y entre 9 y 25  $\text{mg g}^{-1}$  para GFE y sugieren que los niveles de glomalina en ecosistemas forestales serían superiores al de los agrosistemas, posiblemente debido según es reportado por Driver *et al.* (2005) a que el incremento en la velocidad de descomposición de los diversos propágulos de HMA presentes en los suelos bajo bosque favorece la llegada de la glomalina a la fracción humina del suelo.

Trabajos de varios investigadores coinciden con nuestros resultados que indican que en los suelos con mayores niveles de glomalina se encuentra mayor actividad biológica. Entre ellos, Rillig *et al.* (2003) y Bedini *et al.* (2007) encontraron una correlación positiva entre niveles de glomalina y carbono orgánico del suelo. Kuimei *et al.* (2012) trabajando en un suelo ubicado en las cercanías de explotaciones mineras encontraron que los mayores valores de glomalina se correlacionan positivamente con los de actividad enzimática (deshidrogenasa y fosfatasa). Bonfim *et al.* (2013) encontraron mayores valores de respiración microbiana en aquellos suelos que contenían los niveles de glomalina más altos cuando compararon un bosque nativo con tres bosques reimplantados con especies diferentes. Rillig *et al.* (1999) hallaron que los niveles de glomalina correlacionan positivamente con los agregados estables al agua del suelo lo cual influye en las propiedades físicas, químicas y biológicas del mismo.

Cuadro 1. Valores medios  $\pm$  errores estándar ( $p < 0,05$ ) de respiración microbiana (RM), actividades de las enzimas fosfatasa ácida (FA),  $\beta$ -glucosidasa (GLU) y proteasas (PRO) y de carbono orgánico (CO) en el suelo de pino radiata (*Pinus radiata*) y roble europeo (*Quercus robur*). Letras distintas entre especies indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

	RM $\text{mg CO}_2 \text{ kg}^{-1} 7\text{d}^{-1}$	FA $\text{mg paranitrofenol kg}^{-1} \text{h}^{-1}$	GLU $\text{kg}^{-1} \text{h}^{-1}$	PRO $\text{mg tirosina kg}^{-1} \text{h}^{-1}$	CO $\text{g kg}^{-1}$
roble	23,0 $\pm$ 1,9 a	1477 $\pm$ 150 a	337 $\pm$ 28 a	487 $\pm$ 33 a	72,0 $\pm$ 6,8 a
pino	13,2 $\pm$ 1,1 b	329 $\pm$ 28 b	186 $\pm$ 16 b	322 $\pm$ 29 b	30,1 $\pm$ 2,1b

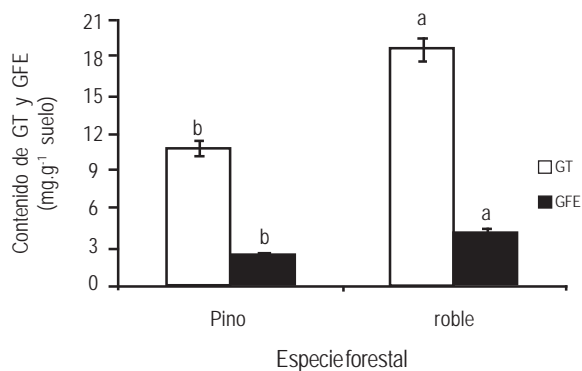


Figura 1. Valores medios de glomalina total (GT) y glomalina fácilmente extraíble (GFE) en el suelo de pino radiata (*Pinus radiata*) y roble europeo (*Quercus robur*). Letras distintas para cada variable entre especies indican diferencias significativas ( $p < 0,05$ ).

Por otro lado, los mayores valores de actividad microbiana medidos a través del carbono de respiración así como de la actividad enzimática hallados para el suelo de roble europeo se corresponden con el valor de pH encontrado para ese suelo que es cercano a la neutralidad (pH = 6,8 respecto del determinado para pino pH = 5,7) condición óptima para el desarrollo de la actividad microbiológica (Wang *et al.*, 2006). Effron *et al.* (2012) en el mismo sitio de estudio que el presente trabajo y con las mismas especies forestales encontraron que la diferente composición química del material vegetal originó una actividad biológica y enzimática diferente, siendo mayor en el suelo bajo la especie forestal roble europeo la cual posee menor contenido de sustancias recalcitrantes como lignina respecto de la especie pino radiata.

diados mostraron valores significativamente superiores en el suelo de roble europeo respecto del suelo de pino radiata. Las enzimas extracelulares evaluadas, el carbono de respiración y el carbono orgánico mostraron valores significativamente mayores debajo de la misma especie forestal indicando que desde el punto de la microbiología edáfica, el suelo bajo la especie roble europeo propiciaría un ambiente más adecuado para promover el desarrollo y preservación de la comunidad microbiana. Los valores de estas variables se correspondieron también con mayores valores de glomalina. Por lo tanto, la especie roble europeo propiciaría una mayor calidad biológica de ese suelo y sería de interés continuar con estudios tendientes a considerar a esta especie como promisoría para su utilización en procesos de implantación en la zona en estudio.

### CONCLUSIONES

Este trabajo permitió mostrar la influencia de las especies forestales en la calidad del suelo ya que los valores hallados de los parámetros estu-

### AGRADECIMIENTOS

Este trabajo fue financiado por el proyecto de Ciencia y Técnica de la Universidad de Buenos Aires (Código 20020090100087BA) de la programación científica de los años 2010-2012.

### BIBLIOGRAFÍA

- Anderson, J.P.E. 1982. Soil respiration. *In: Methods of Soil Analysis*. Agronomy. ASA y SSSA. Madison, Wisconsin, USA. Page A L *et al.* (eds). pp 841-845.
- Aon, M. y A. Colaneri. 2001. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. *App. Soil Ecol.*, 18: 255-270.
- Bedini, S.; L. Avio; E. Argese and M. Giovannetti. 2007. Effects of long-term land use on arbuscular mycorrhizal fungi and glomalin-related soil protein. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 120: 463-466.
- Bonfim, J.; R.L.F. Vasconcelos; S.L. Stürmer and E.J.B.N. Cardoso. 2013. *Arbuscular mycorrhizal fungi in the Brazilian Atlantic forest: A gradient of environmental restoration*. *Applied Soil. Ecology* 71: 7-14.
- Borie, F.R.; J.L. Rubio; A. Rouanet; A. Morales; G. Borie and C. Rojas. 2006. Effect of tillage systems on soil characteristics, glomalin and mycorrhizal propagules in a Chilean Ultisol. *Soil and Tillage Research* 88: 253-261.
- Campbell, C.; S. Grayston and D. Hirst. 1997. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods* 30: 33-41.
- Dick W. and M. Tabatabai. 1992. Potential uses of soil enzymes. *In: Metting F. Jr (ed) Soil microbial ecology: application in agricultural and environmental management*. USA. Marcel Dekker (eds) pp 95-127.
- Dick, R.P.; D.P. Rakwell and R.F. Turco. 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. *In: Methods for Assessing Soil Quality*. SSSA Spec. Publ. 49 J. USA. Doran y A. Jones (eds). pp 247-271.



- Dilly, O. and J.C. Munch. 1996. Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a Black Alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn) Forest. *Soil Biology and Biochemistry* 28: 1073-1081.
- Driver, J.; W. Holben and M. Rillig. 2005. Characterization of glomalin as a hyphal wall component of arbuscular mycorrhizal fungi. *Soil Biol. Biochem.*, 37: 101-106.
- Effron, D.; G. Sarti; C. Quinteros y S. Catán. 2012. Influencia de las especies Roble (*Quercus robur*), Fresno (*Fraxinus excelsior* L.) y Pino Radiata (*Pinus radiata* D. Don) sobre parámetros biológicos y bioquímicos en un suelo forestal de Chubut, Argentina. *Revista Información Tecnológica* 23(2): 87-92.
- Godoy, M.M.; G.E. Defossé y N. Thren 2007. Especies forestales promisorias para la diversificación de forestaciones en la Patagonia Argentina. *Bosque* 22(1): 25-32.
- Kuimei, Q.; W. Liping and Y. Ningning. 2012. Effects of AMF on soil enzyme activity and carbon sequestration capacity in reclaimed mine soil. *International Journal of Mining Science and Technology* 22: 553-557.
- Lovelock, C.; S.F. Wright; D A. Clark and R.W. Ruess. 2004. Soil stocks of glomalin produced by arbuscular mycorrhizal fungi across a tropical rain forest landscape. *J. Ecol.* 92: 278-287.
- Martin, S.L.; S. Mooney; M. Matthew; M.J. Dickinson and H M. West. 2012. Soil structural responses to alterations in soil microbiota induced by the dilution method and mycorrhizal fungal inoculation. *Pedobiologia* 55: 271-281.
- Nannipieri, P. 1994. The potencial use of enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. *In: Soil biota: management in Sustainable farming System* CSIRO. Press. East Melbourne CE Pankhurst, BM Doube, BB Gupta, PR Grace (eds). pp 238-244.
- Nelson, D.W. and L.E. Sommers. 1982. Total carbon, organic carbon and organic matter. *En: Methods of Soil Analysis, Part. 2. 2da. edn.* Madison, Wisconsin, USA Agronomy 9. American Society of Agronomy, A.L Page; R.H. Miller; D.R. Keeney (eds). pp 539-579.
- Rillig M.; S. Wright; M. Allen and C. Field. 1999. Rise in carbon dioxide changes soil structure. *Nature* 400: 628.
- Rillig, M.; P.W. Ramsey; S. Morris and E.A. Paul. 2003. Glomalin an arbuscular micorrhizal fungal soil protein, responds to soil use change. *Plant and Soil* 253: 293-299.
- Rillig, M.S.; K. Wright; K. Nichols; W. Schmith and M. Torn. 2001. Large contributions of arbuscular mycorrhizal fungi to soil carbon pools in tropical forest soils. *Plant and Soil* 233: 167-177.
- Rusch, V.; and V. Lantschner 2014. Efecto de las plantaciones forestales sobre la fauna de la Patagonia Andina. *Revista Forestación y Ambiente. Revista Forestoindustrial del Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca.* 8: 12-14.
- Seguel, A.; R. Rubio; R. Carrillo; A. Espinosa y F. Borie. 2008. Niveles de glomalina y su relación con características químicas y biológicas del suelo (andisol) en un relicto de bosque nativo del sur de Chile. *Bosque* 29(1): 11-22.
- Treseder, K. and K. Turner. 2007. Glomalin in Ecosystems. *Soil Science Society American Journal*, 71: 1257-1266.
- Tripathi S.; A. Chakraborty; A. Chakrabarti and B. Bandyopadhyay. 2007. Enzyme activities and microbial biomass in coastal soils of India. *Soil Biol. Biochem.* 39: 2840-2848.
- Wang, Q.; Y. Bao; X. Liu and G. Du. 2014. Spatio-temporal dynamics of arbuscular mycorrhizal fungi associated with glomalin-related soil protein and soil enzymes in different managed semiarid steppes. *Mycorrhiza* 24: 525-538.
- Wang, A.; J. Angle; R. Chaney; T. Delarme and M. Mc Intosh, 2006. Changes in soil biological activities under reduced soil pH during *Thlaspi caerulescens* hytoextraction. *Soil Biology and Biochemistry* 38(6): 1451-1461.
- Wright, S. and A. Upadhyaya. 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycol-protein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 198: 97-107.