



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# **Intensificación en los sistemas arroceros y su impacto sobre el potencial funcional de la comunidad microbiana edáfica**

Leticia de Souza Formoso

Magíster en Ciencias Agrarias  
Opción Ciencias Vegetales

Noviembre 2022



UNIVERSIDAD  
DE LA REPÚBLICA  
URUGUAY

# **Intensificación en los sistemas arroceros y su impacto sobre el potencial funcional de la comunidad microbiana edáfica**

Leticia de Souza Formoso

Magíster en Ciencias Agrarias  
Opción Ciencias Vegetales

Noviembre 2022

Tesis aprobada por el tribunal integrado por la PhD. Adriana Montañez, el PhD. José Terra y la Dra. Natalia Bajsa, el 30 de noviembre de 2022. Autora: Ing. Agr. Leticia de Souza Formoso. Directora: Dra. Pilar Irisarri. Codirectora: Dra. Andrea Rodríguez Blanco.

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación, ya que la investigación que da origen a los resultados presentados en la presente publicación recibió fondos de dicha institución bajo el código POS\_FAS\_2019\_1\_1008855. Este trabajo se enmarca dentro del proyecto *Ciclo del carbono* del programa ANII-INNOVAGRO «Evaluación de la Sostenibilidad en Sistemas Arroceros con Intensidad Variable».

## TABLA DE CONTENIDO

	página
PÁGINA DE APROBACIÓN.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VII
SUMMARY.....	VIII
1. <u>INTRODUCCIÓN</u> .....	1
1.1. CULTIVO DE ARROZ EN URUGUAY.....	1
1.1.1. <u>Intensificación en la producción arroceras</u> .....	1
1.2. INDICADORES DE CALIDAD/SALUD DE SUELO.....	4
1.2.1. <u>Indicadores microbiológicos</u> .....	5
1.2.1.1. Actividades enzimáticas.....	7
1.2.1.2. Respiración y biomasa microbiana.....	9
1.2.1.3. Perfil metabólico de la comunidad microbiana.....	10
1.2.1.4. Micorrizas arbusculares y glomalina.....	11
1.3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	13
2. <u>MATERIALES Y MÉTODOS</u> .....	14
2.1. ROTACIONES ARROCERAS EVALUADAS DE LA «PLATAFORMA DE LARGO PLAZO ARROZ, PASTURAS Y OTROS CULTIVOS» DE INIA TREINTA Y TRES .....	14
2.1.1. <u>Intensidad de uso del suelo en las rotaciones evaluadas</u> .....	15
2.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS MUESTREOS .....	16
2.3. VARIABLES EVALUADAS.....	17
2.3.1. <u>Actividades enzimáticas</u> .....	18
2.3.1.1. Deshidrogenasa.....	18
2.3.1.2. $\beta$ -glucosidasa.....	19
2.3.1.3. Fosfatasa alcalina.....	19
2.3.1.4. Ureasa.....	20
2.3.2. <u>Respiración microbiana y carbono de la biomasa microbiana</u> .....	21

2.3.2.1.	Respiración microbiana por titulación.....	21
2.3.2.2.	Carbono de la biomasa microbiana por fumigación- extracción.....	22
2.3.3.	<u>Perfil fisiológico de la comunidad microbiana</u> .....	22
2.3.4.	<u>Variables químicas del suelo</u> .....	24
2.4.	ESTUDIO DE MICORRIZAS ARBUSCULARES .....	25
2.4.1.	<u>Ensayo de micorrización</u> .....	25
2.4.2.	<u>Glomalina fácilmente extraíble</u> .....	25
2.5.	MINERALIZACIÓN DE RESIDUOS VEGETALES.....	26
2.5.1.	<u>Ensayo de mineralización</u> .....	26
2.5.2.	<u>Análisis químico de residuos vegetales</u> .....	27
2.6.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	27
2.6.1.	<u>Diseño experimental y modelos</u> .....	27
2.6.2.	<u>Análisis multivariados</u> .....	28
2.6.3.	<u>Programas usados</u> .....	28
3.	<u>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</u> .....	29
3.1.	EVALUACIÓN DE VARIABLES MICROBIOLÓGICAS EN ROTACIONES ARROCERAS PREVIO A LA SIEMBRA DE ARROZ.....	29
3.1.1.	<u>Actividades enzimáticas, respiración y biomasa microbiana</u> .....	29
3.1.2.	<u>Perfil fisiológico de la comunidad microbiana</u> .....	32
3.1.3.	<u>Variables químicas</u> .....	37
3.1.4.	<u>Correlación de Pearson entre variables del primer muestreo en rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz</u> .....	38
3.1.5.	<u>Análisis de componentes principales con variables obtenidas de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz</u> .....	39
3.1.6.	<u>Segundo muestreo en rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz</u> .....	40
3.1.7.	<u>Correlación de Pearson entre variables del segundo muestreo en rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz</u> .....	41

3.1.8. <u>Ensayo de mineralización con residuos vegetales y suelos previo a la siembra de arroz</u> .....	42
3.2. EVALUACIÓN DE VARIABLES MICROBIOLÓGICAS EN ROTACIONES ARROCERAS PREVIO A LA COSECHA DE ARROZ.....	48
3.2.1. <u>Actividades enzimáticas, respiración y biomasa microbiana</u> .....	48
3.2.2. <u>Perfil fisiológico de la comunidad microbiana</u> .....	49
3.2.3. <u>VARIABLES QUÍMICAS</u> .....	51
3.2.4. <u>Ensayo de micorrización</u> .....	53
3.3. CONSIDERACIONES SOBRE LIMITANTES DE LA INVESTGACIÓN.....	56
4. <u>CONCLUSIONES</u> .....	58
5. <u>BIBLIOGRAFÍA</u> .....	59
6. <u>ANEXOS</u> .....	71
6.1. INTENSIFICACIÓN EN LOS SISTEMAS ARROCEROS Y SU IMPACTO SOBRE EL POTENCIAL FUNCIONAL DE LA COMUNIDAD MICROBIANA EDÁFICA / INTENSIFICATION IN PADDY SYSTEMS AND ITS IMPACT ON THE FUNCTIONAL POTENTIAL OF THE EDAPHIC MICROBIAL COMMUNITY.....	71

## RESUMEN

Los microorganismos del suelo son capaces de afectar directa e indirectamente la productividad de los cultivos. Por otro lado, el manejo agrícola de los suelos puede provocar impactos en la estructura y funcionamiento de las comunidades microbianas del suelo, lo cual puede amenazar la sostenibilidad de los agroecosistemas. Se estudiaron variables microbiológicas en cuatro rotaciones arroceras, con diferente nivel de intensificación de uso del suelo de la «Plataforma de Largo Plazo de Arroz, Pasturas y Otros Cultivos» del INIA Treinta y Tres. Las rotaciones evaluadas fueron: arroz-pradera larga, arroz-soja-pradera larga, arroz-soja continuo y arroz continuo. Se realizaron muestreos de suelo tanto previo a la siembra de arroz como previo a la cosecha de arroz. Se analizaron las variables: actividades enzimáticas (deshidrogenasa,  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa alcalina y ureasa), respiración y el perfil fisiológico de la comunidad microbiana obtenido con las placas Biolog EcoPlates (*Community Level Physiological Profile-CLPP*). Se llevaron a cabo dos ensayos; en uno se determinó el porcentaje de micorrización y en el otro se evaluó la mineralización de restos vegetales. En algunas variables microbiológicas se separa la rotación arroz continuo, que es la más intensiva en cuanto al uso del suelo; en otras variables se observó que el arroz después de arroz varía las propiedades microbiológicas del suelo en la rotación arroz-pradera larga, aunque la pradera larga parece restaurar las condiciones del suelo. Se encontraron diferencias significativas entre momentos de muestreo en los variables pH, fosfatasa alcalina, ureasa y AWCD (*Average Well Color Development*), lo que sugiere que las condiciones durante el cultivo de arroz, como la anaerobiosis generada por el riego, pueden haber alterado la microbiota del suelo momentáneamente. En la mayoría de las variables microbiológicas no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, lo que podría estar relacionado con cierta estabilidad en la dinámica del carbono por tratarse de agricultura con siembra directa y aplicarse buenas prácticas agrícolas que conservan el recurso suelo. Se concluye que sería necesario seguir monitoreando las variables microbiológicas para poder sugerir una como indicador de sostenibilidad para suelos arroceros.

**Palabras clave:** enzimas,  $\beta$ -glucosidasa, respiración, *CLPP*-Biolog, sostenibilidad



## **Intensification in paddy systems and its impact on the functional potential of the edaphic microbial community**

### **SUMMARY**

Soil microorganisms directly and indirectly affects the productivity of crops. In addition, agricultural soil management can make an impact on the structure and functioning of soil microbial communities which may threaten the sustainability of the agroecosystems. Microbiological variables were studied in four rice rotations, with different levels of land use intensification of the «Long-term Platform of Rice, Pasture and Other Crops» of INIA Treinta y Tres. The rotations evaluated were: long-term pasture-rice, long-term pasture-soybean-rice, continuous soybean-rice and continuous rice. Soil samplings were carried out both prior to sow rice and prior to rice harvest. The variables analyzed were: enzymatic activities (dehydrogenase,  $\beta$ -glucosidase, alkaline phosphatase and urease), respiration and the Community Level Physiological Profile-CLPP obtained with the Biolog EcoPlates. Two tests were conducted: in one the percentage of mycorrhization was determined and in the other the mineralization of plant residues was evaluated. In some microbiological variables, the continuous rice rotation is separated, which is the most intensive in terms of land use; in other variables it was observed that rice after rice varies the microbiological properties of the soil in the long-term pasture-rice rotation, although the pasture seems to restore soil conditions. Significant differences were found between sampling moments in the variables pH, alkaline phosphatase, urease and AWCD (Average Well Color Development), suggesting that the conditions during rice cultivation, such as the waterlogging generated by irrigation, may have altered the soil microbiota momentarily. In most of the microbiological variables, no significant differences were detected between treatments, which can be linked to some stability in the carbon dynamics because it is no-till agriculture and good agricultural practices that conserve the soil are applied. It is concluded that it would be necessary to continue monitoring microbiological variables in order to suggest one as an indicator of sustainability in paddy soils.

**Keywords:** enzymes,  $\beta$ -glucosidase, respiration, CLPP-Biolog, sustainability

## **1. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. CULTIVO DE ARROZ EN URUGUAY**

El arroz (*Oryza sativa L.*) es considerado un alimento básico, es el segundo cereal más producido mundialmente y el primer alimento de consumo básico en Asia (FAO, 2004).

El Uruguay como productor de arroz se encuentra cerca del trigésimo puesto a nivel mundial y como exportador neto ha llegado al sexto puesto, representando 2 a 3 % de volumen global. Se exporta más de 90 % de lo producido anualmente, por lo que su producción está íntimamente relacionada a los mercados internacionales (Ferraro y Lanfranco, 2016, Saldías et al., 2016, Uruguay XXI, 2013).

Según datos de la encuesta de arroz zafra 2020/21 de DIEA-MGAP, la superficie sembrada total de arroz se estimó en 139 mil hectáreas y la producción total nacional, en 1.309.355 toneladas de arroz cáscara seco y limpio. El rendimiento por hectárea promedio en zafra 2020/21 fue de 9.400 kg/hectárea. Cabe destacar que el rendimiento de arroz en Uruguay se encuentra entre los más altos del mundo, basado en un alto uso de tecnología y capital, incluyendo riego del 100 % del área cultivada, además del uso de cultivares de alto potencial de rendimiento y calidad desarrollados en el país (Ferraro y Lanfranco, 2016, Saldías et al., 2016).

#### **1.1.1. Intensificación de la producción arrocería**

La intensificación agrícola para la mayor producción de alimentos por área de tierra se ha basado en mejorar y aumentar los insumos agrícolas como en incorporar nuevas variedades genéticas de alto rendimiento, sistemas de riego, mecanización, fertilizantes y pesticidas sintéticos. Todas estas tecnologías fueron impulsadas por la «Revolución Verde» del siglo pasado, pero han demostrado tener efectos negativos a nivel ambiental y en costos económicos, por lo que ha surgido la preocupación de

cómo mantener una intensificación agrícola en el largo plazo (Adhikari et al., 2018, Matson et al., 1997).

Actualmente se está en la búsqueda de alternativas de intensificación sostenible que permitan aumentar la producción reduciendo el uso de insumos y los impactos negativos sobre el medioambiente, para así conservar los recursos naturales y a la vez poder cumplir con el objetivo de alimentar a una población mundial en crecimiento, además de afrontar las condiciones del cambio climático (Brito et al., 2021, Tseng et al., 2020, Terra et al., 2020, Martínez y Escalante, 2020, Zorrilla et al., 2018, Adhikari et al., 2018, Macedo et al., 2016, Saldías et al., 2016, Ayala et al., 2016). Uno de los desafíos más importantes para la agricultura actualmente es poder seguir incrementando la productividad utilizando menos recursos y, a la vez, disminuyendo su impacto ambiental (Terra et al., 2020). Para que los sistemas sean sostenibles, deben promover una fertilidad del suelo y productividad a largo plazo (Adhikari et al., 2018).

Macedo et al. (2021b) describen claramente el proceso de intensificación de la producción arroceras en Uruguay y la región. Según estos autores, los sistemas de rotaciones arroceras con pasturas perennes se han intensificado en América del Sur para aumentar la productividad anual de granos, pero los efectos a largo plazo sobre el rendimiento de arroz y la calidad de suelo no están claros. En Uruguay, históricamente, el cultivo de arroz ha rotado con pasturas, siendo la rotación típica o rotación clásica uno o dos años con arroz, alternado con tres o cuatro años con praderas, que usualmente se utilizan para la producción de ganado (Macedo et al., 2021b). La inclusión de pastura en las rotaciones arroceras provee ventajas en cuanto a la sustentabilidad en términos de calidad de suelo y dependencia de insumos externos, como fertilizantes (Pittelkow et al., 2016).

Debido a presiones económicas, los productores uruguayos han intensificado las rotaciones de arroz, sobre todo disminuyendo el período de pasturas en pos de una mayor producción de granos. Por lo que la intensificación se asocia a una mayor intensidad de cultivos de granos dentro de la rotación y a mayores requerimientos de insumos para la producción (Macedo et al., 2021b).

Una de las opciones para aumentar la producción de granos en Uruguay fue la inclusión de otros cultivos de verano, como soja (*Glicine max L.*), en el período típicamente ocupado por pasturas dentro de las rotaciones arroceras. Otra opción ha sido aumentar la frecuencia del cultivo de arroz dentro de la rotación y, por consiguiente, también ha disminuido el período de pasturas (Macedo et al., 2021b, Macedo et al., 2016, Saldías et al., 2016).

Ante el escenario de intensificación del cultivo de arroz surgen las interrogantes de ¿qué ocurre con la sustentabilidad de los sistemas? y ¿qué sucede con la calidad del suelo? Para responderlas, el Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA) instaló la «Plataforma de Largo plazo Arroz, Pasturas y Otros Cultivos», en ésta se han estudiado rotaciones arroceras con diferente intensidad, desde diferentes abordajes académicos, se han llevado a cabo varias investigaciones en el ensayo como evaluación de diferentes cultivares, tipos de riego, criterios y dosis de fertilización, dinámica de nutrientes, carbono orgánico, plagas y control de malezas.

Esta plataforma fue establecida en 2012 en Paso de la Laguna, departamento de Treinta y Tres, y hay seis rotaciones arroceras con diferente intensidad de uso del suelo. Existen resultados publicados sobre distintos aspectos evaluados en este ensayo desde que fue instalado; solo se mencionarán algunos que se consideran pertinentes en esta investigación.

Según Macedo et al. (2016), existe un efecto del cultivo antecesor de verano sobre el rendimiento de arroz, siendo la soja un antecesor que tiene un efecto positivo sobre el rendimiento de 8,9 %. En cambio, cuando el cultivo antecesor es arroz, se registran los menores rendimientos y, cuando es pradera perenne, se da una situación intermedia.

También de acuerdo con Macedo et al. (2016), llaman la atención los bajos rendimientos que se obtienen en el segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga. Por otro lado, señalan que, en general, se observa una productividad buena y estable en el rendimiento de arroz de todas las rotaciones.

Macedo et al. (2021b) encontraron, además, que la intensificación en las rotaciones no hace disminuir el carbono orgánico el suelo. Luego de ocho años, la única rotación que secuestra carbono es la de arroz-pradera larga. La estimación de la biomasa bajo el suelo en la rotación arroz-pradera larga fue 12 y 42 % mayor que en las rotaciones de arroz continuo y arroz-soja continuo, respectivamente. Los autores también señalan que el nitrógeno total se mantuvo en todos los sistemas.

## **1.2. INDICADORES DE CALIDAD/SALUD DEL SUELO**

La calidad del suelo es uno de los tres componentes de la calidad ambiental, junto con el aire y el agua. El concepto de calidad del suelo se relaciona con la capacidad del suelo de producir. Por otro lado, la salud del suelo se refiere a la capacidad de producir de forma sostenible, conservando los recursos naturales. Históricamente, la calidad del suelo fue definida en términos de capacidad de producir; actualmente, el concepto se acerca más a la acepción de salud del suelo, ya que implica la capacidad del suelo de funcionar para sostener la productividad, mantener la calidad ambiental y promover la salud animal y vegetal, manteniendo los servicios ecosistémicos que permiten la vida del ser humano, como lo son conservar la biodiversidad, purificar el agua y secuestrar carbono, entre otros (Bünemann et al., 2018, Moebius-Clune et al., 2016, Cantú et al., 2007, Seybold et al., 1997).

Los indicadores de calidad del suelo son variables que permiten identificar cambios en las características del suelo, como los provocados por modificaciones en el manejo agrícola, por lo que necesitan valores de referencia (Wingeyer et al., 2015, Bhaduri y Purakayastha, 2014, Seybold et al., 1997). El suelo reacciona lentamente a los cambios en el manejo, lo cual hace que pueda ser difícil detectar cambios en la calidad del suelo antes de que los daños sean irreversibles (Bünemann et al., 2018).

Los indicadores de calidad del suelo se pueden clasificar en químicos, físicos y biológicos, siendo los primeros los más usados, como, por ejemplo, el contenido de carbono orgánico y pH. Dentro de los indicadores biológicos se encuentran las variables microbiológicas (Bünemann et al., 2018, Moebius-Clune et al., 2016). A la

vez, las variables microbiológicas que se usan como indicadores de calidad del suelo, se pueden clasificar por varios criterios, por ejemplo, las técnicas clásicas (como respiración microbiana, biomasa microbiana, enzimas, recuentos) y las técnicas moleculares (tales como secuenciación de ARNr 16S, *T-RFLP-Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism* o *PLFA-Phospholipid Fatty Acid Analysis*) (Bünemann et al., 2018); además, se las puede catalogar de acuerdo al aspecto de la microbiota del suelo que evalúan como actividad, abundancia y diversidad de microorganismos (Frioni, 2011).

### **1.2.1. Indicadores microbiológicos**

Las comunidades de microorganismos del suelo están conformadas principalmente por tres grandes grupos de organismos: bacterias, hongos y protistas, cada uno de los cuales cumple funciones diversas e importantes en la formación y conservación del suelo (Martínez y Escalante, 2020, Frioni, 2011). Comunidades particulares de microorganismos están asociadas a condiciones particulares de textura, pH y concentración de nutrientes (fósforo, nitrógeno y carbono); la biota del suelo es muy sensible a cambios en el ambiente, como los provocados por la actividad agrícola, por lo que podrían servir como buenos indicadores de sostenibilidad (Bünemann et al., 2018, Xu et al., 2017, Islam et al., 2011, Benintende et al., 2007, Mungai et al., 2005).

Las comunidades de microorganismos del suelo afectan a los sistemas agrícolas de diversas maneras, como a través de la descomposición de residuos y la reincorporación de nutrientes que son luego utilizados por las plantas (Martínez y Escalante, 2020, Ferrera Cerrato y Alarcón, 2001, Dick, 1992). La biota edáfica juega un rol central en el funcionamiento del suelo, lo que afecta los ciclos biogeoquímicos y la dinámica de la materia orgánica, por lo que agregar indicadores biológicos y bioquímicos a los físico-químicos puede mejorar la evaluación de la calidad de un suelo (Bünemann et al., 2018, Acosta-Martínez, 2018, Dick, 1992).

La interacción entre los cultivos y la biota del suelo en cuanto al suministro de agua y nutrientes se va a ver favorecida por plantas con sistemas radiculares extensos y por una biota más abundante y diversa (Adhikari et al., 2018). Además, la microbiota incorpora nitrógeno del aire por la fijación biológica de nitrógeno, secuestra carbono en su biomasa, establece relaciones simbióticas que favorecen a los cultivos como las micorrizas y contribuye al control de plagas y enfermedades (Frioni, 2011, Ferrera Cerrato y Alarcón, 2001). También, por supuesto, hay microorganismos con el potencial de ser patógenos para las plantas.

De esta forma, los microorganismos del suelo son capaces de afectar directa e indirectamente la productividad de los cultivos. Por otro lado, el manejo agrícola de los suelos puede provocar impactos en la estructura y funcionamiento de las comunidades microbianas del suelo (Martínez y Escalante, 2020, Nadimi-Goki et al., 2017, Soman et al., 2016, Frioni, 2011, Ferrera Cerrato y Alarcón, 2001, Dick, 1992).

La intensificación del uso del suelo en general resulta en un cambio en la cobertura vegetal y en las entradas de nutrientes al suelo, lo cual tiene el potencial de afectar a las comunidades microbianas que lo habitan (Lu et al., 2018, Xu et al., 2017). Los cambios en las comunidades microbianas por modificaciones en el manejo usualmente se relacionan a variaciones en la cantidad y calidad de sustratos o fuentes carbonadas que llegan al suelo (Reardon y Wuest, 2016, FAO, 2017). También la fertilización afecta a los microorganismos edáficos (Soman et al., 2016, Islam et al., 2011).

La diversidad de cultivos afecta a la diversidad de microorganismos del suelo, cuanto mayor sea la diversidad en las rotaciones, mayor va a ser la riqueza y diversidad de los microorganismos edáficos (Venter et al., 2016, FAO, 2016). Es ampliamente postulado que la disminución de biodiversidad puede tener un impacto sobre la funcionalidad de los ecosistemas, por ejemplo, cuando se pasa de una situación de rotación de cultivos a una de monocultivo (FAO, 2016, Moebius-Clune et al., 2016). La diversidad de cultivos afecta a la microbiota edáfica a través de cambios en las entradas de carbono, como exudados radiculares, tejidos radiculares y residuos vegetales, y a través de asociaciones simbióticas (Martínez y Escalante,

2020, Ai et al., 2018, Xu et al., 2017). Por otro lado, las rotaciones de cultivos promoverían la productividad, no solo por favorecer a la diversidad microbiana del suelo, sino también a través de la supresión de microorganismos deletéreos que prosperan en situaciones de monocultivos (Dick, 1992).

Por todo lo anteriormente mencionado, se deduce la gran importancia del estudio de la funcionalidad de la microbiota edáfica. Debido a la dificultad que significa el estudio de la funcionalidad directamente a campo, se han desarrollado diferentes técnicas que permitan su interpretación a través del estudio del potencial funcional. El concepto de potencial funcional hace referencia, primero, a un potencial, no a un dato real de campo, ya que las determinaciones de las variables se llevan a cabo con protocolos que establecen ciertas condiciones de laboratorio, y, por otro lado, a la funcionalidad de la comunidad, es decir, a su actividad metabólica y no a su diversidad genética, ya que dentro de los microorganismos presentes puede haber algunos que estén activos metabólicamente mientras que otros no (Baraza et al., 2019).

#### **1.2.1.1. Actividades enzimáticas**

En los últimos años, los enfoques para el estudio en los cambios en la diversidad microbiana del suelo debido a cambios en el manejo, con denominaciones de terminación -ómicas, dentro de las cuales se encuentra la enziómica o estudio de las enzimas (además de proteómica, genómica, transcriptómica, metabolómica) han aumentado su uso (Bertola et al., 2021).

Las actividades enzimáticas del suelo han sido descritas por varios autores como indicadores perceptivos a los cambios en el manejo, al responder más rápido que otras variables se han propuesto como indicadores «tempranos» de la actividad biológica del suelo (Ezeokoli et al., 2021, Lu et al., 2018, Acosta-Martinez et al., 2018, Ai et al., 2018, Nadimi-Goki et al., 2017, Reardon y Wuest, 2016, Hai-Ming et al., 2014, Henríquez et al., 2014).



Nadimi-Goki et al. (2017) manifiesta que, en los suelos arroceros, las actividades enzimáticas varían entre sistemas de rotaciones y estados fenológicos del cultivo debido a cambios en la humedad del suelo por riego, pH y carbono orgánico del suelo. Islam et al. (2011) reportan que en los suelos arroceros se puede observar un efecto del régimen de fertilización sobre variables microbiológicas como actividades enzimáticas y diversidad funcional.

### **Deshidrogenasa**

Las deshidrogenasas corresponden a enzimas oxidoreductasas. Estas oxidan la materia orgánica transfiriendo electrones a las coenzimas como  $\text{NAD}^+$  y  $\text{NADP}^+$ ; estas coenzimas reducidas ( $\text{NADH}$  y  $\text{NADPH}$ ) pueden participar en procesos de reducción o biosíntesis. Por lo tanto, la actividad deshidrogenasa es un indicador del sistema biológico redox y puede ser interpretada como una medida de la intensidad del metabolismo microbiano intracelular en suelos (Ujjainiya et al., 2021, Henríquez et al., 2014, Islam et al., 2011, Schinner et al., 1996).

### **$\beta$ -glucosidasa**

La celulosa es el componente orgánico natural más abundante y en su degradación microbiana actúan sinérgicamente por lo menos tres enzimas diferentes; la  $\beta$ -glucosidasa es la última en actuar rindiendo moléculas de glucosa que sirven a los microorganismos como una fuente de energía (Schinner et al., 1996). Esta variable ha sido usada por varios autores para describir la funcionalidad microbiana del suelo (Ezeokoli et al., 2021, Acosta-Martinez et al., 2018, Ai et al., 2018, Nadimi-Goki et al., 2017, Xu et al., 2017, Hai-Ming et al., 2014, Henríquez et al., 2014, Islam et al., 2011).

### **Fosfatasa alcalina**

En la mayoría de los suelos hay una mayor cantidad de fósforo orgánico que inorgánico. Para que las plantas puedan tomar el fósforo, este necesita ser mineralizado por las enzimas fosfatasas (Schinner et al., 1996).

La producción de fosfatasa se induce, en gran medida, por la baja disponibilidad de fósforo (Henríquez et al., 2014). Estas enzimas son excretadas tanto por microorganismos como por las plantas, aunque las que dominan en el suelo son las microbianas (Fernández et al., 2008, Schinner et al., 1996).

Las fosfatasas alcalinas, a diferencia de las ácidas, son producidas exclusivamente por los microorganismos (Tabatabai, 1994) y han sido estudiadas y utilizadas como indicadores de calidad de suelo (Ai et al., 2018, Nadimi-Goki et al., 2017, Hai-Ming et al., 2014, Islam et al., 2011).

### **Ureasa**

El amplio uso de la urea en agricultura hace que sea interesante medir su hidrólisis en el suelo, cuyo proceso es catalizado por la enzima ureasa. Una técnica que normalmente se usa es la determinación del amonio liberado luego de que el suelo es incubado con una solución con urea (Kandeler, 1996). La actividad ureasa del suelo ha sido evaluada como indicador de la funcionalidad microbiana del suelo por algunos autores (Ezeokoli et al., 2021, Henríquez et al., 2014).

### **1.2.1.2. Respiración y biomasa microbiana**

#### **Respiración microbiana**

La respiración microbiana o respiración del suelo puede ser medida como la liberación de CO<sub>2</sub> por parte de los microorganismos que lo habitan (bacterias, hongos, protozoarios), resultante de la degradación de la materia orgánica, siendo la formación de CO<sub>2</sub> el último paso en la mineralización. La respiración puede ser interpretada como una medida de la actividad biológica total del suelo (Schinner et al., 1996). Se ha observado que esta variable se ve afectada por el manejo del suelo y, por lo tanto, es empleada como un indicador microbiológico de su calidad (Moebius-Clune et al., 2016, Amado et al., 2007).

### **Biomasa microbiana**

Las bacterias y los hongos son los microorganismos más abundantes de los suelos. Se ha encontrado que el carbono de la biomasa microbiana corresponde a entre un 1 y un 3 % de del carbono total del suelo, aunque no toda esta biomasa se encuentra activa (Schinner et al., 1996). Esta variable es usada como indicador de calidad del suelo (Lu et al., 2018, Xu et al., 2017, Benintende et al., 2007). Los valores de biomasa microbiana son muy variables entre suelos y condiciones; según Frioni (2011), pueden ir de 300 a 10000 µg/g de suelo. Los valores de carbono inmovilizados en la biomasa microbiana tienen una fuerte correlación con los valores de materia orgánica del suelo (Gómez-Jorrián et al., 2012) y carbono orgánico del suelo (Acosta-Martínez et al., 2018).

#### **1.2.1.3. Perfil metabólico de la comunidad microbiana**

El perfil fisiológico de la comunidad microbiana o, por sus siglas en inglés, *CLPP* (*Community Level of Physiological Profile*) puede ser determinado mediante la utilización de placas Biolog-EcoPlates™ (Biolog Inc., Hayward, CA, EE. UU.), las cuales presentan diferentes sustratos carbonados que son utilizados por los microorganismos heterótrofos aerobios de las muestras ambientales. El nivel de uso de los sustratos es cuantificado a través de la reducción del colorante tetrazolio (Insam y Rangger, 1997, Garland y Mills, 1991).

Las placas cuentan con 31 fuentes carbonadas diferentes y un blanco-control, en tres repeticiones por placa. Este método permite caracterizar a las comunidades microbianas a través de la determinación de la riqueza y diversidad de las fuentes carbonadas metabolizadas (Frąc et al., 2012). La estimación de la diversidad funcional a través del *CLPP* está reportado como un método sensible a cambios en el manejo del suelo (Baraza et al., 2019, Gałazka y Grzadziel, 2018, Xue et al., 2008, Alahmad et al., 2018, Soman et al., 2016, Frąc et al., 2012, Islam et al., 2011).

#### **1.2.1.4. Micorrizas arbusculares y glomalina**

Las micorrizas arbusculares describen un tipo de relación simbiótica entre las raíces de las plantas y hongos del filo *Glomeromycota*. Están muy distribuidas en el reino vegetal y solo algunas especies vegetales no forman micorrizas; se encuentran en plantas cultivadas como gramíneas y leguminosas (Frioni, 2011, Poder, 1996).

Esta asociación está caracterizada por el movimiento de productos carbonados desde la planta al hongo y por una mayor absorción de agua y nutrientes, especialmente fósforo y otros iones poco móviles en suelo, por parte del hongo, debido a un mayor volumen de suelo explorado, lo que favorece a la planta. Además, las micorrizas aportarían a las plantas protección contra estrés biótico y abiótico y regularían la expresión de genes y producción de hormonas. Las micorrizas también favorecen al suelo, ya que mejoran la estructura de este y proveen hábitats a otros microorganismos como bacterias, que también suministran promotores del crecimiento y servicios de bioprotección a las plantas (Brito et al., 2021, Smith y Read, 2008).

Las micorrizas son la simbiosis entre hongo y planta más antigua y expandida del mundo. Por su importante presencia en los suelos y su rol en el equilibrio de los ecosistemas, son mencionadas como organismos relevantes para la sostenibilidad agrícola (Brito et al., 2021, Castillo et al., 2016, Moebius-Clune et al., 2016).

Las micorrizas arbusculares se forman por la invasión de hongos a las raíces. Estos hongos pueden sobrevivir en el suelo de forma saprófita o como esporas y, luego que se desarrolla la simbiosis, se observan tanto hifas (no tabicadas) intercelulares como hifas que penetran las células de la corteza. Si la colonización es completa, también se observan hifas extracelulares; además, aparecen en las raíces otras estructuras fúngicas como vesículas (con función de almacenamiento o reserva), arbusculos (donde se da el intercambio de nutrientes) y esporas reproductivas (Smith y Read, 2008). La colonización micorrízica se ve afectada por varios factores; en este sentido, se ha demostrado que altos niveles de fósforo se relacionan con bajos niveles de micorrización (Temagne et al., 2017); además,

cambios en el uso del suelo también pueden afectar la colonización (Rodríguez-Blanco y Giménez, 2019, García et al., 2017, Trejo et al., 2015).

La infectividad y efectividad micorrízica se pueden evaluar en un ensayo de macetas en el laboratorio con suelos y plantas hospederas de interés, mediante la determinación del potencial micorrízico infectivo, de acuerdo a la cantidad de propágulos capaces de micorrizar que tiene el suelo y la determinación del crecimiento vegetal debido a la micorrización como la biomasa producida por las plantas (Trejo et al., 2015).

Las hifas de las micorrizas contribuyen a la estabilidad de los agregados del suelo, como las sustancias húmicas, ya que ambos funcionan como cementantes de las partículas (Smith y Read, 2008). Las hifas de los hongos micorrízicos se consideran importantes en la estabilidad de la estructura del suelo; contienen glucoproteínas denominadas glomalina. Estas sustancias se van acumulando en el suelo por la deposición de restos de hifas (Prasad et al., 2018, Smith y Read, 2008).

Se ha estudiado y observado que el contenido de glomalina de los suelos varía con los diferentes manejos agrícolas (Dai et al., 2015, Rillig et al., 2003). También existe cierta controversia con respecto a la metodología para la determinación de la glomalina presente en los suelos, ya que se extrae con *buffer* citrato junto con sustancias húmicas, por lo que el *glue effect* reportado que se le adjudica podría también ser por el humus (Redmile-Gordon et al., 2013, Da Silva Sousa et al., 2012).

### 1.3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

**Hipótesis:** la intensidad de uso del suelo en las rotaciones arroceras afecta al potencial funcional de la comunidad microbiana edáfica.

**Objetivo general:** evaluar el impacto de la intensificación en las rotaciones arroceras sobre el potencial funcional de la comunidad microbiana.

**Objetivos específicos:** 1) evaluar algunas variables microbianas edáficas, sobre todo relacionadas al ciclo del carbono, previo a la siembra de arroz y previo a la cosecha de arroz, en 4 rotaciones con diferentes intensidad de uso del suelo de la «Plataforma de Largo plazo de Arroz, Pasturas y Otros Cultivos» de INIA Treinta y Tres; 2) determinar si alguna de las variables microbianas evaluadas responde a la intensificación en los momentos considerados y 3) estudiar correlaciones entre las variables microbiológicas evaluadas y también con otras químicas y productivas como rendimiento.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1. ROTACIONES ARROCERAS EVALUADAS DE LA «PLATAFORMA DE LARGO PLAZO ARROZ, PASTURAS Y OTROS CULTIVOS» DE INIA TREINTA Y TRES

Esta plataforma fue establecida en 2012 en Paso de la Laguna, departamento de Treinta y Tres, Uruguay (coordenadas 33°16'29''W, 54°10'37''S), por lo que es un experimento joven que actualmente se encuentra estabilizado. Los suelos dominantes se clasifican como *Argialbolls* según la taxonomía de suelos de USDA (Macedo et al., 2021b). El diseño experimental es de tres bloques definidos por altura, pendiente y gradiente de contenido de sodio del suelo. Las parcelas poseen un tamaño de 60 x 18 m. Se encuentran todas las etapas de las rotaciones al mismo tiempo. La historia del predio previa a la instalación del ensayo es de 34 años de rotación arrocera clásica (Macedo et al., 2021b).

Se estudió el suelo desde el punto de vista del potencial funcional microbiano de cuatro rotaciones con diferente intensidad de uso del suelo de la plataforma (cuadro 1): 1) arroz-pradera larga o rotación clásica (APL): primer arroz, puente verde de trébol alejandrino, segundo arroz, pradera de 3,5 años de festuca (*Festuca arundinacea*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y lotus (*Lotus corniculatus*); 2) arroz-soja-pradera larga (ASPL): primer arroz, puente verde de raigrás (*Lolium multiflorum* Lam.), primera soja (*Glicine max* L), puente verde de raigrás, segunda soja, puente verde de raigrás, segundo arroz, pradera de 2,5 años de festulolium (*Festulolium*) y lotus; 3) arroz-soja continuo (ASC): arroz, puente verde de trébol alejandrino, soja, puente verde de raigrás y 4) arroz continuo (AC): arroz (*Oryza sativa* L.), puente verde de trébol alejandrino (*Trifolium alexandrinum*).

**Cuadro 1.** Rotaciones evaluadas de la «Plataforma de Largo plazo Arroz, Pasturas y Otros Cultivos» del INIA Treinta y Tres, en Paso de la Laguna

año	1		2		3		4		5		6		
rotación	pv	ot	pv	ot	pv	ot	pv	ot	pv	ot	pv	ot	
APL	arroz 1	PV	arroz 2	PL: festuca + trébol blanco + lotus									
ASPL	arroz 1	PV	soja 1	PV	soja 2	PV	arroz 2	PL: festulolium + lotus					
ASC	arroz	PV	soja	PV									
AC	arroz	PV											

Primavera (pv), otoño (ot), puente verde (PV), pradera larga (PL), arroz-pradera larga o rotación clásica (APL), arroz-soja-pradera larga (ASPL), arroz-soja continuo (ASC), arroz continuo (AC).

### 2.1.1. Intensidad de uso del suelo en las rotaciones evaluadas

Existen diferencias en cuanto a la intensidad de las rotaciones evaluadas, lo cual se puede observar determinando el porcentaje de veranos con agricultura en relación con el porcentaje de veranos con praderas (cuadro 2). Las rotaciones más intensivas son las de agricultura continua, tanto arroz continuo (rotación AC) como arroz-soja continuo (rotación ASC) que presentan el 100 % de los años con cultivos agrícolas en verano. Por otro lado, las rotaciones menos intensivas son las rotaciones arroz-pradera larga (rotación APL) y arroz-soja-pradera larga (rotación ASPL); estas últimas presentan 40 % y 66 % de los años con cultivos, respectivamente (Macedo et al., 2016). Las diferencias en cuanto a la intensidad también se pueden observar en las dosis de fertilizantes que se utilizan en cada rotación; la rotación de arroz continuo es la que mayores dosis utiliza durante el cultivo de arroz (cuadro 3). Cabe mencionar que la fertilización nitrogenada se hace luego de establecido el cultivo, en varias etapas.

Al mismo tiempo, existen diferencias en cuanto a las especies utilizadas de cultivos agrícolas (arroz y soja), pasturas perennes (festuca, trébol blanco, lotus, festulolium) y puentes verdes para cobertura invernal del suelo (trébol alejandrino y raigrás).



**Cuadro 2.** Intensidad en rotaciones arroceras evaluadas

Rotación	% veranos con arroz	% veranos con cultivos (arroz o soja)	% veranos con praderas
APL	40 %	40 %	60 %
ASPL	33 %	66 %	33 %
ASC	50 %	100 %	0 %
AC	100 %	100 %	0 %

Arroz-pradera larga (APL), arroz-soja-pradera larga (ASPL), arroz-soja continuo (ASC), arroz continuo (AC).

**Cuadro 3.** Dosis de fertilizantes utilizadas durante el cultivo de arroz como % de N-P/psoluble-K

Tratamiento	0-46/46-0 (kg/ha)	0-0-60 (kg/ha)	46-0-0 (kg/ha)
APL-Az1			147
APL-Az2	22	138	220
ASPL-Az1	22	69	155
ASPL-Az2			170
ASC-Az	64	89	170
AC-Az	110	160	300

Datos de manejo en zafra 2018-19, comunicación personal A. Bordagorry - INIA Treinta y Tres, 6 de setiembre de 2019. Primer arroz de la rotación de arroz-pradera larga (APL-Az1), segundo arroz de la rotación de arroz-pradera larga (APL-Az2), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-Az1), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-Az2), arroz de la rotación arroz soja continuo (ASC-Az), arroz de la rotación arroz continuo (AC-Az).

## 2.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS MUESTREOS

Se muestreó el suelo dos veces previo a la siembra de arroz (primer y tercer muestreo) durante pasturas perennes o puentes verdes (que corresponden a coberturas invernales) en barbecho químico, es decir quemados con herbicidas; y una vez previo a la cosecha de arroz (segundo muestreo) con el campo recientemente drenado.

Los momentos de muestreo se seleccionaron para evaluar cómo llegaba el suelo a la siembra de arroz y cómo quedaba luego del cultivo. Estos muestreos corresponden a las estaciones de primavera y otoño, evitando las temperaturas extremas de verano e invierno que pueden perturbar a las comunidades de microorganismos. Los muestreos se realizaron en 2 años consecutivos de las rotaciones (2019 y 2020), determinándose 6 tratamientos por muestreo. El cuadro 4 resume las características de los muestreos realizados.

Se tomaron muestras aleatorias con taladro, compuestas de 15 cilindros de los primeros 15 cm, zona del suelo que posee mayor actividad microbiana, debido a que es donde hay mayor acumulación de materia orgánica y mayor aireación (Moebius-Clune et al., 2016).

**Cuadro 4.** Características de los muestreos realizados

Muestreo y fecha	Momento	Fase de la rotación	Tratamientos	Bloques
<b>1.º muestreo</b> 10 de octubre de 2019	Previo a la siembra de arroz	Praderas o puentes verdes quemados con herbicidas	APL-PL(Az1) APL-PV(Az2) ASPL-PL(Az1) ASPL-PV(Az2) ASC-PV(Az) AC-PV(Az)	1, 2 y 3
<b>2.º muestreo</b> 4 de abril de 2020	Previo a la cosecha de arroz	Cultivo de arroz próximo a cosecharse	APL-Az1 APL-Az2 ASPL-Az1 APL-Az2 ASC-Az AC-Az	1, 2 y 3
<b>3.º muestreo</b> 9 de octubre de 2020 (suelo y biomasa vegetal de praderas)	Previo a la siembra de arroz	Praderas o puentes verdes quemados con herbicidas	APL-PL(Az1) APL-PV(Az2) ASC-PV(Az) AC-PV(Az)	1 y 2

Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), Arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).

### 2.3. VARIABLES EVALUADAS

Para las determinaciones en laboratorio, el suelo muestreado fue aireado y pasado por un tamiz de 2 mm y luego guardado en heladera a 4 °C para su conservación (Moebius-Clune et al., 2016). Las determinaciones realizadas en cada muestreo aparecen en el cuadro 5.

**Cuadro 5.** Determinaciones realizadas en cada muestreo

<b>Muestreo</b>	<b>Determinaciones</b>
<b>1.<sup>er</sup> muestreo</b>	enzimas (deshidrogenasa, $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa alcalina, ureasa), respiración, biomasa microbiana, pH, amonio, fósforo disponible, glomalina fácilmente extraíble, CLPP-BiologEcoPlates
<b>2.<sup>do</sup> muestreo</b>	enzimas (deshidrogenasa, $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa alcalina, ureasa), respiración, pH, amonio, CLPP-BiologEcoPlates, ensayo de micorrización (biomasa vegetal y colonización)
<b>3.<sup>er</sup> muestreo</b>	ureasa, respiración, amonio, carbono activo, ensayo de mineralización (deshidrogenasa, $\beta$ -glucosidasa y respiración)

### **2.3.1. Actividades enzimáticas**

#### **2.3.1.1. Deshidrogenasa**

Para la determinación de este grupo de enzimas, se aplicó un método colorimétrico, en el que se utiliza la medida espectrofotométrica del INTF (iodonitrotetrazolioformazán) producido por la reducción del INT (2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-feniltetrazolio) que se obtiene al utilizar el INT como sustrato cuando se pone a incubar el suelo en un medio tamponado y en oscuridad; como control, se usa un suelo esterilizado en autoclave (Von Mersi, 1996).

A 1 g de suelo se le agregó 1,5 ml de *buffer* Tris 1 M pH 7 y 2 ml de solución de sustrato INT. Para la preparación de la solución del sustrato, a 500 mg de INT se agregaron 2 ml de N-n-dimetilformamida para su dilución y a continuación se llevó a 100 ml con agua destilada en matraz aforado.

Los tubos se incubaron en oscuridad durante 2 horas a 40 °C. Luego de la incubación, se les agregaron 10 ml de acetona comercial y se dejaron en oscuridad y a temperatura ambiente 1 hora agitando cada 20 minutos. Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 3 minutos. Seguidamente, se midió el INTF en el espectrofotómetro a 464 nm, estableciendo un blanco de acetona. Por cada muestra se realizaron dos repeticiones.

La actividad deshidrogenasa se expresó en  $\mu$ g de INTF por gramo de suelo seco por hora, calculada a través de una interpolación del dato del espectrofotómetro en una curva realizada con diferentes concentraciones conocidas de INTF.

### **2.3.1.2.β-glucosidasa**

Para esta determinación se utilizó un método colorimétrico que se basa en la determinación espectrofotométrica del p-nitrofenol liberado cuando el suelo es incubado con una solución tamponada de p-nitrofenil-β-D-glucopiranososa (Tabatabai, 1994).

A 1 g de suelo se le agregó 1 ml de solución sustrato p-nitrofenil-β-D-glucopiranososa 25 mM y 4 ml de *buffer* universal modificado. Se incubó 1 hora en baño a 37 °C. A continuación, se le agregó 1 ml de CaCl<sub>2</sub> 0,5 M y 4 ml de *buffer* Tris 100 mM pH 12. Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 3 minutos. Luego, se midió la concentración de p-nitrofenol en el espectrofotómetro a 415 nm, estableciendo un blanco con los reactivos usados. Por cada muestra se realizaron dos repeticiones. Para los controles se agregó la solución sustrato luego de la incubación (Tabatabai, 1994, Eivazi y Tabatabai, 1988).

La actividad β-glucosidasa se expresó en µg de p-nitrofenol por gramo de suelo seco por hora, calculada a través de una interpolación del dato del espectrofotómetro en una curva realizada con diferentes concentraciones conocidas de p-nitrofenol.

### **2.3.1.3.Fosfatasa alcalina**

Para esta determinación se utilizó un método colorimétrico que también se basa en la determinación espectrofotométrica del p-nitrofenol liberado, pero cuando el suelo es incubado con una solución tamponada de p-nitrofenilfosfato (Tabatabai, 1994).

A 1 g de suelo se le agregó 1 ml de solución de p-nitrofenilfosfato y 4 ml de *buffer* alcalino pH 11. Para la preparación de la solución del sustrato, se disolvieron 0,4268 g de p-nitrofenilfosfato en *buffer* para fosfatasa alcalina pH 11 y se llevó a 100 ml en matraz aforado. Las muestras se incubaron 1 hora en baño con agitación a 37 °C. A continuación, se le agregó 1 ml de CaCl<sub>2</sub> 0,5 M y 4 ml de NaOH 0,5 M. Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 3 minutos. Posteriormente, se midió la

concentración de p-nitrofenol en el espectrofotómetro a 400 nm, estableciendo un blanco con los reactivos usados. Por cada muestra se realizaron dos repeticiones. En los controles se agregó la solución sustrato luego de la incubación.

La actividad fosfatasa alcalina se expresó en  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol por gramo de suelo seco por hora, calculada a través de una interpolación del dato del espectrofotómetro en una curva realizada con diferentes concentraciones conocidas de p-nitrofenol.

#### **2.3.1.4.Ureasa**

La determinación de la actividad de esta enzima se realizó en dos pasos, primero se puso a incubar el suelo con una solución de urea, junto a un control con agua (Kandeler, 1996) y posteriormente se determinó colorimétricamente la cantidad de amonio de los filtrados por el método de azul de indofenol (FAO, 2008).

A 5 g de suelo se le agregaron 2,5 ml de solución de urea 79,9 mM, que se incubó por 2 horas a 37 °C. A los controles se les agregó 2 ml de agua. A continuación de la incubación, se les añadió 50 ml de KCl 2 M y se agitó por 30 minutos a 200 rpm para extraer el amonio del complejo de intercambio y dejarlo en solución. Consecutivamente, se filtraron con papel Whatman número 42. Para la determinación del amonio en solución, se usó el método azul de indofenol midiendo en el espectrofotómetro a 660 nm (FAO, 2008).

La actividad ureasa se expresó en  $\mu\text{g}$  de  $\text{NH}_4^+$  por gramo de suelo seco por hora, calculada a través de una interpolación del dato del espectrofotómetro en una curva realizada con diferentes concentraciones conocidas de amonio.

## **2.3.2. Respiración microbiana y carbono de la biomasa microbiana**

### **2.3.2.1. Respiración microbiana por titulación**

Esta variable se cuantificó mediante la determinación del CO<sub>2</sub> liberado, producto de la mineralización por los microorganismos del suelo, cuando el suelo se puso a incubar en condiciones controladas de temperatura y humedad por un lapso de tiempo determinado (Ohlinger, 1996a).

Se pesaron 25 g de suelo que se llevaron a 60 % de capacidad de campo y se dispusieron en una bolsita de nylon perforada colgada en el interior de una botella con 20 ml de solución NaOH 0,05 M, sin estar en contacto. Como controles se usaron bolsitas vacías. A continuación, las botellas con el suelo se cerraron herméticamente y se incubaron por 4 días a 25 °C. Durante la incubación, el CO<sub>2</sub> liberado por la respiración reacciona con el NaOH formando carbonato de sodio. Posteriormente de la incubación, se agregaron 2 ml de BaCl<sub>2</sub> 0,5 M, lo cual convierte al carbonato de sodio en carbonato de bario insoluble. Se agregaron unas gotas del indicador de pH fenolftaleína para hacer la titulación con HCl 0,1 M y determinar el remanente de NaOH en la solución. Por último, con una fórmula se estableció la cantidad de CO<sub>2</sub> respirado por gramo de suelo seco por día, según el coeficiente que aparece en Ohlinger (1996a) y corrigiendo por el índice de humedad del suelo:

$$\frac{(C - S) \times 2,2}{SW}$$

C = ml de HCl consumido por control

S = ml de HCl consumido por muestra

2,2 = factor de conversión

SW = peso inicial del suelo

### **2.3.2.2. Carbono de la biomasa microbiana por fumigación-extracción**

Para la determinación de esta variable, se utilizó el método de fumigación-extracción según Ohlinger (1996b). Se pesaron 12,5 g de suelo, por duplicado, que se dispuso en placas de Petri. Una de las placas se puso en un desecador para ser fumigada con cloroformo; esto genera que las células de la biomasa se mueran y se genere lisis celular lo que hace que el carbono orgánico pueda ser extraído, lo que se logra agregando 62,5 ml de solución de  $K_2SO_4$  0,5 M y poniendo en agitación a 140 rpm durante 30 minutos, para seguidamente ser filtrado con papel Whatman número 42. El mismo procedimiento se realiza para la placa control que quedó en condiciones atmosféricas normales.

Seguidamente, a partir de la diferencia en el carbono orgánico de los extractos, determinado por el método modificado de Mebius de digestión con  $H_2SO_4$  y  $K_2CrO_7$  (Dos Santos Rheinheimer et al., 2008, Mebius, 1960), se calculó la biomasa microbiana de acuerdo al coeficiente de conversión de carbono orgánico extraído a biomasa microbiana según Ohlinger (1996b):

$$\frac{S - C}{0,35}$$

S = valor de C orgánico de muestras

C = valor de C orgánico de control

0,35 = factor de conversión

### **2.3.3. Perfil fisiológico de la comunidad microbiana**

Previo a la realización de la técnica, se efectuó un recuento de cultivables en placas a través del método de diluciones seriadas, para asegurarse de inocular las placas Biolog con una concentración de microorganismos heterótrofos aerobios equivalente para cada uno de los tratamientos.

Para la realización de la técnica propiamente dicha, se preparó una suspensión de suelo con 10 g de suelo y 90 ml de NaCl 0,85 %p/v estéril que se puso a agitar a

temperatura ambiente por 30 minutos a 200 rpm. A continuación, se dejó decantar por 10 minutos. Seguido de esto, se realizó una dilución tomando 3 ml del sobrenadante y agregándolo en 27 ml de solución de NaCl 0,85 %p/v estéril. Con una pipeta multicanal se tomaron 125  $\mu$ L de la muestra diluida para inocular cada pocillo de la placa Biolog-EcoPlates™ (Biolog Inc., Hayward, CA, EE. UU.).

La placa se incubó a 25 °C durante 4 días. La información se registró en un lector de placas a 595 nm cada 24 horas, hasta las 96 horas. Es decir a tiempo 0 ( $t_0$ ) = 0 horas, tiempo 1 ( $t_1$ ) = 24 horas, tiempo 2 ( $t_2$ ) = 48 horas, tiempo 3 ( $t_3$ ) = 72 horas y tiempo 4 ( $t_4$ ) = 96 horas.

Las placas Biolog-EcoPlates™ contienen 96 pocillos, con 31 fuentes carbonadas diferentes liofilizadas, más un pocillo control con agua, en 3 réplicas. El colorante violeta de tetrazolio es un colorante indicador redox que cambia de incoloro a púrpura al formarse formazán y es usado como solución indicadora de la velocidad de utilización de los sustratos por los microorganismos (Baraza et al., 2019, Insam y Rangger, 1997).

La respuesta microbiana en cada placa se expresó como el promedio de desarrollo de color de pocillo (*Average Well-Color Development, AWCD*) y es determinada como:  $AWCD = \sum ODi/31$ , siendo  $ODi$  = valor de densidad óptica (*Optical Density*) para cada pocillo, corregido restando el pocillo control (inoculado pero sin fuente carbonada). Luego, los valores de *AWCD* fueron normalizados por placa.

El *AWCD* se estudió para cada tiempo, determinando en cuál de estos existía la mayor diferencia entre tratamiento. También el *AWCD* se graficó y se analizó el área debajo de la gráfica, que corresponde a la actividad en el tiempo de incubación, y la pendiente de la regresión lineal de la gráfica (desde tiempo 1 a 4), que corresponde a la velocidad de uso del sustrato.

Seguidamente, con los datos de *OD* de cada pocillo se realizaron otros análisis: 1) la riqueza, que se calculó como el número de fuentes carbonadas oxidadas, estableciendo un valor *cut off* o valor límite de densidad óptica de 0,25 (Alahmad et al., 2018); 2) la suma de los valores de *OD* de cada grupo de sustratos: aminas,



aminoácidos, carbohidratos, ácidos carboxílicos, polímeros y fenólicos (Frac et al., 2012); 3) el análisis multivariado de tipo *NM-MDS (Non-Metric Multi-Dimensional Scaling)* para observar agrupación de tratamientos y los test de *ANOSIM* y *PERMANOVA* para determinar diferencias entre grupos y 4) se calcularon índices equitatividad (*Equitability* y *Evenness*) y diversidad (Shannon) según lo especificado en el manual del software Past (Hammer, 2020).

#### **2.3.4. Variables químicas del suelo**

##### **pH**

Para la determinación de la acidez del suelo, se mezclaron 20 g de suelo con 50 ml de agua destilada y se agitó por 3 minutos. Se midió con pHímetro en agitación hasta que el valor se estabilizara (Beretta et al., 2014).

##### **Amonio**

Se extrajo el amonio de las muestras de suelo mezclando 5 g de éste con 50 ml de solución de KCl 2 M que se puso en agitación a 200 rpm durante 30 minutos. Luego, la determinación del amonio de los extractos fue realizada por el método azul de indofenol midiendo en el espectrofotómetro a 660 nm (FAO, 2008).

##### **Fósforo disponible**

La técnica utilizada para la determinación del fósforo disponible fue el método con ácido cítrico. Dicho análisis fue realizado por el Laboratorio de análisis de suelos, plantas y agua de INIA La Estanzuela, departamento de Colonia, Uruguay.

##### **Carbono activo**

La determinación del carbono activo, que corresponde a las fracciones lábiles del carbono del suelo, se hizo por el método de oxidación con permanganato de potasio (Moebius-Clune et al., 2016, Weil et al., 2003).

## **2.4. ESTUDIO DE MICRORRIZAS ARBUSCULARES**

### **2.4.1. Ensayo de micorrización**

Para la instalación del ensayo, se mezcló 125 g de suelo de los diferentes tratamientos, extraídos durante el segundo muestreo, antes de la cosecha de arroz, con 125 g de arena estéril; luego, se colocaron los 250 g de la mezcla de suelo y arena en macetas desinfectadas con hipoclorito de sodio al 10% y se sembró con semillas, también desinfectadas con alcohol al 70% e hipoclorito de sodio al 3,5%, de trébol blanco y raigrás; se realizaron 4 repeticiones por suelo muestreado. Las macetas se colocan en la cámara de crecimiento a 23 °C con fotoperíodo de 12 horas de luz y 12 horas de oscuridad. Posteriormente de la germinación, se dejaron 2 plantas de cada especie.

Las macetas se regaron con agua y solución nutritiva Hoagland (con 50 % de fósforo) por 3 meses y se mantuvieron a 60 % de capacidad de campo. Se cosecharon la parte aérea de las plantas para la determinación de la biomasa (efectividad) y las raíces para determinar el porcentaje de colonización micorrízica (infectividad).

Las raíces se decoloraron exponiéndolas 24 horas a KOH 10 % p/v y, posteriormente, se tiñeron con azul tripán en vinagre 0,05 % p/v en baño a 100 °C por 20 minutos. Se cortaron 30 trozos de raíces teñidas, de aproximadamente 1 cm de largo, y se observaron 90 campos al microscopio óptico a 10X y 40X contabilizando las estructuras micorrízicas interceptadas como arbusculos, vesículas, hifas y esporas, con lo que posteriormente se calculó el porcentaje de colonización micorrízica (Walker, 2005, Covacevich et al., 2001, Vierheilig et al., 1998).

### **2.4.2. Glomalina fácilmente extraíble**

El procedimiento consistió en la extracción de las glucoproteínas mezclando 1 g de suelo con 8 ml de *buffer* citrato de sodio 20 mM pH 7, autoclavando los tubos a

121 °C por 30 minutos y centrifugándolos 5000 rpm por 15 minutos, 1 ciclo solamente (Dai et al., 2015, Rillig et al., 2003).

Se cuantificaron las proteínas del sobrenadante por el método del ácido bicinonínico (BCA) utilizando el kit comercial Sigma-Aldrich® (Bicinchoninic Acid Protein Assay Kit). Se efectuó una curva de calibración con diferentes concentraciones de albúmina bovina sérica (Reyna y Wall, 2013).

## **2.5. MINERALIZACIÓN DE RESIDUOS VEGETALES**

### **2.5.1. Ensayo de mineralización**

Este ensayo se realizó con el objetivo de estudiar el comportamiento de las comunidades microbianas presentes en los suelos de los diferentes tratamientos al mezclarse con diferentes residuos vegetales provenientes también de los distintos tratamientos durante la fase de pasturas previo a ser sembrado el arroz. Se utilizaron muestras de suelo y residuo vegetal quemado con herbicida, sacadas durante el tercer muestreo, previo a la siembra de arroz. En cada uno de los 4 tratamientos se tomaron 5 muestras aleatorias de residuo vegetal con un marco de 0,2 x 0,4 m, lo que formó una muestra compuesta. Luego, la biomasa fue secada y molida a 2 mm.

Se realizaron distintas mezclas de suelo y residuo vegetal en relación de peso 10:1 (75 g de suelo con 7,5 g de biomasa vegetal) haciendo diferentes combinaciones de suelo y residuos vegetales de puente verde (PV) o pradera larga (PL) de los 4 tratamientos originales, lo que generó 10 tratamientos nuevos (cuadro 6). Las mezclas se colocaron en vasos y se incubaron a 24 °C manteniéndose a 60 % de capacidad de campo hasta el día 43 en el que se inundó los vasos y se mantuvieron por 7 días más hasta la cosecha a los 50 días. Se llevaron a cabo determinaciones destructivas a los 25 y 50 días, de enzimas deshidrogenasa y  $\beta$ -glucosidasa y de respiración microbiana.

**Cuadro 6.** Tratamientos del ensayo de mineralización obtenidos con la mezcla de suelos y residuos vegetal

<b>Tratamiento del ensayo</b>	<b>Suelo</b>	<b>Residuo vegetal</b>
<b>1</b>	AC-PV(Az)	AC-PV(Az)
<b>2</b>	ASC-PV(Az)	ASC-PV(Az)
<b>3</b>	APL-PL(Az1)	APL-PL(Az1)
<b>4</b>	APL-PV(Az2)	APL-PV(Az2)
<b>5</b>	AC-PV(Az)	APL-PL(Az1)
<b>6</b>	APL-PL(Az1)	AC-PV(Az)
<b>7</b>	ASC-PV(Az)	APL-PL(Az1)
<b>8</b>	APL-PV(Az2)	ASC-PV(Az)
<b>9</b>	APL-PL(Az1)	ASC-PV(Az)
<b>10</b>	ASC-PV(Az)	APL-PV(Az2)

Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

### **2.5.2. Análisis químico de residuos vegetales**

Los residuos vegetales de los barbechos químicos se mandaron a analizar químicamente al Laboratorio de nutrición animal y evaluación de alimentos de Facultad de Agronomía (Udelar) en cuanto a cenizas (C), proteína cruda (PC), fibra detergente neutro con amilasa y corregido por cenizas (aFDNmo), fibra detergente ácido corregida por cenizas (FDAmo) y lignina detergente ácido (Ligas). Los resultados se expresan porcentaje en base seca.

## **2.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

### **2.6.1. Diseño experimental y modelos**

El diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar. Las variables con distribución normal fueron analizadas utilizando un modelo general lineal. Para identificar diferencias entre tratamientos, se usó el análisis de la varianza (ANAVA) asumiendo un nivel de significancia de  $\alpha = 0,10$ . Para la comparación de

las medias, se usó el test de Tukey con el mismo  $\alpha = 0,10$ . La variable riqueza fue normalizada a través de una transformación logarítmica (Ln).

Por otro lado, para las variables porcentaje de colonización micorrízica y porcentaje de arbusculos, se utilizó un modelo lineal generalizado mixto, ya que los datos se ajustaban a una distribución de la familia Poisson. Para la comparación de las medias, se usó un test de LSD Fisher asumiendo un nivel de significancia de  $\alpha = 0,10$  en el programa InfoStat (Di Rienzo et al., 2017).

También se estudiaron correlaciones de Pearson entre las diferentes variables evaluadas y otras productivas como rendimiento de arroz.

### **2.6.2. Análisis multivariados**

Estos análisis exploratorios se usaron con el objetivo de reducir el número de variables originales, analizar los datos por grupos y observar si había diferencias entre éstos.

Los análisis multivariados usados fueron: escalamiento multidimensional no métrico o *Non metric multidimensional scaling (NM-MDS)*, *ANOSIM (Analysis of Similarities)*, *PERMANOVA (Non-Parametric MANOVA)* y análisis de componentes principales o *Principal component analysis (PCA)*, según las recomendaciones para el programa Past4.0 que aparecen en Hammer (2020).

### **2.6.3. Programas usados**

Para los análisis estadísticos y elaboración de gráficos, se usaron los softwares de libre acceso InfoStat y Past4.0. Además, se usaron planillas de cálculo y gráficos de Microsoft-Excel 2013.

### **3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

#### **3.1. EVALUACIÓN DE VARIABLES MICROBIOLÓGICAS EN ROTACIONES ARROCERAS PREVIO A LA SIEMBRA DE ARROZ**

##### **3.1.1. Actividades enzimáticas, respiración y biomasa microbiana**

De las cuatro actividades enzimáticas evaluadas previo a la siembra de arroz en los suelos de las distintas rotaciones, solo se observaron diferencias significativas entre tratamientos en la actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa (cuadro 7). El mayor valor de  $\beta$ -glucosidasa lo presentaron los suelos de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)), que se diferenció de las rotaciones arroz-pradera larga y arroz-soja continuo.

Nadimi-Goki et al. (2017), estudiando rotaciones arroceras, también encontraron una mayor actividad  $\beta$ -glucosidasa en la rotación de arroz continuo. Según los autores, este resultado contrasta con algunos trabajos que afirman que las rotaciones de cultivos aportan mayor materia orgánica que el monocultivo, lo cual hace que se encuentre mayor actividad enzimática en las rotaciones más diversas. Cabe mencionar que, para Ekenler y Tabatabai (2003), la actividad  $\beta$ -glucosidasa también depende de la calidad de los compuestos orgánicos que llegan al suelo y no solo de la cantidad. A simple vista, en el ensayo, se encontró mayor cantidad de restos vegetales en la rotación arroz continuo que en los otros tratamientos; además, Macedo et al. (2021b) encontraron, en el mismo ensayo, que la rotación de arroz continuo produce entre 38 y 40 % más promedio anual de biomasa total (biomasa sobre el suelo más biomasa en el suelo) que las rotaciones arroz-soja continuo y arroz-pradera larga, respectivamente. Además, Macedo et al. (2021b) señalan que la intensificación no hizo disminuir el carbono orgánico del suelo y los niveles de nitrógeno total se mantuvieron en todos los sistemas. También cabe mencionar que cuando se analizaron químicamente los restos vegetales sobre el suelo, en el tercer muestro, se encontraron diferencias entre tratamientos, seprándose en algunos

aspectos el monocultivo de otros tratamientos (cuadro 16), por lo que se puede afirmar que hay diferencias en cuanto a las cantidad y calidad de residuos vegetales, lo cual puede estar afectando la actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa. En este sentido, los tratamientos cuyos restos vegetales tienen mayor porcentaje de fibra detergente ácido (FDAmo%) e igual porcentaje de lignina (Ligas%) (cuadro 16), por lo que son los que tienen mayor porcentaje de celulosa, corresponden, a la vez, a los tratamientos con mayor actividad  $\beta$ -glucosidasa (AC-PV(Az) y ASPL-PV(Az2)).

Lu et al. (2018) observaron un aumento de las actividades enzimáticas y carbono orgánico del suelo en rotaciones de arroz y colza en el largo plazo (30 años) comparada con situaciones de rotaciones arroceras con barbecho en el corto plazo (4 años), por lo que los autores atribuyen una mejora en las propiedades del suelo y un aumento de los rendimientos de arroz a la intensidad de la rotación. Asimismo, los mismos autores no encontraron diferencias entre rotaciones en las actividades enzimáticas evaluadas en el corto plazo (4 años), aunque sí las encontraron en el largo plazo (30 años).

La rotación arroz continuo es una de las rotaciones con mayor dosis de fertilizantes, lo cual puede tener un impacto en la microbiota del suelo (Soman et al., 2016, Islam et al., 2011). Ai et al. (2018) encontraron que mayores dosis de fertilizantes aumentan las actividades enzimáticas, como la de la  $\beta$ -glucosidasa; incluso para enzimas como las fosfatasa encontraron un efecto significativo de la dosis de fertilizante NPK y no de la rotación.

También se puede observar que uno de los tratamientos con menor valor en la actividad  $\beta$ -glucosidasa es el puente verde previo al segundo arroz en la rotación clásica (APL-PV(Az2)), lo cual se podría relacionar a lo mencionado por Macedo et al. (2021b) en cuanto a que puede haber un impacto sobre el suelo del arroz después de arroz y de un efecto de la pradera larga en la rotación arroz-pradera larga. El otro tratamiento con los menores valores de  $\beta$ -glucosidasa corresponde al puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)), que es una de las rotaciones más intensivas, y, conjuntamente, se pudo comprobar que la biomasa

vegetal sobre el suelo cambia su relación C/N cuando viene de un cultivo de soja (cuadro 16).

De los resultados se puede concluir cierta sensibilidad de la variable  $\beta$ -glucosidasa para identificar un manejo de arroz continuo. Varios autores mencionan a la actividad  $\beta$ -glucosidasa como una variable sensible a los cambios en el manejo (Ezeokoli et al., 2021, Acosta-Martinez et al., 2018, Ai et al., 2018, Nadimi-Goki et al., 2017, Xu et al., 2017, Hai-Ming et al., 2014, Henríquez et al., 2014, Islam et al., 2011). Ezeokoli et al. (2021) señalan que es una actividad enzimática que responde, en el corto plazo, más rápido que otras enzimas.

**Cuadro 7.** Media y desvío estándar de actividades enzimáticas de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra del arroz

Tratamiento	Deshidrogenasa ( $\mu\text{g INTF g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	$\beta$ -glucosidasa ( $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Fosfatasa alcalina ( $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Ureasa ( $\mu\text{g N-NH}_4^+$ $\text{g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )
<b>APL-PL(Az1)</b>	24,99 $\pm$ 12,38 a	34,49 $\pm$ 7,34 <b>ab</b>	25,18 $\pm$ 8,01 a	132,58 $\pm$ 9,46 a
<b>APL-PV(Az2)</b>	21,25 $\pm$ 7,59 a	33,78 $\pm$ 11,92 <b>a</b>	26,37 $\pm$ 3,79 a	105,77 $\pm$ 20,80 a
<b>ASPL-PL(Az1)</b>	31,53 $\pm$ 7,47 a	37,53 $\pm$ 8,02 <b>ab</b>	36,14 $\pm$ 9,19 a	113,22 $\pm$ 15,46 a
<b>ASPL-PV(Az2)</b>	26,44 $\pm$ 11,55 a	43,44 $\pm$ 14,12 <b>ab</b>	34,44 $\pm$ 2,07 a	92,84 $\pm$ 29,13 a
<b>ASC-PV(Az)</b>	30,56 $\pm$ 16,96 a	32,47 $\pm$ 10,02 <b>a</b>	33,89 $\pm$ 7,98 a	108,81 $\pm$ 3,04 a
<b>AC-PV(Az)</b>	23,85 $\pm$ 13,82 a	60,27 $\pm$ 10,93 <b>b</b>	28,11 $\pm$ 5,42 a	131,80 $\pm$ 29,66 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), pverde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

Los resultados de respiración microbiana y carbono orgánico de la biomasa microbiana determinado en los suelos de las cuatro rotaciones no presentaron diferencias significativas (cuadro 8). Eso podría explicarse por el hecho de que no existen grandes diferencias en cuanto al carbono orgánico y nitrógeno total del suelo (Martínez y Escalante 2020), lo cual está íntimamente relacionado con la biomasa microbiana (Lu et al., 2018, Acosta-Martinez et al., 2018, Gómez-Jorrián et al., 2012) y respiración microbiana (Amado et al., 2007).



El carbono de la biomasa microbiana es uno de las variables microbiológicas más usadas como indicador de calidad de suelo (Bünemann et al., 2018, Lu et al., 2018, Xu et al., 2017, Ngwira et al., 2012, Benintende et al., 2007). En este trabajo se encontraron una limitante en el método para su determinación, ya que las lecturas espectrofotométricas se hacían en la última cifra del instrumento, por lo que se decidió no calcular coeficientes metabólicos o tasas de actividades enzimáticas.

**Cuadro 8.** Media y desvío estándar de respiración y C de la biomasa microbiana de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz

Tratamiento	Respiración (mg de CO <sub>2</sub> 100 g <sup>-1</sup> suelo seco día <sup>-1</sup> )	C-biomasa microbiana (µg C-microbiano g <sup>-1</sup> suelo seco)
<b>APL-PL(Az1)</b>	4,86±0,82 a	386,58±28,68 a
<b>APL-PV(Az2)</b>	4,79±0,74 a	588,72±148,32 a
<b>ASPL-PL(Az1)</b>	4,70±1,82 a	355,37±244,75 a
<b>ASPL-PV(Az2)</b>	4,89±2,19 a	367,91±163,74 a
<b>ASC-PV(Az)</b>	3,97±0,93 a	485,04±326,10 a
<b>AC-PV(Az)</b>	5,24±1,99 a	212,23±128,63 a

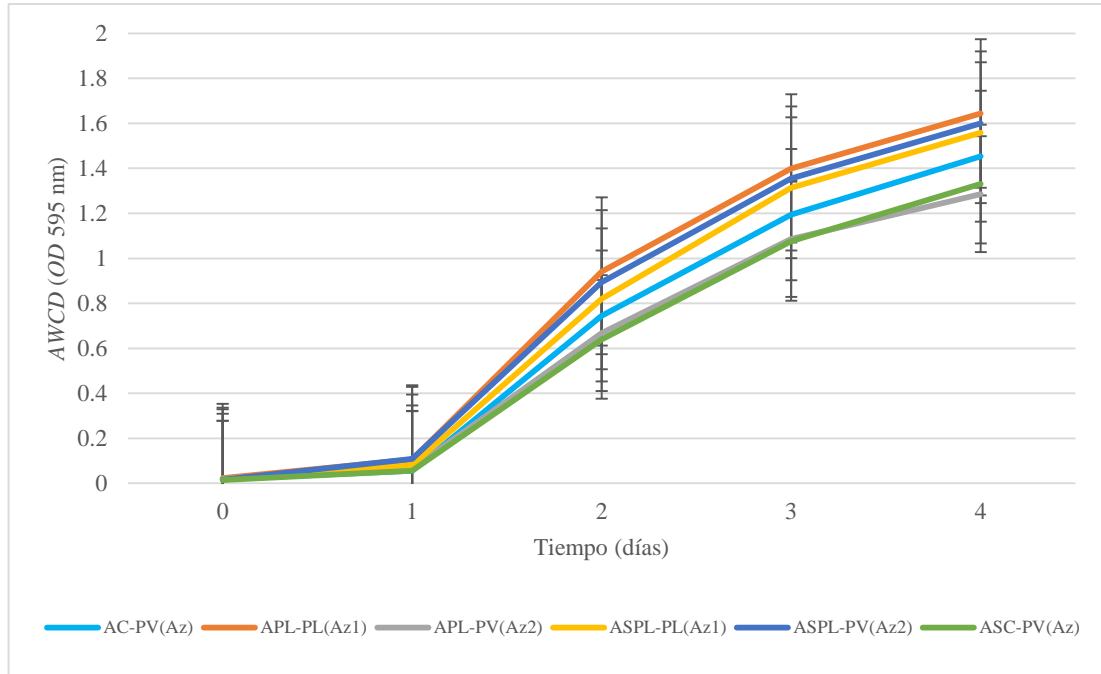
Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

### **3.1.2. Perfil fisiológico de la comunidad microbiana**

En cuanto al perfil fisiológico de la comunidad microbiana obtenido mediante el uso de las placas Biolog, inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz, no se detectaron diferencias entre tratamientos en la actividad media de pocillo (*AWCD*) que representa la respuesta microbiana promedio (figura 1 y cuadro 9). La mayor diferencia entre tratamientos se encontró a tiempo 4 ( $p$ -valor = 0,1548).

En el área debajo de la gráfica, que representa la actividad microbiana en el tiempo de incubación, y en la pendiente de la gráfica que corresponde a la velocidad

de uso de los sustratos, no se encontraron diferencias entre tratamientos (cuadro 9).



**Figura 1.** Gráfica de media y desvío estándar de actividad media de pocillo (*AWCD*) a través del tiempo obtenida con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz. Puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**).

**Cuadro 9.** Actividad media de pocillo (*AWCD*), área debajo de la gráfica del día 0 al 4 (actividad acumulada durante 4 días) y pendiente entre los días 1 y 4 (velocidad de uso de sustratos del período) obtenida con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz

Tratamiento	<i>AWCD</i> t4	Área 0-4	Pendiente 1-4
<b>APL-PL(Az1)</b>	1,64 a	3,28 a	0,51 a
<b>APL-PV(Az2)</b>	1,29 a	2,47 a	0,41 a
<b>ASPL-PL(Az1)</b>	1,56 a	3,00 a	0,49 a
<b>ASPL-PV(Az2)</b>	1,60 a	3,17 a	0,49 a
<b>ASC-PV(Az)</b>	1,33 a	2,45 a	0,47 a
<b>AC-PV(Az)</b>	1,45 a	2,73 a	0,46 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

La riqueza para este caso, es el número de sustratos utilizados estableciendo un *cut off* de valor 0,25 (Alahmad et al. 2018). Por otro lado, la diversidad tiene dos componentes la riqueza, que corresponde al número de sustratos usados, y la equitatividad, que es el grado en el que los diferentes sustratos son similares en cuanto a su abundancia de uso. La riqueza y los índices de equitatividad (*Equitability* y *Evenness*) y diversidad (Shannon) de uso de los diferentes sustratos de las placas Biolog, analizados a tiempo 4, mostraron diferencias significativas entre tratamientos (cuadro 10).

Los tratamientos de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PL(Az1) y ASPL-PV(Az2)) presentaron los mayores valores de riqueza, equitatividad y diversidad. Esta rotación es una de las menos intensivas, presentando 66 % de los años con cultivos (Macedo et al., 2016). Además, combina dos cultivos agrícolas diferentes (arroz y soja), una pradera perenne de 2,5 años de duración con dos especies (*festulolium* y *lotus*) y puentes verdes de raigrás, lo cual podría relacionarse con lo referido en la bibliografía en cuanto a que una mayor diversidad de cultivos conllevaría una mayor diversidad de microorganismos edáficos (Venter et al., 2016, FAO, 2016). La diversidad de cultivos afecta a la microbiota edáfica a través de cambios en las entradas de carbono como exudados radiculares, tejido radicular y residuos vegetales, y a través de asociaciones simbióticas (Martínez y Escalante, 2020, Ai et al., 2018, Xu et al., 2017).

Se podría postular que la rotación arroz-soja-pradera larga, al mostrar los valores más altos de riqueza, equitatividad y diversidad, es la alternativa más sostenible, al menos en términos de diversidad metabólica microbiana. Muchos autores mencionan a la conservación de la biodiversidad, incluida la de la microbiota edáfica, como un punto clave para una producción agrícola sostenible, lo cual implica la conservación de los recursos naturales y servicios ecosistémicos (Adhikari et al., 2018, Soman et al., 2016). FAO (2016) mencionan que la diversificación de especies es una práctica para un manejo sostenible en la agricultura. Se debe tener en cuenta que este resultado se trata de valores obtenidos en un solo muestreo, por lo que debería ser corroborado con posteriores instancias.

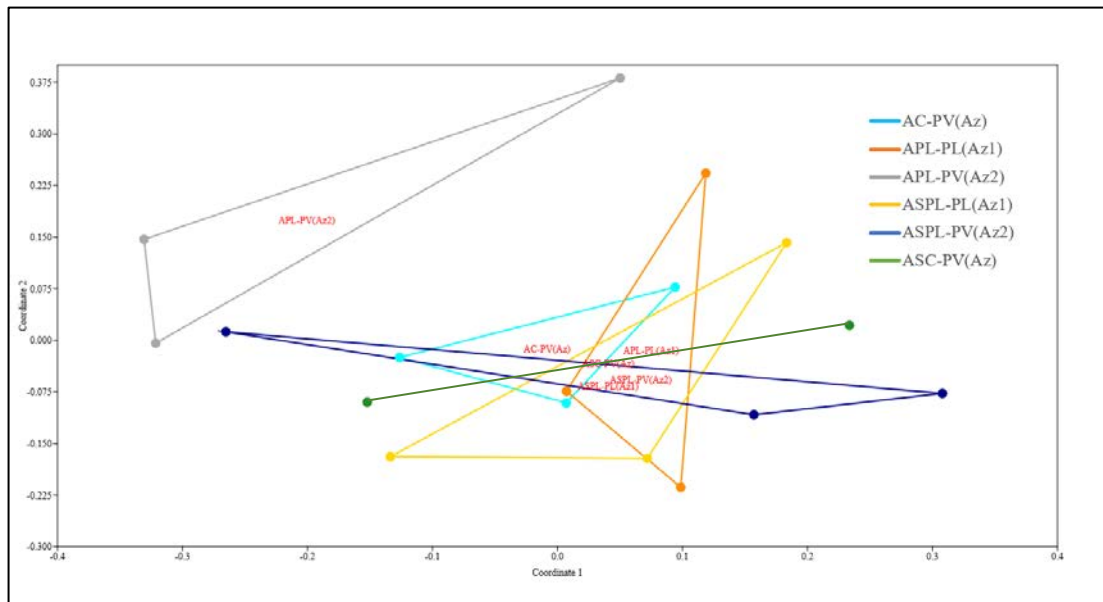
**Cuadro 10.** Riqueza e índices de equitatividad (*equitability* y *evenness*) y diversidad (Shannon) de uso de los diferentes sustratos obtenidos con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz

<b>Tratamiento</b>	<b>Riqueza *</b>	<b><i>Equitability</i></b>	<b><i>Evenness</i></b>	<b>Shannon</b>
<b>APL-PL(Az1)</b>	27,33 <b>ab</b>	0,96 <b>b</b>	0,87 <b>ab</b>	3,29 <b>ab</b>
<b>APL-PV(Az2)</b>	25,67 <b>a</b>	0,93 <b>a</b>	0,80 <b>a</b>	3,21 <b>a</b>
<b>ASPL-PL(Az1)</b>	28,67 <b>b</b>	0,96 <b>b</b>	0,87 <b>b</b>	3,30 <b>b</b>
<b>ASPL-PV(Az2)</b>	28,33 <b>b</b>	0,96 <b>b</b>	0,88 <b>b</b>	3,30 <b>b</b>
<b>ASC-PV(Az)</b>	27,33 <b>ab</b>	0,95 <b>ab</b>	0,83 <b>ab</b>	3,25 <b>ab</b>
<b>AC-PV(Az)</b>	27,33 <b>ab</b>	0,95 <b>ab</b>	0,85 <b>ab</b>	3,27 <b>ab</b>

\* La variable riqueza fue analizada con los datos transformados con el Ln. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

Los valores más bajos de riqueza e índices de equitatividad y diversidad se observaron en el tratamiento correspondiente al puente verde de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)) (cuadro 10), que es un cultivo de cobertura invernal previo a un segundo arroz en la rotación.

El análisis multivariado de tipo *NM-MDS* usando el índice de similitud Bray Curtis (figura 2) mostró que el tratamiento APL-PV(Az2) se separó del resto. Sin embargo, los test de *ANOSIM* y *PERMANOVA*, usando la distancia Bray Curtis, no mostraron diferencias entre tratamientos ( $p$ -valor = 0,4724 y  $p$ -valor = 0,5806, respectivamente).



**Figura 2.** Análisis multivariado de tipo *NM-MDS* obtenidos con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz. Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

En las sumas por grupos de sustratos se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en las aminas ( $p$ -valor = 0,0962) y aminoácidos ( $p$ -valor = 0,069). El tratamiento correspondiente al puente verde de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)) se diferenció del resto, presentando los menores valores en cuanto a aminoácidos. Los mayores valores de sumas de aminoácidos se encontraron para el otro tratamiento de la misma rotación, es decir, para la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)) (cuadro 11). Este resultado indicaría un efecto del cultivo antecesor y no un efecto de la rotación, o sea que hay un impacto de la pradera larga dentro de la rotación.

**Cuadro 11.** Valores de sumas por grupos de sustratos obtenidos con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz.

Tratamiento	Suma (OD 595 nm)					
	Aminas	Aminoácidos	Carbohidratos	Ácidos carboxílicos	Polímeros	Fenólicos
APL-PL(Az1)	3,66 a	9,86 b	17,95 a	8,95 a	6,50 a	1,78 a
APL-PV(Az2)	2,51 a	8,17 a	13,48 a	11,22 a	5,56 a	1,17 a
ASPL-PL(Az1)	3,32 a	8,98 ab	17,29 a	11,09 a	6,38 a	1,27 a
ASPL-PV(Az2)	3,33 a	9,68 ab	16,76 a	11,40 a	6,59 a	1,83 a
ASC-PV(Az)	2,86 a	8,63 ab	14,38 a	8,56 a	5,35 a	1,48 a
AC-PV(Az)	2,65 a	8,57 ab	16,28 a	9,95 a	6,08 a	1,42 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PV(Az2)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)).

### 3.1.3. Variables químicas

Para complementar la caracterización de los suelos previo a la siembra de arroz, se estudiaron variables químicas. No se encontraron diferencias significativas entre tratamientos en el contenido de amonio y pH del suelo, pero se observaron diferencias significativas entre tratamientos en el fósforo disponible (cuadro 12). No obstante, no se hallaron diferencias en la actividad fosfatasa alcalina (cuadro 7), lo cual refuta a autores que señalan que la producción de fosfatasa se induce en gran medida por la baja disponibilidad de fósforo (Henríquez et al., 2014). Esto puede deberse a varias causas, entre ellas, la existencia una reserva de enzima en el suelo (Nadimi-Goki et al., 2017) o que el método utilizado pudo no ser suficientemente sensible para detectar diferencias en esas condiciones. Por otro lado, Ai et al. (2018) postulan que mayores dosis de fertilizantes de tipo NPK y NPK sumado a enmiendas orgánicas aumentan varias actividades enzimáticas; incluso para enzimas como las fosfatasas encontraron un efecto significativo de la fertilización y no de la rotación.

Con respecto a la glomalina fácilmente extraíble, determinada con los suelos del primer muestreo, no se encontraron diferencias entre tratamientos (cuadro 12),

aunque varios autores han descrito un efecto significativo de cambios en el manejo agronómico sobre el contenido de glomalina del suelo (Dai et al., 2015, Rillig et al., 2003). El mayor valor promedio de glomalina fácilmente extraíble lo presenta el primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PL(Az1)) si bien no es significativamente diferente al resto.

**Cuadro 12.** Media y desvío estándar de fósforo disponible, amonio, pH y glomalina fácilmente extraíble de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz

Tratamiento	P disponible del suelo cítrico ( $\mu\text{g P g}^{-1}$ suelo seco)	Amonio del suelo ( $\mu\text{g NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ suelo seco)	pH suelo	Glomalina fácilmente extraíble ( $\text{mg}^{-1} \text{g}^{-1}$ suelo seco)
APL-PL(Az1)	12,83 $\pm$ 0,86 a	2,83 $\pm$ 1,98 a	5,07 $\pm$ 0,49 a	13,34 $\pm$ 0,27 a
APL-PV(Az2)	10,14 $\pm$ 1,71 a	1,73 $\pm$ 1,12 a	5,30 $\pm$ 0,10 a	11,85 $\pm$ 3,06 a
ASPL-PL(Az1)	12,38 $\pm$ 2,52 ab	3,50 $\pm$ 2,59 a	5,10 $\pm$ 0,10 a	15,54 $\pm$ 3,59 a
ASPL-PV(Az2)	21,19 $\pm$ 3,00 b	2,91 $\pm$ 0,37 a	5,20 $\pm$ 0,10 a	11,11 $\pm$ 1,35 a
ASC-PV(Az)	13,82 $\pm$ 6,44 ab	3,16 $\pm$ 3,98 a	5,20 $\pm$ 0,17 a	12,80 $\pm$ 0,97 a
AC-PV(Az)	7,75 $\pm$ 1,47 a	5,17 $\pm$ 0,20 a	5,70 $\pm$ 0,46 a	13,74 $\pm$ 1,70 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PV(Az2)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)).

### **3.1.4. Correlación de Pearson entre variables del primer muestreo en rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz**

Se observa un correlación significativa entre las variables  $\beta$ -glucosidasa y respiración microbiana ( $p$ -valor = 0,0018) (cuadro 13). Ambas variables están relacionadas con el ciclo del carbono; mayores valores de dichas variables podrían explicarse por una mayor entrada de materia orgánica al suelo, lo cual estimularía la actividad microbiana tanto a nivel de respiración como de la actividad de esta enzima.

Todas las actividades enzimáticas y la respiración microbiana se correlacionaron significativamente con el amonio del suelo.

También se obtuvo una correlación significativa positiva entre la ureasa y la respiración microbiana ( $p$ -valor = 0,0358) y una correlación negativa entre la ureasa y el fósforo disponible del suelo ( $p$ -valor = 0,0744).

Se encontraron correlaciones significativas entre las variables químicas fósforo disponible y rendimiento de arroz de la zafra ( $p$ -valor = 0,0062).

**Cuadro 13.** Análisis de correlación de Pearson con las variables obtenida de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz en primavera 2019

	<b>Deshi</b>	<b>F alc</b>	<b>Glu</b>	<b>Ure</b>	<b>Resp</b>	<b>P disp</b>	<b>pH</b>	<b>Amonio</b>	<b>Rend</b>
<b>Deshi</b>	-								
<b>F alc</b>	NS	-							
<b>Glu</b>	NS	NS	-						
<b>Ure</b>	NS	NS		-					
<b>Resp</b>	NS	NS	0,70(3)	0,50(5)	-				
<b>P disp</b>	NS	NS	NS	-0,43(6)	NS	-			
<b>pH</b>	NS	NS	NS	NS	NS	NS	-		
<b>Amonio</b>	0,50(1)	0,42(2)	0,73(4)	0,57(7)	0,55(8)	NS	NS	-	
<b>Rend.</b>	NS	NS	NS	NS	NS	0,62(9)	NS	NS	-

Deshidrogenasa (Deshi), fosfatasa alcalina (F alc),  $\beta$ -glucosidasa (Glu), Ureasa (Ure), respiración (Resp), fósforo disponible (P disp), pH, amonio del suelo (Amonio), Rend (rendimiento de arroz de la zafra 2019-20). (1)  $p$ -valor = 0,0403 (2)  $p$ -valor = 0,0925 (3)  $p$ -valor = 0,0018 (4)  $p$ -valor = 0,0013 (5)  $p$ -valor = 0,0358 (6)  $p$ -valor = 0,0744 (7)  $p$ -valor = 0,0173 (8)  $p$ -valor = 0,0211 (9)  $p$ -valor = 0,0062 NS = No significativo  $\alpha > 0,10$ .

### **3.1.5. Análisis de componentes principales con variables obtenidas de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz**

Se realizó un análisis de componentes principales (*PCA*) con el propósito de reducir el número de variables originales a dos componentes y observar si existían diferencias entre tratamientos. El análisis de *PCA* llevado a cabo con las variables microbiológicas y químicas determinadas en el primer muestreo de suelo, previo a la siembra de arroz, mostró que los dos tratamientos de la rotación arroz-pradera larga ((APL-PL(Az1) y APL-PV(Az2)) y el tratamiento de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)) se ubicaron separados del resto de las rotaciones y separados entre sí (figura 3). No obstante, los test de *ANOSIM* y *PERMANOVA* usando la distancia euclidiana no mostraron diferencias entre tratamientos ( $p$ -valor = 0,498 y  $p$ -valor = 0,450, respectivamente).





previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)). Según Culman et al. (2021), el carbono activo es un indicador temprano del potencial de acumulación de carbono orgánico en el suelo, lo que podría indicar que la rotación arroz-pradera larga es la que estaría acumulando carbono, lo cual coincide con lo reportado por Macedo et al. (2021b) en cuanto a que la rotación arroz-pradera larga es la única que logra secuestrar carbono en el suelo. Según USDA (2014), todas las prácticas que aumenten la materia orgánica del suelo, como la utilización de praderas en las rotaciones, aumenta el carbono activo del suelo, lo cual también coincide con los resultados.

**Cuadro 14.** Media y desvío estándar de ureasa, respiración microbiana, carbono activo y amonio del suelo de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz (segundo muestreo)

Tratamiento	Ureasa ( $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{ g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Respiración ( $\text{mg de CO}_2 \text{ 100 g}^{-1}$ suelo seco $\text{día}^{-1}$ )	C activo ( $\text{mg}^{-1} \text{ C}$ $\text{kg}^{-1}$ suelo seco)	Amonio suelo ( $\mu\text{g}$ $\text{NH}_4^+ \text{ g}^{-1}$ suelo seco)
APL-PL(Az1)	130,15 $\pm$ 21,86 a	6,84 $\pm$ 1,81 a	438,36 $\pm$ 44,45 ab	7,89 $\pm$ 3,39 a
APL-PV(Az2)	113,13 $\pm$ 20,54 a	9,34 $\pm$ 1,39 a	483,43 $\pm$ 15,84 b	5,12 $\pm$ 0,27 a
ASC-PV(Az)	98,35 $\pm$ 6,27 a	6,94 $\pm$ 0,86 a	358,30 $\pm$ 11,14 a	6,26 $\pm$ 1,76 a
AC-PV(Az)	91,09 $\pm$ 11,52 a	7,99 $\pm$ 2,04 a	467,99 $\pm$ 47,29 ab	5,32 $\pm$ 3,10 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PV(Az2)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)).

### **3.1.7. Correlación de Pearson entre variables del segundo muestreo en rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz**

Se encontraron correlaciones de Pearson significativas para carbono activo y respiración (Pearson = 0,67 y  $p$ -valor = 0,0716), siendo ambas variables relacionadas al ciclo del carbono. También para amonio del suelo y la enzima ureasa se encontró una correlación significativa (Pearson = 0,70 y  $p$ -valor = 0,0515) (cuadro 15), ambas variables relacionadas al ciclo del nitrógeno; esto último también ocurrió con los datos del primer muestreo antes de la siembra de arroz (cuadro 13).

**Cuadro 15.** Análisis de correlación de Pearson con las variables obtenidas de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz en primavera 2020

	Ure	Resp	Amonio	C activo	Rend
Ure	-				
Resp	NS	-			
Amonio	0,70(1)	NS	-		
C activo	NS	0,67(2)	NS	-	
Rend	NS	NS	NS	NS	-

Ureasa (Ure), respiración (Resp), amonio del suelo (Amonio), carbono activo del suelo (C activo), Rend (rendimiento de arroz de la zafra 2020-21). (1)  $p$ -valor = 0,0515 (2)  $p$ -valor = 0,0716 NS = no significativo  $\alpha > 0,10$ .

### **3.1.8. Ensayo de mineralización con residuos vegetales y suelos previo a la siembra de arroz**

El ensayo se realizó con el objetivo de estudiar el comportamiento de las comunidades microbianas del suelo de los diferentes tratamientos al ser mezcladas con los restos vegetales también tomados de los diferentes tratamientos del ensayo, conformando 10 nuevos tratamientos. Los cambios en las comunidades microbianas por variaciones en el manejo usualmente se relacionan a modificaciones en la cantidad y calidad de restos vegetales que llegan al suelo (Reardon y Wuest, 2016, FAO, 2017). Los rastrojos afectan los procesos físicos, químicos y biológicos como la cantidad y la composición de la biomasa microbiana y la mineralización/inmovilización de nutrientes (Morón, 2001), aunque las raíces dentro del suelo son más efectivas que la biomasa sobre el suelo para contribuir al contenido de carbono orgánico del suelo en siembra directa (Moebius-Clune et al., 2016).

Los residuos vegetales aéreos tomados de los diferentes tratamientos del ensayo resultaron ser químicamente diferentes (cuadro 16) en cuanto al porcentaje en base seca de: cenizas (cenizas%), proteína cruda (PC% o nitrógeno%), fibra detergente neutro con amilasa corregido por cenizas (aFDNmo%), fibra detergente ácido corregido por ceniza (FDAmo%) y lignina (ligas%).

La fibra detergente neutro está compuesta principalmente por celulosa, hemicelulosa y lignina; la fibra detergente ácida representa a la celulosa unida a la lignina (Morón, 2001).

Los mayores valores de PC% se encontraron en los residuos de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)); en esta misma rotación también se observa el mayor porcentaje de lignina, el cual se podría explicar por la presencia de restos leñosos de plantas de soja. Los menores valores de PC% se observan en los restos vegetales de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)) y del puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz pradera larga (APL-PV(Az2)); ambos contienen un cultivo de cobertura invernal y vienen de un verano con cultivo de arroz, cuyos rastros todavía se pueden observar a campo (cuadro 16).

La FDAmo% corresponde al porcentaje de celulosa unida a la lignina corregido por el porcentaje de ceniza. El menor valor de esta variable se observa en el tratamiento correspondiente a restos vegetales de la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)); este se diferencia químicamente del resto, incluso del otro tratamiento de la misma rotación (APL-PV(Az2)) (cuadro 16).

**Cuadro 16.** Análisis químico de restos vegetales muestreadas previo a la siembra de arroz

Residuo vegetal	Cenizas%	PC%	aFDNmo%	FDAmo%	Ligas%
APL-PL(Az1)	29,96 b	8,21 b	60,18 a	33,80 a	7,62 a
APL-PV(Az2)	19,08 a	5,47 a	70,08 a	41,56 b	5,70 a
ASC-PV(Az)	19,31 a	11,02 c	65,73 a	44,36 b	13,95 b
AC-PV(Az)	18,23 a	7,84 ab	70,45 a	42,82 b	6,46 a
<i>p</i> -valor	0,0670	0,0109	0,0895	0,0159	0,0019

Cenizas (C), proteína cruda (PC), fibra detergente neutro con amilasa y corregido por cenizas (aFDNmo), fibra detergente ácido corregida por cenizas (FDAmo) y lignina detergente ácido (Ligas), los resultados están expresados en base seca. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)).

Los nuevos tratamientos evaluados fueron producto de la mezcla de suelo con restos vegetales, estos se pusieron a incubar haciéndose determinaciones de actividades enzimáticas y respiración a los 25 y 50 días. En términos generales, se observan valores de actividades enzimáticas y respiración muy elevados, mucho más altos que los encontrados en los suelos (cuadro 17), lo cual muestra la rápida

respuesta de la microbiota al suministro de fuentes carbonadas a través de los restos orgánicos incorporados.

Las variables fueron analizadas con una ANAVA para identificar si existían diferencias significativas entre los 10 tratamientos nuevos. Solo se encontraron diferencias significativas en la respiración medida a los 50 días (cuadro 17). Uno de los menores valores de respiración se encontró en el tratamiento en el que se mezclaron suelos y restos vegetales de la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)).

**Cuadro 17.** Variables evaluadas a los 25 y 50 días en los nuevos tratamientos producto de la mezcla de suelo y restos vegetales de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz

Suelo	Residuo	Deshi25	Deshi50	Resp25	Resp50	Glu25	Glu50
AC-PV(Az)	AC-PV(Az)	72,34 a	71,85 a	85,98 a	87,56 c	588,88 a	296,63 a
ASC-PV(Az)	ASC-PV(Az)	88,32 a	85,22 a	88,09 a	75,45 abc	530,92 a	583,94 a
APL-PL(Az1)	APL-PL(Az1)	64,94 a	68,18 a	51,67 a	45,51 a	553,26 a	414,40 a
APL-PV(Az2)	APL-PV(Az2)	46,68 a	58,01 a	93,68 a	70,75 abc	747,90 a	370,89 a
AC-PV(Az)	APL-PL(Az1)	62,28 a	62,53 a	60,41 a	65,91 abc	491,61 a	329,23 a
APL-PL(Az1)	AC-PV(Az)	80,44 a	66,63 a	106,89 a	55,73 ab	930,33 a	477,51 a
ASC-PV(Az)	APL-PL(Az1)	87,75 a	73,55 a	74,37 a	81,70 bc	529,29 a	449,56 a
APL-PV(Az2)	ASC-PV(Az)	73,61 a	55,65 a	89,34 a	85,97 c	789,79 a	374,69 a
APL-PL(Az1)	ASC-PV(Az)	64,50 a	56,17 a	79,74 a	66,10 abc	821,29 a	536,93 a
ASC-PV(Az)	APL-PV(Az2)	37,43 a		79,94 a		494,04 a	

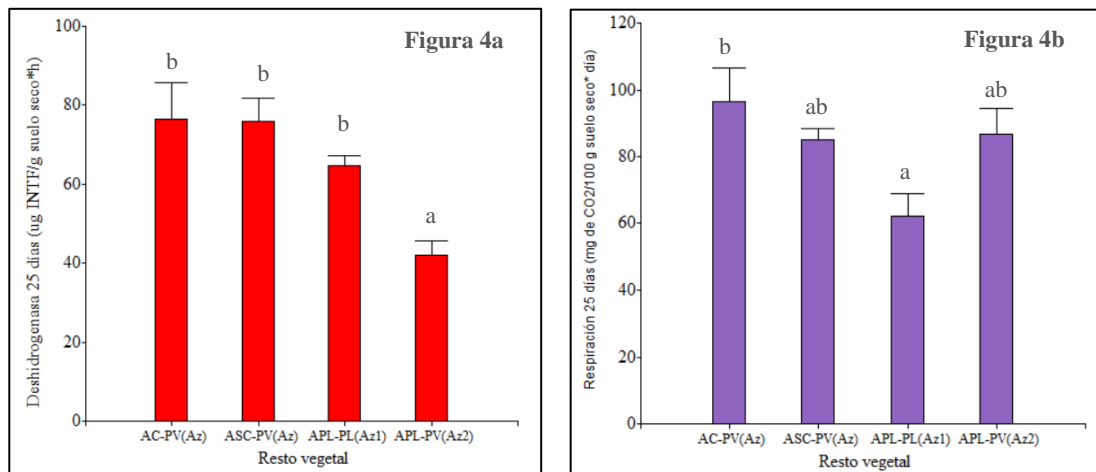
Suelo de la mezcla (**Suelo**), residuo vegetal de la mezcla (**Residuo**), deshidrogenasa medida a los 25 días  $\mu\text{g INTF g}^{-1}$  suelo seco  $\text{h}^{-1}$  (**Deshi25**), deshidrogenasa medida a los 50 días  $\mu\text{g INTF g}^{-1}$  suelo seco  $\text{h}^{-1}$  (**Deshi50**), respiración medida a los 25 días  $\text{mg de CO}_2$   $100 \text{ g}^{-1}$  suelo seco  $\text{día}^{-1}$  (**Resp25**), respiración medida a los 50 días  $\text{mg de CO}_2$   $100 \text{ g}^{-1}$  suelo seco  $\text{día}^{-1}$  (**Resp50**),  $\beta$ -glucosidasa medida a los 25 días  $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$  suelo seco  $\text{h}^{-1}$  (**Glu25**),  $\beta$ -glucosidasa medida a los 50 días  $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$  suelo seco  $\text{h}^{-1}$  (**Glu50**).

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

También se analizaron los datos de las variables evaluadas con un ANAVA factorial usando 2 criterios de clasificación: el suelo y el residuo vegetal de la mezcla. Previamente, se demostró que no había interacción entre los factores suelo x residuo vegetal. Se observaron efectos significativos del factor residuo vegetal de la mezcla sobre: deshidrogenasa a los 25 días ( $p$ -valor = 0,0126) (figura 4a) y respiración a los 25 días ( $p$ -valor = 0,0308) (figura 4b); y también se observaron

efectos significativos del factor suelo de la mezcla sobre  $\beta$ -glucosidasa a los 50 días ( $p$ -valor = 0,0359) (figura 5).

Los tratamientos que incluyeron como residuo vegetal al tomado del puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)) presenta los menores valores promedio de actividad deshidrogenasa medida a los 25 días (figura 4a). Este resultado se podría explicar por el hecho que ese residuo vegetal presentó el menor porcentaje de PC% y, por lo tanto, también de nitrógeno (que se podría calcular como el 16 % de la PC%), lo cual puede estar afectando la relación C/N de los restos vegetales e interfiere con la mineralización/degradación por la microbiota del suelo (Morón, 2001, Frioni, 2011). La velocidad de descomposición del rastrojo está vinculada a la relación C/N de estos y condiciona la disponibilidad de nutrientes para los cultivos siguientes (Ernst et al., 2002).



**Figura 4a.** Gráfica de media y desvío estándar de la actividad deshidrogenasa a los 25 días de incubación de los tratamientos clasificados por residuo vegetal de la mezcla.

**Figura 4b.** Gráfica de media y desvío estándar de la respiración microbiana a los 25 días de incubación de los tratamientos clasificados por residuo vegetal de la mezcla.

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)).

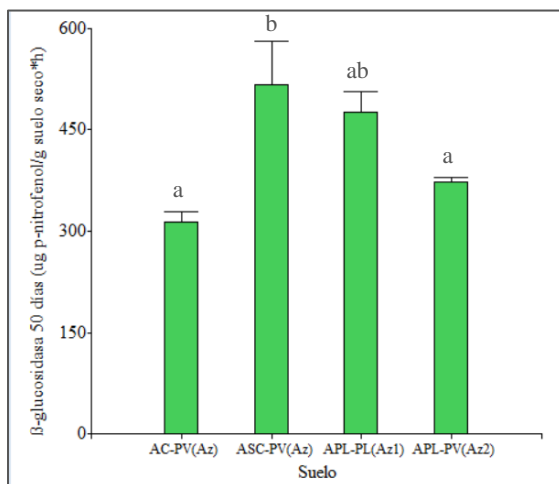
Los menores valores de respiración medida a los 25 días se encontraron para los tratamientos que incluyeron residuo vegetal tomado de la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)), que se diferenció de los que incluían

restos vegetales de la rotación arroz continuo (figura 4b). El residuo de la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)) fue el que presentó el mayor porcentaje de cenizas, es decir, minerales que no son respirables por la mayoría de los microorganismos. Además, se encontró una correlación de Pearson significativa ( $p$ -valor = 0,0321) entre los valores de respiración medida a los 25 días y ceniza (coeficiente de Pearson -0,97), lo cual podría estar explicando la diferenciación de dicho tratamiento.

También el residuo vegetal de la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)) presentó los menores valores de FDAmo%, es decir que es el tratamiento con menor porcentaje de celulosa unida a la lignina, lo cual también puede estar afectando la respiración microbiana de las mezclas. También se encontró una correlación de Pearson significativa ( $p$ -valor = 0,0967) entre los valores de respiración medida a los 25 días y FDAmo% (coeficiente de Pearson 0,90).

En este ensayo, se encontró una correlación de Pearson significativa ( $p$ -valor = 0,0053) entre la respiración y la  $\beta$ -glucosidasa medida a los 25 días (coeficiente de Pearson 0,61), lo cual también se observó con los datos del primer muestreo realizado previo a la siembra del arroz.

Según Cleveland et al. (2013), que también realizó un ensayo similar para evaluar el efecto de la calidad de los residuos y la capacidad de las comunidades microbianas del suelo de descomponer los restos orgánicos, la calidad de los residuos explica la mayor variación en las variables microbiológicas evaluadas.



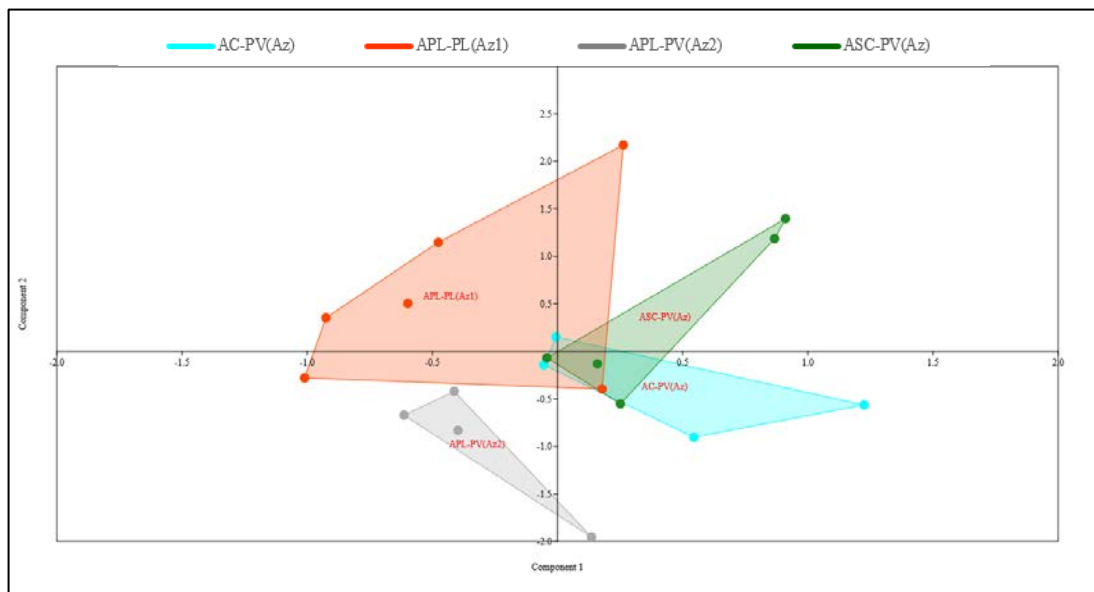
**Figura 5.** Gráfica de valores medios y desvío estándar de la actividad  $\beta$ -glucosidasa mediada a los 50 días de incubación de los tratamientos clasificados por residuo vegetal de la mezcla.

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PL(Az1)), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)).

En las determinaciones hechas a los 50 días, se observó que la actividad  $\beta$ -glucosidasa (figura 5) de los tratamientos con suelos que vienen de 2 arces seguidos (AC-PV(Az) y APL-PV(Az2)) fueron menores que los tratamientos con suelos de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)). Cleveland et al. (2013) señalan que el tipo de comunidad microbiana aumenta su importancia en la determinación de la respiración microbiana a medida que avanza el curso del experimento; en este caso, ocurrió para la actividad  $\beta$ -glucosidasa. Los autores sugieren que se relaciona con la presencia/ausencia en el inóculo del suelo de microorganismos especializados metabólicamente.

Con las variables evaluadas, deshidrogenasa,  $\beta$ -glucosidasa y respiración, a los 25 y a los 50 días, se realizó un análisis de componentes principales estudiando los datos de acuerdo al resto vegetal de la mezcla (figura 6). Se puede observar que las mezclas que contienen restos vegetales del puente verde de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)) se apartan del resto, lo cual indica un efecto del residuo vegetal sobre la funcionalidad de la microbiota edáfica como también aparece en Cleveland et al. (2013). Si bien con el test PERMANOVA usando la distancia euclidiana no se detectaron diferencias ( $p$ -valor = 0,315).





**Figura 6.** Análisis de componentes principales (PCA) realizado con las variables deshidrogenasa,  $\beta$ -glucosidasa y respiración, medidas a los 25 y a los 50 días, analizando los datos de acuerdo al resto vegetal de la mezcla. % de la varianza que explica el componente 1=57,074 y componente 2=23,023 .Puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**).

### 3.2. EVALUACIÓN DE VARIABLES MICROBIOLÓGICAS EN ROTACIONES ARROCERAS PREVIO A LA COSECHA DE ARROZ

#### 3.2.1. Actividades enzimáticas, respiración y biomasa microbiana

De todas las actividades enzimáticas estudiadas en los suelos durante el cultivo de arroz previo a cosecharse, solo se observaron diferencias entre tratamientos en la actividad de la enzima ureasa (cuadro 18). El mayor valor de la actividad ureasa se registró en el cultivo de arroz luego de la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga, la menos intensiva en el uso del suelo, con 40 % de los años con cultivos agrícolas, pudiéndose relacionar con un efecto positivo de la pradera larga sobre la actividad enzimática. Autores como Henríquez et al. (2014) reportan a esta variable como sensible a cambios en el manejo agrícola. Por otro lado, el menor valor de ureasa se registró en la rotación arroz-soja continuo, una de

las rotaciones más intensivas en el uso del suelo con 100 % de los años con cultivos agrícolas.

**Cuadro 18.** Media y desvío estándar de actividades enzimáticas de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha del arroz

Tratamiento	Deshidrogena ( $\mu\text{g INTF g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	$\beta$ -glucosidasa ( $\mu\text{g p-nitrofenol}$ $\text{g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Fosfatasa alcalina ( $\mu\text{g p-nitrofenol}$ $\text{g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Ureasa ( $\mu\text{g N-NH}_4^+$ $\text{g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Respiración ( $\text{mg de CO}_2$ $100 \text{ g}^{-1}$ suelo seco $\text{día}^{-1}$ )
<b>APL-Az1</b>	25,17 $\pm$ 6,62 a	86,36 $\pm$ 37,78 a	24,22 $\pm$ 14,86 a	118,95 $\pm$ 8,25 <b>b</b>	4,65 $\pm$ 0,91 a
<b>APL-Az2</b>	21,47 $\pm$ 4,45 a	82,93 $\pm$ 28,01 a	27,74 $\pm$ 28,60 a	104,87 $\pm$ 17,60 <b>ab</b>	4,94 $\pm$ 0,80 a
<b>ASPL-Az1</b>	21,07 $\pm$ 5,60 a	89,98 $\pm$ 17,41 a	21,78 $\pm$ 18,51 a	93,37 $\pm$ 7,62 <b>ab</b>	4,32 $\pm$ 1,61 a
<b>ASPL-Az2</b>	21,63 $\pm$ 4,25 a	94,35 $\pm$ 29,31 a	22,43 $\pm$ 20,46 a	89,04 $\pm$ 9,43 <b>ab</b>	4,38 $\pm$ 2,32 a
<b>ASC-Az</b>	23,75 $\pm$ 4,64 a	98,68 $\pm$ 46,24 a	32,04 $\pm$ 27,85 a	80,99 $\pm$ 16,06 <b>a</b>	3,43 $\pm$ 1,00 a
<b>AC-Az</b>	32,75 $\pm$ 12,66 a	85,20 $\pm$ 9,56 a	21,19 $\pm$ 18,72 a	99,24 $\pm$ 10,98 <b>ab</b>	6,45 $\pm$ 3,52 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).

### 3.2.2. Perfil fisiológico de la comunidad microbiana

También para el muestreo de suelo durante el cultivo de arroz se utilizaron las placas Biolog EcoPlates para caracterizar la diversidad metabólica de las comunidades de microorganismos de los diferentes tratamientos. No se detectaron diferencias entre tratamientos en la actividad media de pocillo (*AWCD*) (figura 7), la mayor diferencia se determinó a tiempo 3. Tampoco se encontraron diferencias en el área bajo la curva y la pendiente (cuadro 19).

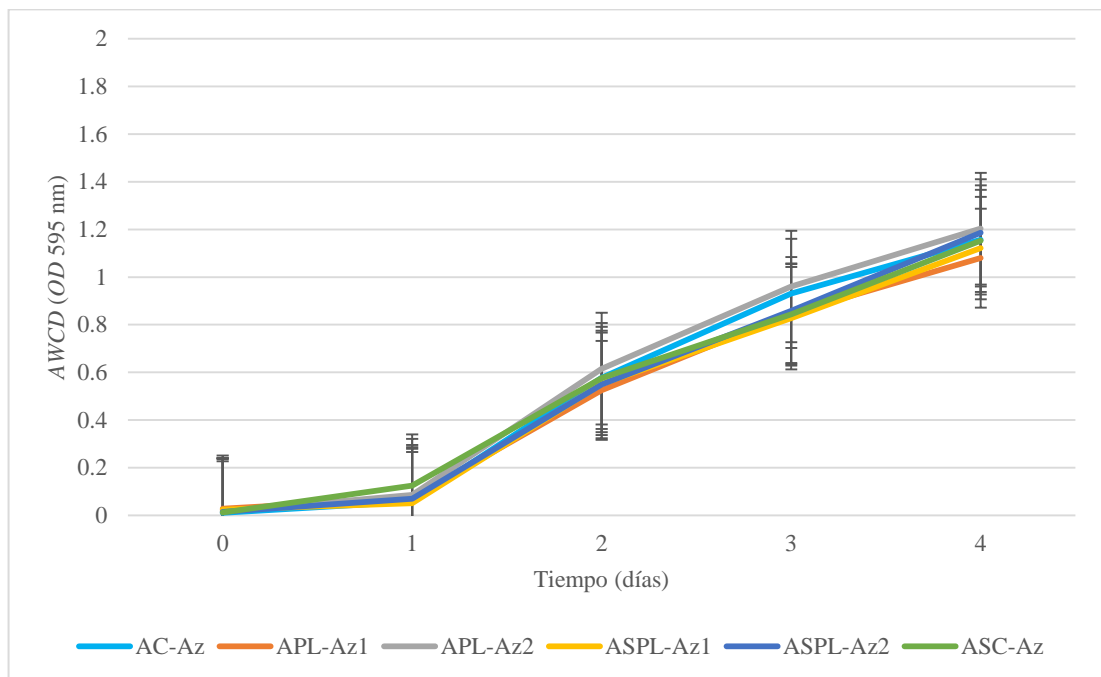
Los valores de *AWCD*, área y pendiente fueron menores que en el muestreo previo a la siembra de arroz (efecto muestreo sobre *AWCD* a tiempo 4  $p$ -valor  $< 0,0001$ , sobre el área de 0 a 4  $p$ -valor  $< 0,0001$  y sobre la pendiente de 1 a 4  $p$ -valor  $< 0,0001$ ).

Además, en el muestreo del suelo previo a la cosecha del arroz tampoco se encontraron diferencias en la riqueza y los índices de equitatividad y diversidad obtenidos con las placas Biolog (cuadro 20).

Esto se puede deber a las condiciones de anaerobiosis durante la inundación, que modifican el pH del suelo y disminuyen la actividad microbiana heterótrofa aerobia.

Qu et al (2020) hallaron que el pH del suelo se correlaciona negativamente con *AWCD*. Los valores de pH fueron mayores en estas condiciones de muestreo ( $p$ -valor  $< 0,001$ ), lo que podría estar explicando la disminución en los valores de *AWDC*.

Todo lo anterior hace pensar que las condiciones del cultivo de arroz, incluida la inundación por riego, modifican la funcionalidad de las comunidades microbianas. En este sentido, Fernández-Scavino et al. (2022) comparan la abundancia de arqueas y bacterias en suelos de las rotaciones del mismo ensayo entre invierno y la época de cosecha de arroz, encontrando diferencias significativas debidas a la estacionalidad.



**Figura 7.** Gráfica de media y desvío estándar de actividad media de pocillo (*AWCD*) a través del tiempo obtenida con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha de arroz. Arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**), primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**).

**Cuadro 19.** Actividad media de pocillo (*AWCD*), área debajo de la gráfica del día 0 al 4 (actividad acumulada durante 4 días) y pendiente entre los días 1 y 4 (velocidad de uso de sustratos del período) obtenida con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha de arroz

Tratamiento	<i>AWCD</i> t3	Área 0-4	Pendiente 1-4
<b>APL-Az1</b>	0,85 a	2,00 a	0,33 a
<b>APL-Az2</b>	0,96 a	2,27 a	0,37 a
<b>ASPL-Az1</b>	0,83 a	2,00 a	0,35 a
<b>ASPL-Az2</b>	0,86 a	2,08 a	0,37 a
<b>ASC-Az</b>	0,84 a	2,13 a	0,33 a
<b>AC-Az</b>	0,93 a	2,15 a	0,37 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), Arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**),

**Cuadro 20.** Riqueza e índices de equitatividad (*equitability* y *evenness*) y diversidad (Shannon) de uso de los diferentes sustratos obtenidos con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha de arroz

Tratamiento	Riqueza *	<i>Equitability</i>	<i>Evenness</i>	Shannon
<b>APL-Az1</b>	27,00 a	0,96 a	0,87 a	3,25 a
<b>APL-Az2</b>	28,00 a	0,96 a	0,88 a	3,29 a
<b>ASPL-Az1</b>	26,00 a	0,94 a	0,81 a	3,22 a
<b>ASPL-Az2</b>	25,00 a	0,93 a	0,78 a	3,17 a
<b>ASC-Az</b>	26,67 a	0,94 a	0,82 a	3,22 a
<b>AC-Az</b>	26,67 a	0,94 a	0,81 a	3,20 a

\* La variable Riqueza fue analizada con los datos transformados con el Ln. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).

### 3.2.3. Variabes químicas

De igual forma, en el muestreo previo a la cosecha de arroz se estudiaron variables químicas para complementar la caracterización de los suelos. No se observaron diferencias entre tratamientos en el contenido de amonio y pH del suelo (cuadro 21). Por otro lado, en este muestreo durante el cultivo de arroz previo a ser cosechado se pueden observar mayores valores de pH comparado con el muestreo previo a la siembra de arroz (efecto muestreo  $p$ -valor  $< 0,001$ ), probablemente debido a la inundación y consiguiente condición de anaerobiosis del suelo generada por el

riego del cultivo. Se conoce que cuando un suelo se inunda, su pH tiende a la neutralidad (Weil y Brady, 2017, Snyder y Slaton, 2002). Nadimi-Goki et al. (2017), en rotaciones arroceras, también reportan un efecto del anegamiento sobre el pH y algunas variables microbiológicas.

**Cuadro 21.** Media y desvío estándar de amonio del suelo y pH de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha de arroz

Rotación	Amonio suelo ( $\mu\text{g NH}_4^+ \text{ g}^{-1}$ suelo seco)	pH suelo
<b>APL-Az1</b>	3,59 $\pm$ 0,65 a	6,00 $\pm$ 0,11 a
<b>APL-Az2</b>	3,89 $\pm$ 0,09 a	5,93 $\pm$ 0,06 a
<b>ASPL-Az1</b>	3,75 $\pm$ 0,33 a	5,80 $\pm$ 0,03 a
<b>ASPL-Az2</b>	4,11 $\pm$ 0,57 a	5,99 $\pm$ 0,07 a
<b>ASC-Az</b>	3,52 $\pm$ 0,34 a	5,88 $\pm$ 0,15 a
<b>AC-Az</b>	3,60 $\pm$ 0,42 a	6,32 $\pm$ 0,47 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).

Se evidencia un efecto del riego y/o el cultivo de arroz sobre las variables microbiológicas y químicas evaluadas, pudiéndose tratar de condiciones ambientales homogenizantes de las comunidades microbianas del suelo, al menos en cuanto a las variables evaluadas. La gran sensibilidad de la microbiota a factores ambientales (Nadimi-Goki et al., 2017, Mungai et al., 2005), por un lado, puede ser positiva para la detección de cambios en el suelo, pero, por otro lado, si los cambios son solo momentáneos, no podrían tomarse como indicadores de calidad de suelo, sino como indicadores de las condiciones circunstanciales del suelo o para ilustrar la dinámica de la variable ante cambios ambientales. Para que una variable microbiológica pueda usarse como indicador, deben considerarse las condiciones de muestreo, sobre todo en cultivos como el de arroz con riego.

Mungai et al. (2005) encontraron un efecto tanto de la estacionalidad como del microclima dentro de un cultivo sobre variables microbiológicas como  $\beta$ -glucosidasa y *AWCD*, lo cual demuestra su gran sensibilidad a factores ambientales. Nadimi-Goki

et al. (2017) también estudiaron actividades enzimáticas en rotaciones arroceras y encontraron una diferencia significativa del efecto del anegamiento sobre  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa alcalina y ácida y otras enzimas en casi todas las rotaciones que evaluaron. Además, concluyeron que la actividad de la mayoría de las enzimas disminuye en un suelo anegado y aumenta en un suelo aireado. En conclusión, la dinámica de las enzimas está influenciada por la humedad del suelo. Qu et al (2020) encontraron que el pH del suelo se correlaciona negativamente con algunas actividades enzimáticas.

En esta investigación, se encontró un efecto del muestreo o condición del suelo sobre la actividad fosfatasa alcalina ( $p$ -valor = 0,0332) y ureasa ( $p$ -valor = 0,0141); para ambos casos, los valores más bajos se registraron en el muestreo durante el cultivo de arroz, con el suelo recientemente drenado, y los valores más altos se encontraron en el muestreo durante las praderas quemadas con herbicida previo a la siembra de arroz, cuando el suelo seguramente se encontraba más aireado. Ezeokoli et al. (2021) señalan que en los barbechos, períodos en los que el suelo descansa, hay mayor actividad enzimática que luego de que es cosechado el arroz.

#### **3.2.4. Ensayo de micorrización**

El ensayo de micorrización se realizó con la finalidad de evaluar la presencia de propágulos de micorrizas (infectividad) y el efecto de estas sobre el crecimiento vegetal (efectividad) en los suelos de las rotaciones previo al momento de la cosecha de arroz.

Tejo et al. (2016) y Ruiz Sánchez et al. (2014) detectaron un efecto positivo de la colonización micorrízica en el desarrollo de las plantas, lo cual no pudo verificarse en este caso, ya que no se obtuvieron diferencias en la materia seca producida entre los diferentes tratamientos para ninguna de las dos especies evaluadas (raigrás y trébol blanco) (cuadro 22).

Con respecto al porcentaje de colonización micorrízica y porcentaje de arbuscúlos determinado en las raíces, se observaron diferencias significativas entre

tratamientos (cuadro 22). En cuanto al porcentaje de colonización micorrízica, la rotación arroz continuo (AC-Az) presentó el menor porcentaje, junto con el tratamiento correspondiente al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (APL-Az2). En el caso del arroz continuo, esto puede estar relacionado con un deterioro de la microbiota edáfica por la práctica de monocultivo o por un efecto de la inundación, que es más frecuente en dicha rotación. Vallino et al. (2014) encontraron que las raíces del cultivo de arroz inundado son poco micorrizadas. Ruiz Sánchez et al. (2014) afirman que existe un efecto de la inundación sobre la colonización micorrízica en plantas de arroz y reportan que la colonización disminuye en condiciones de inundación. Si bien en este trabajo no se midió la colonización micorrízica en plantas de arroz, es de esperarse que en suelos de las rotaciones que tienen dos cultivos de arroz seguidos presenten menor potencial de colonización.

Por otro lado, García et al. (2017) reportaron un efecto inhibitorio de la fertilización fosfatada de largo plazo sobre la colonización micorrízica. El arroz de la rotación arroz continuo (AC-Az) es en el que se aplica la mayor dosis de fósforo, por lo que también este aspecto puede estar influyendo en las diferencias observadas en cuanto al potencial de inóculo de los suelos; aunque el otro tratamiento con los valores más bajos de colonización micorrízica (APL-Az2) no es de los que presenta mayores dosis de fósforo en el cultivo de arroz.

Los tratamientos con mayor colonización micorrízica fueron los correspondientes a la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-Az1 y ASPL-Az2), la cual combina varios cultivos agrícolas y tiene una pradera larga de 2,5 años. Además, en esta rotación, se incluye un cultivo de soja, especie que es altamente micorrizable (Rodríguez-Blanco y Giménez, 2019, Souza de Pontes et al., 2017).

En cuanto al porcentaje de arbusculos, se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (cuadro 22); los mayores valores se encontraron en los tratamientos de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-Az1 y ASPL-Az2) y en el primer arroz, luego de la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga (APL-Az1). En el primer caso, los mayores valores pueden estar relacionados con la presencia de

soja en la rotación y, en el segundo caso, a un efecto de la pradera larga; ambos casos se tratan de las rotaciones menos intensivas. Varios autores reportan un efecto de la intensidad del uso del suelo sobre las micorrizas, encontrándose mayor colonización en situaciones de menor intensidad (Trejo et al., 2015). Además, puede haber existido un efecto del cultivo antecesor en la rotación arroz-pradera larga, ya que el otro tratamiento de la rotación, que viene de un cultivo de arroz previo (APL-PL(Az2)) presenta bajo porcentaje de arbusculos, pudiéndose deber a un efecto de la inundación sobre la micorrización. En este sentido, Rodríguez-Blanco y Giménez (2019), estudiando en el mismo ensayo, también encontraron un efecto del cultivo antecesor, ya que la colonización en raíces de soja fue menor cuando el arroz era el cultivo previo comparado con plantas sembradas luego de soja.

Las micorrizas son de gran importancia para la sostenibilidad y buen funcionamiento de los ecosistema (Smith y Read, 2008), ya que cumplen funciones muy importantes que contribuyen tanto a la salud de las plantas como a la del suelo; por ejemplo, benefician a las plantas en la absorción de nutrientes y agua, les aportan resistencia a sequías, salinidad y enfermedades, y contribuyen a la materia orgánica del suelo y a la estabilidad de los agregados (Moebius-Clune et al., 2016).

**Cuadro 22.** Materia seca de raigrás y trébol blanco producida en el ensayo de micorrización (efectividad), % de colonización y % de arbusculos de las raíces del ensayo (infectividad) establecido con suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha de arroz

Tratamiento	Materia seca de raigrás ( $\text{mg}^{-1}$ maceta <sup>-1</sup> )	Materia seca de trébol blanco ( $\text{mg}^{-1}$ maceta <sup>-1</sup> )	% de colonización micorrízica de raíces *	% de arbusculos *
<b>APL-Az1</b>	227,50 a	108,33 a	50,31 b	12,52 ab
<b>APL-Az2</b>	213,33 a	102,50 a	47,13 ab	8,43 a
<b>ASPL-Az1</b>	186,67 a	138,33 a	83,27 c	16,05 b
<b>ASPL-Az2</b>	211,11 a	179,44 a	74,63 c	12,78 ab
<b>ASC-Az</b>	236,11 a	132, 22 a	54,44 b	8,72 a
<b>AC-Az</b>	268,89 a	113,61 a	39,07 a	8,70 a

\* Las variables % de colonización y % de arbusculos fueron analizadas utilizando un modelo lineal generalizado mixto, familia Poisson y un test LSD de Fisher, letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (LSD  $\alpha < 0,10$ ). Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).



### **3.3. CONSIDERACIONES SOBRE LIMITANTES DE LA INVESTGACIÓN**

Gran parte de las variables microbiológicas evaluadas, tanto antes de la siembra como previo a las cosecha de arroz, no fueron sensibles para detectar diferencias entre tratamiento. Como posibles causas de la homogenización puede estar el hecho de que es un experimento llevado a cabo con agricultura con siembra directa, lo cual afecta la dinámica del carbono en el suelo, que a la vez está estrechamente relacionado a la funcionalidad de la microbiota edáfica (Acosta-Martinez et al., 2018, Wingeyer et al., 2015).

Asimismo, se trata de rotaciones en la que se aplican buenas prácticas agrícolas que tienen el objetivo de cuidar las propiedades productivas del suelo (MGAP, 2013). Esto, en parte, se ve reflejado en los altos rendimientos promedio de arroz reportados en todas las rotaciones (Macedo et al., 2016). Todas las rotaciones incluyen leguminosas en alguna fase, lo cual favorece la entrada de nitrógeno al suelo y es una práctica recomendada para conservar la calidad del suelo (MGAP, 2013).

Además, el hecho de incluir praderas en las rotaciones está reportado como una buena práctica (MGAP, 2013), con efectos sobre el stock de carbono del suelo en agricultura con laboreo (Haynes et al., 1991). Aunque es diferente con sistemas con siembra directa, Ernst y Siri-Prieto (2009) reportan que no se detectó un efecto de la pradera en la rotación sobre el contenido de carbono del suelo luego de un período de 10 años. Macedo et al. (2021b), investigando en el mismo ensayo, encontraron que la única rotación del ensayo que secuestraba carbono en el suelo era la rotación arroz-pradera larga; además, los mismos autores señalan que la intensificación no hizo disminuir el carbono orgánico del suelo y los niveles de nitrógeno total se mantuvieron en todos los sistemas.

También como posible factor homogeneizante se encuentra el riego y la consiguiente anaerobiosis, que genera un efecto sobre el pH (Weil y Brady, 2017, Snyder y Slaton, 2002), sobre la comunidad microbiana edáfica y las actividades enzimáticas (Nadimi-Goki et al., 2017). En el cultivo de arroz, la descomposición de

la materia orgánica es más lenta durante el anegamiento que cuando el suelo está aireado (Motschenbacher, 2012), lo cual tiene el potencial de afectar a las variables microbiológicas relacionadas al ciclo del carbono.

Por otro lado, existe gran variabilidad en cuanto al manejo agronómico en el ensayo, ya que se utiliza para hacer evaluaciones en varios aspectos productivos como genética (se han usado diferentes variedades, aunque actualmente se usa una en todo el ensayo), dosis y criterios de fertilizaciones, tipos de riegos y agroquímicos usados (Ayala et al., 2016, INIA, 2018). Esto puede ser identificado como una limitante de la investigación, ya que estos factores que no fueron identificados y cuantificados en este estudio pueden haber afectado a la microbiota edáfica; aunque también puede ser interpretado como una ventaja, ya que en la realidad productiva siempre hay variabilidad y el objetivo es encontrar variables microbiológicas que puedan detectar cambios en condiciones reales. La fertilización es un factor agronómico muy relevante para la actividad microbiana del suelo, a tal punto que hay autores que reportan un efecto significativo de la fertilización sobre variables microbiológicas y no de la rotación de cultivos (Ai et al., 2018, Wang y Huang, 2021, Soman et al., 2016). También el pastoreo con ovinos que se realiza en el ensayo es un factor agronómico que puede estar afectando al suelo y, por lo tanto, a las variables microbiológicas.

Por último, parece difícil diferenciar si hay un efecto del cultivo antecesor o si hay un efecto producto del legado de la rotación, es decir, de varios años, sobre las variables evaluadas, ya que se expresaron diferencias entre tratamientos que corresponden a la misma rotación, como en el caso de la rotación arroz-pradera larga.

Es posible que se necesite más tiempo para que las diferencias entre rotaciones se expresen más contundentemente y puedan ser detectadas con variables de este tipo. Cabe mencionar que algunas rotaciones solo cumplieron un ciclo completo al momento de ser evaluadas.

#### 4. CONCLUSIONES

En las evaluaciones realizadas en algunas variables microbiológicas, como  $\beta$ -glucosidasa y porcentaje de colonización micorrízica, se separa el tratamiento correspondiente a la rotación arroz continuo, que es una de las rotaciones más intensivas en cuanto al uso del suelo; por otro lado, se puede observar que el arroz después de arroz varía las propiedades microbiológicas del suelo, como en la rotación de arroz-pradera larga, aunque la pradera larga parece restaurar las condiciones del suelo, por ejemplo, al evaluar variables como  $\beta$ -glucosidasa, índices de diversidad metabólica, ureasa, porcentaje de colonización micorrízica y porcentaje de arbusculos.

Las condiciones durante el cultivo de arroz, como la anaerobiosis generada por el riego, pueden haber alterado la microbiota del suelo momentáneamente, afectando las variables: pH, fosfatasa alcalina, ureasa y *AWCD*.

En gran parte de las variables microbiológicas estudiadas no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, lo que puede relacionarse a cierta estabilidad en la dinámica del carbono debido a ser agricultura con siembra directa y aplicarse buenas prácticas agrícolas que conservan el recurso suelo.

Por otro lado, se evidencian limitantes en la investigación, como la gran variabilidad en los manejos agronómicos que afectan a la microbiota y que no fueron identificados y cuantificados como factores.

Se concluye que sería necesario seguir monitoreando las variables microbiológicas para poder sugerir una como indicador de sostenibilidad en suelos arroceros.

## 5. **BIBLIOGRAFÍA**

- Acosta-Martinez V, Cano A, Johnson J. 2018. Simultaneous determination of multiple soil enzyme activities for soil health-biogeochemical indices. *Applied soil ecology*, 126(2018): 121 - 128. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.11.024>.
- Adhikari P, Araya H, Aruna G, Balamatti A, Banerjee S, Baskaran , Barah BC, Behera D, Berhe T, Boruah P, Dhar S, Edwards S, Fulford M, Gujja B, Ibrahim H, Kabir H, Kassam A, Khadka RB, Koma YS, Natarajan US, Perez R, Sen D, Sharif A, Singh G, Styger E, Thakur AK, Tiwari A, Uphoff N, Verma A. 2018. System of crop intensification for more productive, resource-conserving, climate-resilient, and sustainable agriculture: experience with diverse crops in varying agroecologies. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 16(1): 1 - 28. doi: <https://doi.org/10.1080/14735903.2017.1402504>.
- Ai C, Zhang S, Zhang X, Guo D, Zhou W, Huang S. 2018. Distinct responses of soil bacterial and fungal communities to changes in fertilization regime and crop rotation. *Geoderma*, 319(2018): 156 - 166. doi: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.01.010>.
- Amado TJC, Conceição PC, Bayer C, Foletto Eltz FL. 2007. Qualidade do solo avaliada pelo “soil quality kit test” em dois experimentos de longa duração no rio grande do sul. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 31: 109 - 121. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/S0100-06832007000100012>.
- Alahmad A, Decocq G, Spicher F, Kheirbeik L, Kobaissi A, Tetu T, Dubois F, Duclercq J. 2018. Cover crops in arable lands increase functional complementarity and redundancy of bacterial communities. *Journal of Applied Ecology*, 56(2019): 651 - 664. doi: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13307>.
- Ayala W, Blanco P, Castillo J, Macedo I, Martínez S, Pereira AL, Pérez de Vida F, Ricetto S, Roel A, Rosas J, Saldain N, Saravia H, Terra J, Zorrilla G. 2016.

- Día de campo. Arroz y sistemas arroceros. Unidad experimental Paso de la Laguna INIA Treinta y Tres. 15 p.
- Baraza E, Bota J, Romero-Munar A, Nogales B. 2019. Aplicación de la técnica Biolog™ ECO-plate para el estudio del perfil fisiológico de las comunidades microbianas del suelo agrícola. *Ecosistemas*, 28(3): 46 - 53. doi: <http://dx.doi.org/10.7818/ECOS.1687>.
- Benintende SM, Benintende MC, Sterren MA, De Battista JJ. 2007. Soil microbiological indicators of soil quality in four rice rotations systems. *Ecological indicators*, 8(2008): 704 - 708. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2007.12.004>.
- Beretta A, Bassahum D, Musselli R. 2014. Medir el pH del suelo en la mezcla suelo: ¿agua en reposo o agitando? *Agrociencia Uruguay*, 18(2): 90 - 94.
- Bertola M, Ferrarini A, Visioli G. 2021. Improvement of Soil Microbial Diversity through Sustainable Agricultural Practices and Its Evaluation by -Omics Approaches: A Perspective for the Environment, Food Quality and Human Safety. *Microorganisms* 9(1400): 22 p. doi: <https://doi.org/10.3390/microorganisms9071400>.
- Bhaduri D, Purakayastha TJ. 2014. Long-term tillage, water and nutrient management in rice–wheat cropping system: Assessment and response of soil quality. *Soil & Tillage Research*, 144(2014) 83 - 95. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2014.07.007>.
- Brito I, Carvalho M, Goss MJ. 2021. Managing the functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungi for the sustainable intensification of crop production. *Plants People Planet*. 3(2021): 491 - 505. Doi: <http://dx.doi.org/10.1002/ppp3.10212>.
- Bünemann E K, Bongiorno G, Baic Z, Creamer RE, De Deyn G, de Goede R, Flesskens L, Geissend V, Kuyper TW, Mäder P, Pulleman M, Suckel W, van Groenigen JW, Brussaard L. 2018. Soil quality – A critical review. *Soil biology and biochemistry*, 120(2018): 105 - 125. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>.

- Cantú MP, Becker A, Bedano JC, Schiavo HF. 2007. Evaluación de la calidad de suelos mediante el uso de indicadores e índices. *Ciencia del suelo* (Argentina), 25(2): 173 - 178.
- Castillo CG, Borie F, Oehl F, Sieverding E. 2016. Arbuscular mycorrhizal fungi biodiversity: prospecting in Southern-Central zone of Chile. A review. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 16 (2): 400 - 422.
- Cleveland CC, Reed SC, Keller AB, Nemergut DR, O'Neill SP, Ostertag R, Vitousek PM. 2013. Litter quality versus soil microbial community controls over decomposition: a quantitative analysis. *Oecologia*, 174(2014):283–294. doi: <https://doi.org/10.1007/s00442-013-2758-9>.
- Covacevich F, Echeverria HE, Aguirrezabal LAN. 2001. Comparación de dos técnicas de cuantificación de infección micorrizica. *Ciencia del Suelo*, 19(2): 155 - 158.
- Culman SW, Hurisso TT, Wade J. 2021. Permanganate Oxidizable Carbon: An Indicator of 1 Biologically-Active Soil Carbon. En: Karlen DL, Stott DE, Mikha MM (Eds.). *Laboratory Methods for Soil Health Analysis, Volume 2*. USA: John Wiley & Sons. 152 - 175.
- Da Silva Sousa C, Cezar Menezes RS, De Sá Barretto Sampaio EV, De Sousa Lima F. 2012. *Ciências Agrárias*, 33(1): 3033 - 3044. doi: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Supl1p3033>.
- Dai J, Hu J, Zhu A, Bai J, Wang J, Lin X. 2015. No tillage enhances arbuscular mycorrhizal fungal population, glomalin-related soil protein content, and organic carbón accumulation in soil macroaggregates. *Soil sediments*, 15 (2015): 1055 – 1062. doi: <https://doi.org/10.1007/s11368-015-1091-9>.
- Di Rienzo JA, Macchiavelli R, Casanoves F. 2017. *Modelos Lineales Generalizados Mixtos Aplicaciones en InfoStat*. Córdoba, Argentina. 101 p.
- DIEA-MGAP (Dirección de Estadísticas Agropecuarias). 2021. *Encuesta de arroz. Zafra 2020/21*. 13 p.

- Dick RP. 1992. A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 40(1992): 25 - 36.
- Dos Santos Rheinheimer D, Costa de Campos B, Giacomini SJ, Conceição PC, Campanhola Bortoluzzi E. 2008. Comparação de métodos de determinação de carbono orgânico total no solo. *Revista Brasileira de Ciência do Solo*, 32(2008): 435 - 440.
- Eivazi F, Tabatabai MA. 1988. Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil biology and biochemistry*, 20(5): 601 - 606.
- Ekenler M, Tabatabai MA. 2003. Tillage and residue management effects on b-glucosaminidase activity in soils. *Soil Biology & Biochemistry*, 35(2003): 871 - 874. doi: [https://doi.org/10.1016/S0038-0717\(03\)00094-4](https://doi.org/10.1016/S0038-0717(03)00094-4).
- Ernst O, Siri-Prieto G. 2009. Impact of perennial pasture and tillage systems on carbon input and soil quality indicators. *Soil Tillage Research* (2009), 9 p. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2009.08.001>.
- Ernst O, Bentancur O, Borges A. 2002. Descomposición de rastrojo de cultivos en siembra sin laboreo: trigo, maíz, soja y trigo después de maíz o de soja. *Agrociencia*, 6(2002):20 - 26.
- Ezeokoli OT, Nuaila VNA, Obieze CC, Muetanene BA, Fraga I, Tesinde MN, Ndayiragije A, Coutinho J, Melo AMP, Adeleke RA, Ribeiro-Barros AI, Fangueiro D. 2021. Assessing the Impact of Rice Cultivation and Off-Season Period on Dynamics of Soil Enzyme Activities and Bacterial Communities in Two Agro-Ecological Regions of Mozambique. *Agronomy*, (11)694: 29 p. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy11040694>.
- FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations). 2017. *Conservation Agriculture*. Roma, Italia. 2 p.
- FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations). 2016. *Maize rice wheat. A guide to sustainable cereal production*. Roma, Italia. 124 p.

- FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations). 2008. Guide to laboratory establishment for plant nutrient and analysis. FAO Fertilizer and plant nutrition bulletin 19. Roma, Italia. 204 p.
- FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations). 2004. El arroz y la nutrición humana. Roma, Italia. 2 p.
- Fraç M, Oszust K, Lipiec J. 2012. Community Level Physiological Profiles (CLPP), Characterization and Microbial Activity of Soil Amended with Dairy Sewage Sludge. *Sensors*, 12 (2012): 3253 - 3268; doi: <https://doi.org/10.3390/s120303253>.
- Frioni L. 2011. Microbiología: básica, ambiental y agrícola. Orientación Gráfica Editora SRL (Eds.). Buenos Aires, Argentina. 744 p.
- Fernández LA, Sagardoy MA, Gómez MA. 2008. Estudio de la fosfatasa ácida y alcalina en suelos de la región pampeana norte del área sojera argentina. *Ciencia del suelo*, (Argentina) 26(1): 35 - 40.
- Fernández-Scavino A, Oreggioni D, Martínez-Pereyra A, Tarlera S, Terra JA, Irisarri P. 2022. Season and No-Till Rice Crop Intensification Affect Soil Microbial Populations Involved in CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O Emissions. *Frontiers in Soil Science* 2(2022): Article 832600 20 p. doi: <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.832600>.
- Ferraro B, Lanfranco B. 2016. Competitividad internacional y soporte de la economía nacional: un desafío para la cadena arrocera. *Revista INIA* n.º 46: 50-54.
- Ferrera Cerrato R, Alarcón A. 2001. La microbiología del suelo en la agricultura sostenible. *Ciencia Ergo*, 8(2): 175 - 183.
- Gałazka A, Grzadziel J. 2018. Fungal genetics and functional diversity of microbial communities in the soil under long-term monoculture of maize using different cultivation techniques. *Frontiers in microbiology*, 9(2018): article 76. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00076>.
- García S, Pezzani F, Rodríguez-Blanco A. 2017. Long-term phosphorus fertilization effects on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in Uruguayan grasses. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. 17(4): 1013-1027.



- 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 and Environmental Microbiology*, 57(8): 2351 - 2359.
- Gómez-Jorin LA, Morales-Valdes A, Dueñas-Vega G, Dantin-Martínez JM, Chávez-Gonzalez N, Torres-Leblanch M. 2012. Contenido de Carbono y Nitrógeno de la biomasa microbiana en suelos de La Habana. *Agronomía mesoamericana*, 23(1): 179 - 187.
- Hai-Ming T, Xiao-Ping X, Wen-Guang T, Ye-Chun L, Ke W, Guang-Li Y. 2014. Effects of Winter Cover Crops Residue Returning on Soil Enzyme Activities and Soil Microbial Community in Double-Cropping Rice Fields. *PLOS ONE*, 9(6): e100443. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100443>.
- Hammer Ø. 2020. PAST Paleontological Statistics Version 4.0 Reference manual. University of Oslo. Oslo, Noruega. 278 p.
- Haynes RJ, Swift RS, Stephen RC. 1991. Influence of mixed cropping rotations (pastureable) on organic matter content, water stable aggregation and clod porosity in a group of soils. *Soil & Tillage Research*, 19(1991): 77 - 87.
- Henríquez C, Uribe L, Valenciano A, Nogales R. 2014. Actividad enzimática del suelo -Deshidrogenasa, beta-glucosidasa, fosfatasa y ureasa- bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense*, 38(1): 43 - 54.
- INIA (Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria). 2018. Día de campo Arroz y Sistemas Arroceros Unidad Experimental Paso de la Laguna INIA Treinta y Tres. 24 p.
- Insam H, Rangger A. 1997. Microbial communities. Functional Versus Structural Approaches. Springer. Berlin, Alemania. 263 p.
- Islam MR, Chauhan PS, Kim Y, Kim M, Sa T. 2011. Community level functional diversity and enzyme activities in paddy soils under different long-term fertilizer management practices. *Biology and Fertility of Soils*, 47(2011): 599 - 604. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-010-0524-2>.

- Kandeler, E. 1996. Urease activity by colorimetric technique. En: Schinner F, Kandeler E, Öhlinger R, Margesin R (Eds.). *Methods in Soil Biology*. Berlin, Germany: Springer. 171 - 174.
- Lu S, Lepo JE, Song H, Guan C, Zhang Z. 2018. Increased rice yield in long-term crop rotation regimes through improved soil structure, rhizosphere microbial communities, and nutrient bioavailability in paddy soil. *Biology and Fertility of Soils*, 54(2018): 909 - 923. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-018-1315-4>.
- Macedo I, Pravia MV, Castillo J, Terra JA. 2021a. Soil organic matter in physical fractions after intensification of irrigated rice-pasture rotation systems. *Soil & Tillage Research*, 213(2021): 10p. <https://doi.org/10.1016/j.still.2021.105160>.
- Macedo I, Roel A, Ayala W, Pravia MV, Terra JA, Pittelkow CM. 2021b. Irrigated rice rotations affect yield and soil organic carbon sequestration in temperate South America (en línea) 12 enero 2022. *Agronomy journal*. doi: <https://doi.org/10.1002/agj2.20964>.
- Macedo I, Castillo J, Saldain N, Martínez S, Ayala W, Hernández J, Serrón N, Bordagorri A, Zorrilla G, Terra J. 2016. Nuevas rotaciones arroceras, primero datos de productividad. *Revista Asociación de cultivadores de arroz n.º 88*: 33-39.
- Martínez S, Escalante F. 2020. Las comunidades de microorganismos asociadas a suelos arroceros. *Revista INIA n.º 63*: 58 - 62.
- Matson PA, Parton WJ, Power AG, Swif MJ. 1997. Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. *Science*, 277: 504 - 509. doi: <https://doi.org/10.1126/science.277.5325.504>.
- Mebius LJ. 1960. A rapid method for the determination of organ-carbon in soil. *Analithica Chimica Acta*, 22:120 - 124.
- MGAP (Ministerio de Ganadería Agricultura y Pesca). 2013. *Guía de buenas prácticas agrícolas*. Uruguay. 53 p.
- Moebius-Clune BN, Moebius-Clune DJ, Gugino BK, Idowu OJ, Schindelbeck RR, Ristow AJ, van Es HM, Thies JE, Shayler HA, McBride MB, Kurtz KSM,

- Wolfe DW, Abawi GS. 2016. Comprehensive Assessment of Soil Health – The Cornell Framework, Edition 3.2. Geneva, NY: Cornell University. 123p.
- Morón DA. 2001. El rol de los rastrojos en la fertilidad del suelo. En: Siembra directa en el Cono Sur. Montevideo (Uruguay) PROCISUR, 2001. Díaz Rossello R (Ed.). 387 – 405.
- Motschenbacher JM. 2012. Long-Term Effects of Rice Rotation, Tillage, and Fertility on Near-Surface Soil Carbon and Nitrogen Cycling. Fayetteville, Arkansa, EUA. University of Arkansas. 262 p.
- Mungai NW, Motavalli PP, Kremer RJ, Nelson KA. 2005. Spatial variation of soil enzyme activities and microbial functional diversity in temperate alley cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, 42(2005): 129 - 136. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-005-0005-1>.
- Nadimi-Goki M, Bini1 C, Wahsha M, Kato Y, Fornasier F. 2017. Enzyme dynamics in contaminated paddy soils under different cropping patterns (NE Italy). *J Soils sediments*, 18(2018): 2157 - 2171. doi: <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1830-1>.
- Ngwira A, Sleutel S, De Neve S. 2012. Soil carbon dynamics as influenced by tillage and crop residue management in loamy sand and sandy loam soils under smallholder farmers' conditions in Malawi. *Nutrient Cycling in Agroecosystem*, 92(2012): 315 - 328. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s10705-012-9492-2>.
- Ohlinger R. 1996a. Soil Respiration by Titration. En: Schinner F, Kandeler E, Öhlinger R, Margesin R (Eds.). *Methods in Soil Biology*. Berlin, Germany: Springer. 95 - 98.
- Ohlinger R. 1996b. Biomass-C by Fumigation-Extraction Technique. En: Schinner F, Kandeler E, Öhlinger R, Margesin R (Eds.). *Methods in Soil Biology*. Berlin, Germany: Springer. 56 - 58.
- Poder R. 1996. Ectomycorrhizae. En: Schinner F, Kandeler E, Öhlinger R, Margesin R (Eds.). *Methods in Soil Biology*. Berlin, Germany: Springer. 281 - 293.

- Prasad M, Chaudhary M, Srinivasan R, Mahawer SK. 2018. Glomalin: A miracle protein for soil sustainability. *Indian Farmer*, 5(09): 1092 - 1100.
- Qu Y, Tang J, Li Z, Zhou Z, Wang J, Wang S, Cao Y. 2020. Soil Enzyme Activity and Microbial Metabolic Function Diversity in Soda Saline–Alkali Rice Paddy Fields of Northeast China. *Sustainability*, 12(2020): 15p. Doi: <http://dx.doi.org/10.3390/su122310095>.
- Reardon CL, Wuest SB. 2016. Soil amendments yield persisting effects on the microbial communities-a 7-year study. *Applied Soil Ecology*, 101(2016): 107 - 116. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.12.013>.
- Redmile-Gordon MA, Armenise E, White RP, Hirsch PR, Goulding KWT. 2013. A comparison of two colorimetric assays, based upon Lowry and Bradford techniques, to estimate total protein in soil extracts. *Soil Biology & biochemistry*, 67(2013): 166 - 173. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2013.08.017>.
- Reyna DL, Wall LG. 2013. Revision of two colorimetric methods to quantify glomalin-related compounds in soils subjected to different managements. *Biology and Fertility of Soils*, 50(2014): 395 - 400. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-013-0834-2>.
- Rillig MC, Ramsey PW, Morris S, Paul EA. 2003. Glomalin, an arbuscular-mycorrhizal fungal soil protein, responds to land-use change. *Plant and Soil*, 253: 293 - 299.
- Rodriguez-Blanco A, Giménez M. 2019. Early Effects of Land Use Intensity on Arbuscular Mycorrhizal Fungi in Rice-Soybean Rotations. En: Zúñiga-Dávila, D., González-Andrés, F., Ormeño-Orrillo, E. (Eds.). *Microbial Probiotics for Agricultural Systems. Sustainability in Plant and Crop Protection*. Cham, Suiza: Springer. 179-191. Doi: [https://doi.org/10.1007/978-3-030-17597-9\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-030-17597-9_12).
- Ruiz Sánchez M, Santana Baños Y, Muñoz Hernández Y, Martínez AY, Benitez M, Bharat BV, Peña Chávez Y. 2014. Arbuscular mycorrhizal symbiosis in rice (*Oryza sativa* L.) plants in flooded and non-flooded conditions. *Acta*

- agronómica, 64(3): 211 - 217. doi:  
<http://dx.doi.org/10.15446/acag.v64n3.43087>.
- Saldías R, Penengo C, Lanfranco B, Baethgen W. 2016. El sector arrocero al 2030: soluciones de desarrollo sostenible. Revista INIA n.o 44: 47-49.
- Schinner F, Olingher R, Kanderler E, Margesing R. 1996. Methods in Soil Biology. Springer (Eds.). Alemania. 426 p.
- Seybold C, Mausbach MJ, Karlen DL, Rogers H. 1997. Quantification of soil quality. En: Lal R, Kimble JM, Follet RF, Stewart BA. (Eds.). Soil processes and the carbon cycle. Boca Ratón, Florida, EUA. CRS Press. 387 - 404.
- Smith SE, Read DJ. 2008. Mycorrhizal Symbiosis. Third edition. Elsevier. Países Bajos. 787 p.
- Snyder C, Slaton N. 2002. Effects of soil flooding and drying on phosphorus reactions. News and Views Newsletter (en línea) 12 enero 2022. Potash and Phosphate institute. Atlanta, Georgia.  
<https://www.yumpu.com/en/document/read/23491080/effects-of-soil-flooding-and-drying-on-phosphorus-reactions>.
- Soman C, Li D, Wander MM, Kent AD. 2016. Long-term fertilizer and crop-rotation treatments differentially affect soil bacterial community structure. Plant soil, 413(2017): 145 - 159. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3083-y>.
- Souza de Pontes J, Oehl F, Pereira CD, Torres de Toledo Machado C, Coyne D, Alves da Silva DK, Costa LM. 2017. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi in the Brazilian's Cerrado and in soybean under conservation and conventional tillage. Applied Soil Ecology, 117/118(2017): 178 - 189. Doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.04.023>.
- Tabatabai M. 1994. Soil Enzymes. En: SSSA. Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties (Book series No. 5). 775-833 p.
- Temagne NC, Wakem G, Taffouo VD, Mbogne TJ, Onguene AN, Youmbi E, Ntsomboh-Ntsefong G. 2017. Effect of phosphorus fertilization on arbuscular mycorrhizal fungi in the Bambara groundnut rhizosphere. African journal of

- microbiology research, 11(37): 1399 - 1410. doi:  
<https://doi.org/10.5897/AJMR2017.8680>.
- Terra J, Martínez S, Saravia H, Mesones B, Álvarez O. 2020. Arroz 2020. Serie técnica INIA n.º 257. 128 p. doi: <http://doi.org/10.35676/INIA/ST.257>.
- Trejo D, Barois I, Sangabriel-Conde W. 2015. Disturbance and land use effect on functional diversity of the arbuscular mycorrhizal fungi. *Agroforest Systems*, 90 (2016): 265 - 279.
- Tseng MC, Roel A, Deambrosi E, Terra J, Zorrilla G, Riccetto S, Pittelkow CM. 2020. Towards actionable research frameworks for sustainable intensification in high-yielding rice systems. *Scientific reports*, 10(9975): 1 - 13. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63251-w>.
- Ujjainiya P, Choudhary M, Jatav HS, Tokala VY, Rajput VD, Minkina T. 2021. Impact of Weed Management Practices on Soil Microflora and Dehydrogenase Enzyme Activity under Varying Levels of Nitrogen in Winter Season Onion (*Allium cepa* L.). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 108(2022): 430 - 436. doi: <https://doi.org/10.1007/s00128-021-03265-w>.
- Uruguay XXI. 2013. Sector arrocero. Promoción de inversiones y exportación. 15 p.
- USDA (United States Department of Agriculture) Natural Resources Conservation Service. 2014. Soil Quality Indicators.
- Vallino M, Fiorilli V, Bonfante P. 2014. Rice flooding negatively impacts root branching and arbuscular mycorrhizal colonization, but not fungal viability. *Plant, Cell & Environment*, 37: 57 - 572.
- Venter ZS, Jacobs K, Hawkins HJ. 2016. The impact of crop rotation on soil microbial diversity: A meta-analysis. *Pedobiologia - Journal of Soil Ecology*, 59(2016): 215 - 223. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pedobi.2016.04.001>.
- Vierheilig H, Coughlan AP, Wyss U, Piche Y. 1998. Ink and Vinegar, a Simple Staining Technique for Arbuscular-Mycorrhizal Fungi. *Applied and environmental microbiology*, 64 (12): 5004 - 5007.

- Von Mersi W. Dehydrogenase Activity with the Substrate INT. 1996. En: Schinner F, Kandeler E, Öhlinger R, Margesin R (Eds.). *Methods in Soil Biology*. Berlin, Germany: Springer. 243 – 245.
- Walker C. 2005. A Simple Blue Staining Technique for Arbuscular Mycorrhizal and Other Root-Inhabiting Fungi. *Inoculum*, 56(4): 68 - 69.
- Wang L, Huang D. 2021. Soil microbial community composition in a paddy field with different fertilization managements. *Canadian Journal of Microbiology*, 67(2021): 864 - 874. doi: <http://dx.doi.org/10.1139/cjm-2020-0590>.
- Weil RR, Brady NC. 2017. *The Nature and Properties of soils*. Fifteenth Edition. Prentice Hall. 1086 p.
- Weil RR, Islam KR, Stine MA, Gruver JB, Samson-Liebig SE. 2003. Estimating active carbon for soil quality assessment: a simplified method for laboratory and field use. *American journal of alternative agriculture*, 18(1): 3 - 17. doi: <https://doi.org/10.1079/AJAA200228>.
- Wingeyer AB, Amado TJC, Pérez-Bidegain M, Studdert GA, Perdomo Varela CH, Garcia FO, Karlen DL. 2015. Soil Quality Impacts of Current South American Agricultural Practices. *Sustainability*, 7(2015): 2213 - 2242. doi: <http://dx.doi.org/doi:10.3390/su7022213>.
- Xu S, Silveira ML, Inglett KS, Sollenberger LE, Gerber S. 2017. Soil microbial community responses to long-term land use intensification in subtropical grazing lands. *Geoderma*, 293(2017): 73 - 81. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.01.019>.
- Xue D, Yao H, Ge D, Huang C. 2008. Soil Microbial Community Structure in Diverse Land Use Systems: A Comparative Study Using Biolog, DGGE, and PLFA Analyses. *Pedosphere*, 18(5): 653 - 663.
- Zorrilla G, Martínez S, Terra J, Sarvia H. 2018. *Arroz 2018*. Serie técnica INIA n.º 246. 93 p.

## 6. ANEXOS

### 6.1. INTENSIFICACIÓN EN LOS SISTEMAS ARROCEROS Y SU IMPACTO SOBRE EL POTENCIAL FUNCIONAL DE LA COMUNIDAD MICROBIANA EDÁFICA/ INTENSIFICATION IN PADDY SYSTEMS AND ITS IMPACT ON THE FUNCTIONAL POTENTIAL OF THE EDAPHIC MICROBIAL COMMUNITY <sup>1</sup>

*Leticia de Souza* (ORCID 1111-2222-3333-4444): Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, Montevideo, Uruguay.

*Andrea Rodríguez-Blanco* (ORCID 5555-6666-7777-8888): Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, Montevideo, Uruguay.

*Pilar Irisarri* (ORCID 9999-1111-2222-3333): Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Garzón 780, Montevideo, Uruguay.

Correspondencia a: [letidesou@gmail.com](mailto:letidesou@gmail.com)

#### **Resumen**

Los microorganismos del suelo son capaces de afectar directa e indirectamente la productividad de los cultivos. Por otro lado, el manejo agrícola de los suelos puede provocar impactos en la estructura y funcionamiento de las comunidades microbianas del suelo. Se estudiaron variables microbiológicas en cuatro rotaciones arroceras con diferente nivel de intensificación de uso del suelo de la «Plataforma de Largo plazo de Arroz, Pasturas y Otros Cultivos» del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Treinta y Tres, Uruguay. Las rotaciones evaluadas fueron: arroz-pradera larga, arroz-soja-pradera larga, arroz-soja continuo y arroz continuo. Se realizaron muestreos previo a la siembra de arroz y previo a la cosecha de arroz. Las variables analizadas fueron: actividades enzimáticas y el perfil fisiológico de la comunidad micro-

---

<sup>1</sup> Para publicar en revista *AgriScientia*.

Normas para envío en <https://revistas.unc.edu.ar/index.php/agris/about/submissions>



biana obtenido con las placas Biolog EcoPlates. En algunas variables, se separa la rotación arroz continuo; en otras variables, se puede observar que el arroz después de arroz varía las propiedades microbiológicas del suelo en la rotación arroz-pradera larga, aunque la pradera larga parece restaurar las condiciones del suelo. La anaerobiosis generada por el riego puede haber afectado algunas variables.

**Palabras clave:** enzimas,  $\beta$ -glucosidasa, *CLPP*-Biolog, sostenibilidad

### **Summary**

Soil microorganisms directly and indirectly affects the productivity of crops. On the other hand, agricultural soil management can make an impact on the structure and functioning of soil microbial communities. Microbiological variables were studied in four rice rotations with different levels of land use intensification of the «Long-term Platform of Rice, Pasture and Other Crops» of the National Institute of Agronomy Research Treinta y Tres, Uruguay. The rotations evaluated were: long-term pasture-rice, long-term pasture-soybean-rice, continuous soybean-rice and continuous rice. Soil samplings were carried prior to sowing rice and prior to rice harvest. The microbiological variables analyzed were: enzymatic activities and the Community Level Physiological Profile - CLPP obtained with the Biolog EcoPlates. In some microbiological variables, the continuous rice rotation is separated, in others variables it can be observed that rice after rice varies the microbiological properties of soil in the long-term pasture rice rotation, although the pasture seems to restore soil conditions. Waterlogging generated by irrigation may have affected some variables.

**Keywords:** enzymes,  $\beta$ -glucosidase, *CLPP*-Biolog, sustainability

## **Introducción**

### *Intensificación de la producción arrocerá*

El arroz (*Oryza sativa L.*) es considerado un alimento básico (Food and Agricultural Organization, 2004). El Uruguay exporta más de 90 % de lo producido anualmente, por lo que su producción está íntimamente relacionada a los mercados internacionales (Ferraro y Lanfranco, 2016, Saldías et al., 2016, Uruguay XXI, 2013).

La intensificación agrícola para la mayor producción de alimentos por área de tierra se ha basado en mejorar y aumentar los insumos agrícolas, pero esto ha demostrado tener efectos negativos a nivel ambiental y en costos económicos, por lo que ha surgido la preocupación de cómo mantener una intensificación agrícola en el largo plazo (Adhikari et al., 2018, Matson et al., 1997).

Actualmente, se está en la búsqueda de alternativas de intensificación sostenible que permitan aumentar la producción reduciendo el uso de insumos y los impactos negativos sobre el medioambiente, para así conservar los recursos naturales y, a la vez, poder cumplir con el objetivo de alimentar a una población mundial en crecimiento, además de afrontar las condiciones del cambio climático (Brito et al., 2021, Tseng et al., 2020, Terra et al., 2020, Martínez y Escalante, 2020, Zorrilla et al., 2018, Adhikari et al., 2018, Macedo et al., 2016, Saldías et al., 2016, Ayala et al., 2016).

Los productores uruguayos han intensificado las rotaciones de arroz, sobre todo disminuyendo el período de pasturas en pos de una mayor producción de granos. Por lo que la intensificación se asocia a una mayor intensidad de cultivos de granos dentro de la rotación y a mayores requerimientos de insumos para la producción (Macedo et al., 2021).

### *Indicadores microbiológicos de calidad del suelo*

Los indicadores de calidad del suelo son variables que permiten identificar cambios en las características del suelo como los provocados por modificaciones en el manejo agrícola (Wingeyer et al., 2015, Bhaduri y Purakayastha, 2014, Seybold et al., 1997).

Comunidades particulares de microorganismos están asociadas a condiciones particulares de textura, pH y concentración de nutrientes (fósforo, nitrógeno y carbono), la biota del suelo es muy sensible a cambios en el ambiente, como los provocados por la actividad agrícola, por lo que podrían servir como buenos indicadores de sostenibilidad (Bünemann et al., 2018, Xu et al., 2017, Islam et al., 2011, Benintende et al., 2007, Mungai et al., 2005).

La intensificación del uso del suelo en general resulta en un cambio en la cobertura vegetal y en las entradas de nutrientes al suelo, lo cual tiene el potencial de afectar a las comunidades microbianas que lo habitan (Lu et al., 2018, Xu et al., 2017). Los cambios en las comunidades microbianas por variantes en el manejo usualmente se relacionan a modificaciones en la cantidad y calidad de sustratos o fuentes carbonadas que llegan al suelo (Reardon y Wuest, 2016, FAO, 2017). También la fertilización afecta a los microorganismos edáficos (Soman et al., 2016, Islam et al., 2011).

Las actividades enzimáticas del suelo han sido descritas por varios autores como indicadores sensibles a los cambios en el manejo al responder más rápido que otras variables, por lo que se han propuesto como indicadores «tempranos» de la actividad biológica del suelo (Ezeokoli et al., 2021, Lu et al., 2018, Acosta-Martinez et al., 2018, Ai et al., 2018, Nadimi-Goki et al., 2017, Reardon y Wuest, 2016, Hai-Ming et al., 2014, Henríquez et al., 2014).

El perfil fisiológico de la comunidad microbiana o, por sus siglas en inglés, *CLPP* (*Community Level of Physiological Profile*) puede ser determinado mediante la utilización de placas Biolog-EcoPlates™ (Biolog Inc., Hayward, CA, EE. UU.), las cuales presentan diferentes sustratos carbonados que son utilizados por los microorganismos heterótrofos aerobios de las muestras ambientales. La estimación de la diversidad funcional a través del *CLPP* está reportada como un método sensible a cambios en el manejo del suelo (Baraza et al., 2019, Gałazka y Grzadziel, 2018, Xue et al., 2008, Alahmad et al., 2018, Soman et al., 2016, Frac et al., 2012, Islam, 2011).

El objetivo de esta investigación fue evaluar el impacto de la intensificación en las rotaciones arroceras sobre el potencial funcional de la comunidad microbiana, a

través del monitoreo de variables microbiológicas como actividades enzimáticas y el perfil fisiológico de la comunidad microbiana, en cuatro rotaciones arroceras con diferente nivel de intensidad de uso del suelo.

## **Materiales y métodos**

### *Sitio de muestreo*

Para este trabajo, se utilizó el ensayo «Plataforma de Largo plazo de Arroz, Pasturas y Otros Cultivos» del Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria (INIA), Treinta y Tres, Uruguay. Esta plataforma fue establecida en 2012 en Paso de la Laguna, departamento de Treinta y Tres (coordenadas 33°16'29''W, 54°10'37''S), por lo que es un experimento joven que actualmente se encuentra estabilizado. El diseño experimental es de tres bloques definidos por altura, pendiente y gradiente de contenido de sodio del suelo. Las parcelas poseen un tamaño de 60 x 18 m. Se encuentran todas las etapas de las rotaciones al mismo tiempo. La historia del predio previa a la instalación del ensayo es de 34 años de rotación arroceras clásica (Macedo et al., 2021).

Se estudió el suelo desde el punto de vista del potencial funcional microbiano de cuatro rotaciones con diferente intensidad de uso del suelo de la plataforma (tabla 1): 1) arroz-pradera larga o rotación clásica (APL): primer arroz, puente verde de trébol alejandrino, segundo arroz, pradera de 3,5 años de festuca (*Festuca arundinacea*), trébol blanco (*Trifolium repens*) y lotus (*Lotus corniculatus*); 2) arroz-soja-pradera larga (ASPL): primer arroz, puente verde de raigrás (*Lolium multiflorum Lam.*), primera soja (*Glycine max L.*), puente verde de raigrás, segunda soja, puente verde de raigrás, segundo arroz, pradera de 2,5 años de festulolium (*Festulolium*) y lotus; 3) arroz-soja continuo (ASC): arroz, puente verde de trébol alejandrino, soja, puente verde de raigrás y 4) arroz continuo (AC): arroz (*Oryza sativa L.*), puente verde de trébol alejandrino (*Trifolium alexandrinum*).

Las rotaciones más intensivas son las de agricultura continua, tanto arroz continuo (rotación AC) como arroz-soja continuo (rotación ASC) que presentan el 100 % de los años con cultivos agrícolas en verano. Por otro lado, las rotaciones

menos intensivas son las rotaciones arroz-pradera larga (rotación APL) y arroz-soja-pradera larga (rotación ASPL); estas últimas presentan 40 % y 66 % de los años con cultivos, respectivamente (Macedo et al., 2016) (tabla 2). Las diferencias en cuanto a la intensidad también se pueden observar en las dosis de fertilizantes que se utilizan en cada rotación; la rotación de arroz continuo es la que mayores dosis utiliza durante el cultivo de arroz (tabla 3).

Además, existen diferencias en cuanto a las especies utilizadas de cultivos agrícolas (arroz y soja), pasturas perennes (festuca, trébol blanco, lotus, festulolium) y puentes verdes o pasturas anuales para cobertura invernal (trébol alejandrino y raigrás).

#### *Muestreo del suelo*

Se muestreó el suelo previo a la siembra de arroz, durante pasturas perennes o coberturas invernales (también llamadas puentes verdes) en barbecho químico, es decir quemada con herbicidas; y previo a la cosecha de arroz con el campo recientemente drenado. Se tomaron muestras aleatorias con taladro, compuestas de 15 cilindros de los primeros 15 cm.

Para las determinaciones en laboratorio, el suelo muestreado fue aireado y pasado por un tamiz de 2 mm, posteriormente fue guardado en heladera a 4 °C para su conservación (Moebius-Clune et al., 2016). Las determinaciones realizadas en cada muestreo fueron actividades enzimáticas (deshidrogenasa,  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasa alcalina, ureasa) y el perfil metabólico de la comunidad microbiana. Además, se determinó el pH del suelo.

#### *Deshidrogenasa*

Para la determinación de este grupo de enzimas, se utilizó la medida espectrofotométrica del INTF (iodonitrotetrazolioformazán) producido por la reducción del INT (2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil5-feniltetrazolio) o cuando se pone a incubar el suelo en un medio tamponado y en oscuridad. Como control se usa un suelo esterilizado en autoclave (Von Mersi, 1996).

A 1 g de suelo se le agregaron 1,5 ml de *buffer* Tris 1 M pH 7 y 2 ml de solución de sustrato INT. Para la preparación de la solución del sustrato, a 500 mg de

INT se agregaron 2 ml de N-n-dimetilformamida para su dilución y luego se llevó a 100 ml con agua destilada en matraz aforado.

Los tubos se incubaron en oscuridad durante 2 horas a 40 °C. A continuación de la incubación, se les agregó 10 ml de acetona comercial y se dejaron en oscuridad y a temperatura ambiente 1 hora agitando cada 20 minutos. Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 3 minutos. Luego, se midió el INTF en el espectrofotómetro a 464 nm, estableciendo un blanco de acetona. Por cada muestra se realizaron dos repeticiones.

La actividad deshidrogenasa se expresó en  $\mu\text{g}$  de INTF por gramo de suelo seco por hora, calculada a través de una interpolación del dato del espectrofotómetro en una curva realizada con diferentes concentraciones conocidas de INTF.

#### *$\beta$ -glucosidasa*

En este caso se determinó espectrofotométrica el p-nitrofenol liberado cuando el suelo es incubado con una solución tamponada de p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranososa (Tabatabai, 1994).

A 1 g de suelo se le agregó 1 ml de solución sustrato p-nitrofenil- $\beta$ -D-glucopiranososa 25 mM y 4 ml de *buffer* universal modificado. Se incubó 1 hora en baño a 37 °C. A continuación, se le agregó 1 ml de  $\text{CaCl}_2$  0,5 M y 4 ml de *buffer* Tris 100 mM pH 12. Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 3 minutos. Inmediatamente, se midió la concentración de p-nitrofenol a 415 nm, estableciendo un blanco con los reactivos usados. Por cada muestra se realizaron dos repeticiones. Para los controles, se agregó la solución sustrato luego de la incubación (Tabatabai, 1994, Eivazi y Tabatabai, 1988).

La actividad  $\beta$ -glucosidasa se expresó en  $\mu\text{g}$  de p-nitrofenol por gramo de suelo seco por hora, calculada a través de una interpolación del dato del espectrofotómetro en una curva realizada con diferentes concentraciones conocidas de p-nitrofenol.

#### *Fosfatasa alcalina*

Se determinó espectrofotométrica el p-nitrofenol liberado cuando el suelo es incubado con una solución tamponada de p-nitrofenilfosfato (Tabatabai, 1994).

A 1g de suelo se le agregó 1 ml de solución de p-nitrofenilfosfato y 4 ml de *buffer* alcalino pH 11. Para la preparación de la solución del sustrato, se disolvieron 0,4268 g de p-nitrofenilfosfato en *buffer* para fosfatasa alcalina pH 11 y se llevó a 100 ml en matraz aforado. Las muestras se incubaron 1 hora en baño con agitación a 37 °C. A continuación, se le agregó 1 ml de CaCl<sub>2</sub> 0,5 M y 4 ml de NaOH 0,5 M. Las muestras se centrifugaron a 5000 rpm durante 3 minutos. Seguidamente, se midió la concentración de p-nitrofenol a 400 nm, estableciendo un blanco con los reactivos usados. Por cada muestra se realizaron dos repeticiones. En los controles se agregó la solución sustrato luego de la incubación.

La actividad fosfatasa alcalina se expresó en µg de p-nitrofenol por gramo de suelo seco por hora, calculada a través de una interpolación del dato del espectrofotómetro en una curva realizada con diferentes concentraciones conocidas de p-nitrofenol.

#### *Ureasa*

La determinación de la actividad de esta enzima se realizó en dos pasos: primero se puso a incubar el suelo con una solución de urea, junto a un control con agua (Kandeler, 1996), y luego se determinó colorimétricamente la cantidad de amonio de los filtrados por el método de azul de indofenol (FAO, 2008).

A 5 g de suelo se le agregaron 2,5 ml de solución de urea 79,9 mM, que se incubó por 2 horas a 37 °C. A los controles se les agregaron 2 ml de agua. A continuación de la incubación, se les añadieron 50 ml de KCl 2 M y se agitó por 30 minutos a 200 rpm para extraer el amonio del complejo de intercambio y dejarlo en solución. A continuación, se filtraron con papel Whatman número 42. Para la determinación del amonio en solución, se usó el método azul de indofenol midiendo en el espectrofotómetro a 660 nm (FAO, 2008).

La actividad ureasa se expresó en µg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> por gramo de suelo seco por hora, calculada a través de una interpolación del dato del espectrofotómetro en una curva realizada con diferentes concentraciones conocidas de amonio.

### *Perfil fisiológico de la comunidad microbiana*

Previo a la realización de la técnica, se realizó un recuento de cultivables en placas a través del método de diluciones seriadas, para cerciorarse de inocular las placas Biolog con una concentración de microorganismos heterótrofos aerobios equivalente para cada uno de los tratamientos.

Se preparó una suspensión de suelo con 10 g de suelo y 90 ml de NaCl 0,85 %p/v estéril que se puso a agitar a temperatura ambiente por 30 minutos a 200 rpm. A continuación, se dejó decantar por 10 minutos. Seguido de esto, se realizó una dilución tomando 3 ml del sobrenadante y agregándolo en 27 ml de solución de NaCl 0,85 %p/v estéril. Con una pipeta multicanal se tomaron 125 µL de la muestra diluida para inocular cada pocillo de la placa Biolog-EcoPlates™ (Biolog Inc., Hayward, CA, EE. UU.).

La placa se incubó a 25 °C durante 4 días. La información se registró en un lector de placas a 595 nm cada 24 horas, hasta las 96 horas.

La respuesta microbiana en cada placa se expresó como el promedio de desarrollo de color de pocillo (*Average Well-Color Development, AWCD*), y es determinada como:  $AWCD = \sum ODi / 31$ , siendo  $ODi$  = valor de densidad óptica (*optical density*) para cada pocillo, corregido restando el pocillo control (inoculado pero sin fuente carbonada). Luego, los valores de *AWCD* fueron normalizados por placa.

El *AWCD* se estudió para cada tiempo, estableciendo en cuál de estos existía la mayor diferencia entre tratamiento. También el *AWCD* se graficó y se analizó el área debajo de la gráfica, que corresponde a la actividad por tiempo de incubación, y la pendiente de la gráfica, que corresponde a la velocidad de uso del sustrato.

Seguidamente, con los datos de *OD* de cada pocillo se realizaron otros análisis: 1) la riqueza, que se calculó como el número de fuentes carbonadas oxidadas, estableciendo un valor *cut off* o valor límite de densidad óptica de 0,25 (Alahmad et al., 2018); 2) el análisis multivariado de tipo *NM-MDS* (*Non-Metric Multi-Dimensional Scaling*) para observar agrupación de tratamientos y los test de *ANOSIM* y *PERMANOVA* para determinar diferencias entre agrupaciones y 3) se



calcularon índices equitatividad (*equitability* y *evenness*) y diversidad (Shannon) según lo especificado en el manual del software Past (Hammer, 2020).

#### *Diseño experimental y análisis estadísticos*

El diseño experimental utilizado fue el de bloques completos al azar. Las variables con distribución normal fueron analizadas utilizando un modelo general lineal. Para identificar diferencias entre tratamientos, se usó el análisis de la varianza (ANAVA) asumiendo un nivel de significancia de  $\alpha = 0,10$ . Para la comparación de las medias, se usó el test de Tukey con el mismo  $\alpha = 0,10$ . La variable riqueza fue normalizada a través de una transformación logarítmica (Ln).

Análisis multivariados se usaron con el objetivo de reducir el número de variables originales, analizar los datos por grupos y observar si había diferencias entre estos. Los análisis usados fueron: escalamiento multidimensional no métrico o *Non metric multidimensional scaling (NM-MDS)*, *ANOSIM (Analysis Of Similarities)* y *PERMANOVA (Non-Parametric MANOVA)*,

Para los análisis estadísticos y la elaboración de gráficos, se usaron los softwares de libre acceso InfoStat y Past4.0. Conjuntamente, se usaron planillas de cálculo y gráficos de Microsoft-Excel 2013.

## **Resultados y discusión**

### *Evaluación de variables microbiológicas previo a la siembra de arroz*

De las cuatro actividades enzimáticas evaluadas previo a la siembra de arroz en los suelos de las distintas rotaciones, solo se observaron diferencias significativas entre tratamientos en la actividad de la enzima  $\beta$ -glucosidasa (tabla 4). El mayor valor de  $\beta$ -glucosidasa lo presentaron los suelos de la rotación arroz continuo (AC-PV(Az)), que se diferenció de las rotaciones arroz-pradera larga y arroz-soja continuo.

Nadimi-Goki et al. (2017), estudiando rotaciones arroceras, también encontraron una mayor actividad  $\beta$ -glucosidasa en la rotación de arroz continuo o monocultivo. Según los autores, este resultado disiente con algunos trabajos que reportan que las rotaciones de cultivos aportan mayor materia orgánica que el

monocultivo, lo cual hace que se encuentre mayor actividad enzimática en las rotaciones más diversas. Cabe mencionar que, para Ekenler y Tabatabai (2003), la actividad  $\beta$ -glucosidasa también depende de la calidad de los compuestos orgánicos que llegan al suelo y no solo de la cantidad. A simple vista, en el ensayo, se encontró mayor cantidad de restos vegetales en la rotación arroz continuo que en los otros tratamientos; además, Macedo et al. (2021) encontraron que la rotación de arroz continuo produce entre 38 y 40 % más promedio anual de biomasa total (biomasa sobre el suelo más biomasa en el suelo) que las rotaciones arroz-soja continuo y arroz-pradera larga, respectivamente. Además, Macedo et al. (2021) señalan que la intensificación no hizo disminuir el carbono orgánico del suelo y los niveles de nitrógeno total se mantuvieron en todos los sistemas.

Lu et al. (2018) observaron un aumento de las actividades enzimáticas y carbono orgánico del suelo en rotaciones arroceras de agricultura continua en el largo plazo (30 años) comparada con situaciones de rotaciones arroceras con barbecho en el corto plazo (4 años), por lo que los autores atribuyen una mejora en las propiedades del suelo y un aumento de los rendimientos de arroz a la intensidad de la rotación. Al mismo tiempo, los mismos autores no encontraron diferencias entre rotaciones en las actividades enzimáticas evaluadas en el corto plazo (4 años), aunque sí las encontraron en el largo plazo (30 años).

La rotación arroz continuo es una de las rotaciones con mayor dosis de fertilizantes, lo cual puede tener un impacto en la microbiota del suelo (Soman et al., 2016, Islam et al., 2011). Ai et al. (2018) encontraron que mayores dosis de fertilizantes aumentan las actividades enzimáticas como  $\beta$ -glucosidasa; incluso para enzimas como las fosfatasa encontraron un efecto significativo de la dosis de fertilizante NPK y no de la rotación.

También se puede observar que uno de los tratamientos con menor valor en la actividad  $\beta$ -glucosidasa es el puente verde previo al segundo arroz en la rotación clásica (APL-PV(Az2)). El otro tratamiento con los menores valores de  $\beta$ -glucosidasa corresponde al puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (ASC-PV(Az)), que es una de las rotaciones más intensivas.

De los resultados se puede concluir cierta sensibilidad de la variable  $\beta$ -glucosidasa para identificar un manejo de arroz continuo. Varios autores mencionan a la actividad  $\beta$ -glucosidasa como una variable sensible a los cambios en el manejo (Ezeokoli et al., 2021, Acosta-Martinez et al., 2018, Ai et al., 2018, Nadimi-Goki et al., 2017, Xu et al., 2017, Hai-Ming et al., 2014, Henríquez et al., 2014, Islam, 2011). Ezeokoli et al. (2021) señalan que es una actividad enzimática que responde en el corto plazo, más rápido que otras enzimas.

En cuanto al perfil fisiológico de la comunidad microbiana obtenido mediante el uso de las placas Biolog, inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz, no se detectaron diferencias entre tratamientos en la actividad media de pocillo (*AWCD*) que representa la respuesta microbiana promedio (figura 1 y tabla 5). La mayor diferencia entre tratamientos se encontró a tiempo 4 ( $p$ -valor = 0,1548).

En el área debajo de la gráfica, que representa la actividad microbiana promedio por tiempo de incubación, y en la pendiente de la gráfica, que corresponde a la velocidad de uso de los sustratos, no se encontraron diferencias entre tratamientos (tabla 5).

La riqueza y los índices de equitatividad (*equitability* y *evenness*) y diversidad (Shannon) de uso de los diferentes sustratos de las placas Biolog, analizados a tiempo 4, mostraron diferencias significativas entre tratamientos (tabla 6).

Los tratamientos de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-PL(Az1) y ASPL-PV(Az2)) presentaron los mayores valores de riqueza, equitatividad y diversidad. Esta rotación es una de las menos intensivas y presenta 66 % de los años con cultivos (Macedo et al., 2016); además, combina dos cultivos agrícolas diferentes, una pradera perenne de 2,5 años de duración con dos especies (*festulolium* y *lotus*) y puentes verdes de raigrás, lo cual podría relacionarse a lo expresado por algunos autores en cuanto a que una mayor diversidad de cultivos conllevaría a una mayor diversidad de microorganismos edáficos (Venter et al., 2016, FAO, 2016). La diversidad de cultivos afecta a la microbiota edáfica a través de cambios en las entradas de carbono como exudados radiculares, tejido radicular y

residuos vegetales, y a través de asociaciones simbióticas (Martínez y Escalante, 2020, Ai et al., 2018, Xu et al., 2017).

Se podría postular que la rotación arroz-soja-pradera larga, al mostrar los valores más altos de riqueza, equitatividad y diversidad, es la alternativa más sostenible, al menos en términos de diversidad metabólica microbiana. Muchos autores mencionan a la conservación de la biodiversidad, incluida la de la microbiota edáfica, como un punto clave para una producción agrícola sostenible, lo cual implica la conservación de los recursos naturales y servicios ecosistémicos (Adhikari et al., 2018, Soman et al., 2016). FAO (2016) menciona que la diversificación de especies es una práctica para un manejo sostenible en la agricultura. Se debe tener en cuenta que este resultado se trata de valores obtenidos en un solo muestreo, por lo que debería ser corroborado con más repeticiones.

Los valores más bajos de riqueza e índices de equitatividad y diversidad se observaron en el tratamiento correspondiente al puente verde de la rotación arroz-pradera larga (APL-PV(Az2)) (tabla 6).

El análisis multivariado de tipo *NM-MDS* usando el índice de similitud Bray Curtis (figura 2) mostró que el tratamiento APL-PV(Az2) se separó del resto. No obstante, los test de *ANOSIM* y *PERMANOVA*, usando la distancia Bray Curtis, no mostraron diferencias entre tratamientos ( $p$ -valor = 0,4724 y  $p$ -valor = 0,5806, respectivamente).

#### *Evaluación de variables microbiológicas previo a la cosecha de arroz*

De todas las actividades enzimáticas estudiadas en los suelos durante el cultivo de arroz previo a cosecharse, solo se observaron diferencias entre tratamientos en la actividad de la enzima ureasa (tabla 7). El mayor valor de la actividad ureasa se registró en el cultivo de arroz luego de la pradera larga de la rotación arroz-pradera larga, la menos intensiva en el uso del suelo, con 40 % de los años con cultivos agrícolas, pudiéndose relacionar con un efecto positivo de la pradera larga sobre la actividad enzimática. Autores como Henríquez et al. (2014) reportan a esta variable como sensible a cambios en el manejo agrícola. Por otro lado, el menor valor de ureasa se registró en la rotación arroz-soja continuo, una de

las rotaciones más intensivas en el uso del suelo con 100 % de los años con cultivos agrícolas.

También para el muestreo de suelo durante el cultivo de arroz se utilizaron las placas Biolog EcoPlates para caracterizar la diversidad metabólica de las comunidades de microorganismos de los diferentes tratamientos. No se detectaron diferencias entre tratamientos en la actividad media de pocillo (*AWCD*) (figura 3); la mayor diferencia se determinó a tiempo 3. Tampoco se encontraron diferencias en el área bajo la curva y la pendiente (tabla 8).

Los valores de *AWCD*, área y pendiente fueron menores que en el muestreo previo a la siembra de arroz (efecto muestreo sobre *AWCD* a tiempo 4  $p$ -valor < 0,0001, sobre el área de 0 a 4  $p$ -valor < 0,0001 y sobre la pendiente de 1 a 4  $p$ -valor < 0,0001).

Además, en el muestreo del suelo previo a la cosecha del arroz, tampoco se encontraron diferencias en la riqueza y los índices de equitatividad y diversidad obtenidos con las placas Biolog (tabla 9). Esto se puede deber a las condiciones de anaerobiosis durante la inundación, que modifica el pH del suelo y disminuyen la actividad microbiana heterótrofa aerobia.

Qu et al (2020) encontraron que el pH del suelo se correlaciona negativamente con *AWCD*. Los valores de pH fueron mayores en estas condiciones de muestreo ( $p$ -valor < 0,001) (tabla 4 y 7), lo que podría estar explicando la disminución en los valores de *AWDC*.

Todo lo anterior hace pensar que las condiciones del cultivo de arroz, incluida la inundación por riego, modifican la funcionalidad de las comunidades microbianas. En este sentido, Fernández-Scavino et al. (2022) compararon la abundancia de arqueas y bacterias en suelos de las rotaciones del mismo ensayo, entre invierno y la época de cosecha de arroz, y encontraron diferencias significativas debidas a la estacionalidad.

Se evidencia un efecto del riego y/o el cultivo de arroz sobre las variables microbiológicas evaluadas, pudiéndose tratar de condiciones ambientales homogenizantes de las comunidades microbianas del suelo, al menos en cuanto a

dichas las variables. La gran sensibilidad de la microbiota a factores ambientales (Nadimi-Goki et al., 2017, Mungai et al., 2005), por un lado, puede ser positivo para la detección de cambios en el suelo, pero, por otro lado, si los cambios son solo momentáneos, no podrían tomarse como indicadores de calidad de suelo, sino como indicadores de las condiciones circunstanciales del suelo o para ilustrar la dinámica de la variable ante cambios ambientales. Para que una variable microbiológica pueda usarse como indicador, deben considerarse las condiciones de muestreo, sobre todo en cultivos como el de arroz con riego.

Mungai et al. (2005) encontraron un efecto tanto de la estacionalidad como del microclima dentro de un cultivo sobre variables microbiológicas como  $\beta$ -glucosidasa y *AWCD*, lo cual demuestra su gran sensibilidad a factores ambientales. Nadimi-Goki et al. (2017) también estudiaron actividades enzimáticas en rotaciones arroceras y encontraron una diferencia significativa del efecto del anegamiento sobre  $\beta$ -glucosidasa, fosfatasas alcalina y ácida y otras enzimas en casi todas las rotaciones que evaluaron. Además, concluyeron que la actividad de la mayoría de las enzimas disminuye en un suelo anegado y aumenta en un suelo aireado. En conclusión, la dinámica de las enzimas está influenciada por la humedad del suelo.

En esta investigación, se encontró un efecto del muestreo o condición del suelo sobre la actividad fosfatasa alcalina ( $p$ -valor = 0,0332) y ureasa ( $p$ -valor = 0,0141). Para ambos casos, los valores más bajos se registraron en el muestreo durante el cultivo de arroz, con el suelo recientemente drenado, y los valores más altos se encontraron en el muestreo durante las praderas quemadas con herbicida previo a la siembra de arroz, cuando el suelo seguramente se encontraba más aireado. Ezeokoli et al. (2021) concluyen que en los barbecho, períodos en los que el suelo descansa, hay mayor actividad enzimática que luego de que es cosechado el arroz.

Gran parte de las variables microbiológicas evaluadas, tanto antes de la siembra como previo a las cosecha de arroz, no fueron sensibles para detectar diferencias entre tratamiento o rotaciones. Como posibles causas de la homogenización puede estar el hecho de que es un experimento llevado a cabo con agricultura con siembra directa, lo cual afecta la dinámica del carbono en el suelo, que a la vez está

estrechamente relacionada con la funcionalidad de la microbiota edáfica (Acosta-Martinez et al., 2018, Wingeyer et al., 2015).

También se trata de rotaciones en la que se aplican buenas prácticas agrícolas, que tiene, el objetivo de cuidar las propiedades productivas del suelo (MGAP, 2013). Esto en parte se ve reflejado en los altos rendimientos promedio de arroz reportados en todas las rotaciones (Macedo et al., 2016). Todas las rotaciones incluyen leguminosas en alguna fase, lo cual favorece la entrada de nitrógeno al suelo y es una práctica recomendada para conservar la calidad del suelo (MGAP, 2013).

Además, el hecho de incluir praderas en las rotaciones está reportado como una buena práctica (MGAP, 2013), con efectos sobre el stock de carbono del suelo en agricultura con laboreo (Haynes et al., 1991). Aunque es diferente con sistemas con siembra directa, Ernst y Siri-Prieto (2009) reportan que no se detectó un efecto de la pradera en la rotación sobre el contenido de carbono del suelo luego de un período de 10 años. Macedo et al. (2021), investigando en el mismo ensayo, encontraron que la única rotación del ensayo que secuestraba carbono en el suelo era la rotación arroz-pradera larga; además, los mismos autores señalan que la intensificación no hizo disminuir el carbono orgánico del suelo y que los niveles de nitrógeno total se mantuvieron en todos los sistemas.

También como posible factor homogeneizante se encuentran el riego y la consiguiente anaerobiosis, que genera un efecto sobre el pH (Weil y Brady 2017, Snyder y Slaton 2002), sobre la comunidad microbiana edáfica y las actividades enzimáticas (Nadimi-Goki et al., 2017). En el cultivo de arroz la descomposición de la materia orgánica es más lenta durante el anegamiento que cuando el suelo está aireado (Motschenbacher, 2012), lo cual tiene el potencial de afectar a las variables microbiológicas relacionadas con el ciclo del carbono.

La fertilización es un factor agronómico muy relevante para la actividad microbiana del suelo; incluso hay autores que reportan que es más importante el efecto de la fertilización sobre variables microbiológicas que de la de la rotación de cultivos (Ai et al., 2018, Wang y Huang, 2011, Soman et al., 2016). También el

pastoreo con ovinos que se realiza en el ensayo es un factor agronómico que puede estar afectando al suelo y, por lo tanto, a las variables microbiológicas.

Por último, parece difícil diferenciar si hay un efecto del cultivo antecesor o si hay un efecto producto del legado de la rotación, es decir, de varios años, sobre las variables evaluadas, ya que se expresaron diferencias entre tratamientos que corresponden a la misma rotación, como en el caso de la rotación arroz-pradera larga. Es posible que se necesite más tiempo para que las diferencias entre rotaciones se expresen más contundentemente y puedan ser detectadas con variables de este tipo. Cabe mencionar que algunas rotaciones solo cumplieron un ciclo completo al momento de ser evaluadas

### **Conclusiones**

En las evaluaciones realizadas, en algunas variables microbiológicas como  $\beta$ -glucosidasa, se separa el tratamiento correspondiente a la rotación arroz continuo, que es la más intensiva en cuanto al uso del suelo; por otro lado, se puede observar que el arroz después de arroz varía las propiedades microbiológicas del suelo en la rotación arroz-pradera larga, aunque la pradera larga parece restaurar las condiciones del suelo, por ejemplo al evaluar variables como  $\beta$ -glucosidasa, índices de diversidad metabólica y ureasa.

Las condiciones durante el cultivo de arroz, como la anaerobiosis generada por el riego, pueden haber alterado la microbiota del suelo momentáneamente, afectando las variables evaluadas pH, fosfatasa alcalina, ureasa y *AWCD*.

En gran parte de las variables microbiológicas evaluadas no se detectaron diferencias significativas entre tratamientos, lo que puede relacionarse a cierta estabilidad en la dinámica del carbono debido a ser agricultura con siembra directa y aplicarse buenas prácticas agrícolas que conservan el recurso suelo.

Por otro lado, se evidencian limitantes en la investigación, como la gran variabilidad en los manejos agronómicos, que afectan a la microbiota y que no fueron identificados y cuantificados como factores.



Se concluye que sería necesario seguir monitoreando las variables microbiológicas para poder sugerir una como indicador de sostenibilidad en suelos arroceros.

### **Agradecimientos**

Agradezco a la Agencia Nacional de Investigación e Innovación, ya que la investigación que da origen a los resultados presentados en la presente publicación recibió fondos de dicha institución bajo el código POS\_FAS\_2019\_1\_1008855. Este trabajo se enmarca dentro del proyecto *Ciclo del carbono* del programa ANII-INNOVAGRO «Evaluación de la Sostenibilidad en Sistemas Arroceros con Intensidad Variable».

### **Bibliografía**

- Acosta-Martinez, V., Cano, A. y Johnson J. (2018). Simultaneous determination of multiple soil enzyme activities for soil health-biogeochemical indices. *Applied Soil Ecology*, 126(2018), 121 - 128. doi: <https://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2017.11.024>.
- Adhikari, P., Araya, H., Aruna, G., Balamatti, A., Banerjee, S., Baskaran, P., Barah, B.C., Behera, D., Berhe, T., Boruah, P., Dhar, S., Edwards, S., Fulford, M., Gujja, B., Ibrahim, H., Kabir, H., Kassam, A., Khadka, R.B., Koma, Y.S., Natarajan, U.S., Perez, R., Sen, D., Sharif, A., Singh, G., Styger, E., Thakur, A.K., Tiwari, A., Uphoff, N. y Verma, A. (2018). System of crop intensification for more productive, resource-conserving, climate-resilient, and sustainable agriculture: experience with diverse crops in varying agroecologies. *International Journal of Agricultural Sustainability*, 16(1), 1 - 28. doi: <https://doi.org/10.1080/14735903.2017.1402504>.
- Ai, C., Zhang, S., Zhang, X., Guo, D., Zhou, W. y Huang, S. (2018). Distinct responses of soil bacterial and fungal communities to changes in fertilization regime and crop rotation. *Geoderma*, 319(2018), 156 - 166. doi: <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2018.01.010>.

- Alahmad, A., Decocq, G., Spicher, F., Kheirbeik, L., Kobaissi, A., Tetu, T., Dubois, F. y Duclercq, J. (2018). Cover crops in arable lands increase functional complementarity and redundancy of bacterial communities. *Journal of Applied Ecology*, 56(2019), 651 - 664. doi: <https://doi.org/10.1111/1365-2664.13307>.
- Ayala, W., Blanco, P., Castillo, J., Macedo, I., Martínez, S., Pereira, A.L., Pérez de Vida, F., Riccetto, S., Roel, A., Rosas, J., Saldain, N., Saravia, H., Terra, J. y Zorrilla, G. (2016). *Día de campo. Arroz y sistemas arroceros. Unidad experimental Paso de la Laguna INIA Treinta y Tres*. 15 p.
- Baraza, E., Bota, J., Romero-Munar, A. y Nogales, B. (2019). Aplicación de la técnica Biolog™ ECO-plate para el estudio del perfil fisiológico de las comunidades microbianas del suelo agrícola. *Ecosistemas*, 28(3), 46 - 53. doi: <http://dx.doi.org/10.7818/ECOS.1687>.
- Benintende, S.M., Benintende, M.C., Sterren, M.A. y De Battista, J.J. (2007). Soil microbiological indicators of soil quality in four rice rotations systems. *Ecological indicators*, 8(2008), 704 - 708. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecolind.2007.12.004>.
- Bhaduri, D. y Purakayastha, T.J. (2014). Long-term tillage, water and nutrient management in rice–wheat cropping system: Assessment and response of soil quality. *Soil & Tillage Research*, 144(2014), 83 - 95. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2014.07.007>.
- Brito, I., Carvalho, M. y Goss, M.J. (2021). Managing the functional diversity of arbuscular mycorrhizal fungi for the sustainable intensification of crop production. *Plants People Planet*, 3(2021), 491 - 505. Doi: <http://dx.doi.org/10.1002/ppp3.10212>.
- Bünemann, E.K., Bongiorno, G., Baic, Z., Creamer, R.E., De Deyn, G., de Goede, R., Flessens, L., Geissend, V., Kuiper, T.W., Mäder, P., Puleman, M., Suckel, W., van Groenigen, J.W. y Brussaard, L. (2018). Soil quality – A critical review. *Soil biology and biochemistry*, 120(2018), 105 - 125. doi: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2018.01.030>.

- Eivazi, F. y Tabatabai, M.A. (1988). Glucosidases and galactosidases in soils. *Soil biology and biochemistry*, 20(5), 601 - 606.
- Ernst, O. y Siri-Prieto, G. (2009). Impact of perennial pasture and tillage systems on carbon input and soil quality indicators. *Soil Tillage Research*, (2009), 9p. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.still.2009.08.001>.
- Ezeokoli, O.T., Nuaila, V.N.A., Obieze, C.C., Muetanene, B.A., Fraga, I., Tesinde, M.N., Ndayiragije, A., Coutinho, J., Melo, A.M.P., Adeleke, R.A., Ribeiro-Barros, A.I. y Fangueiro, D. (2021). Assessing the Impact of Rice Cultivation and Off-Season Period on Dynamics of Soil Enzyme Activities and Bacterial Communities in Two Agro-Ecological Regions of Mozambique. *Agronomy*, (11)694, 29p. doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy11040694>.
- FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations). 2017. Conservation Agriculture. Roma, Italia. 2 p.
- FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations). (2016). *Maize rice wheat. A guide to sustainable cereal production*. Roma, Italia. 124 p.
- FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations). (2008). Guide to laboratory establishment for plant nutrient and analysis. FAO Fertilizer and plant nutrition bulletin 19. Roma, Italia. 204 p.
- FAO (Food and Agricultural Organization of United Nations). (2004). El arroz y la nutrición humana. Roma, Italia. 2 p.
- Fraç, M., Oszust, K. y Lipiec, J. (2012). Community Level Physiological Profiles (CLPP), Characterization and Microbial Activity of Soil Amended with Dairy Sewage Sludge. *Sensors*, 12 (2012), 3253 - 3268; doi: <https://doi.org/10.3390/s120303253>.
- Fernández-Scavino, A., Oreggioni, D., Martínez-Pereyra, A., Tarlera, S., Terra, J.A. y Irisarri, P. (2022). Season and No-Till Rice Crop Intensification Affect Soil Microbial Populations Involved in CH<sub>4</sub> and N<sub>2</sub>O Emissions. *Frontiers in Soil Science*, 2(2022), Article 832600 20p. doi: <https://doi.org/10.3389/fsoil.2022.832600>.

- Ferraro, B. y Lanfranco, B. (2016). *Competitividad internacional y soporte de la economía nacional: un desafío para la cadena arrocerá*. Revista INIA n.º 46: 50-54.
- Gałazka, A. y Grzadziel, J. (2018). Fungal genetics and functional diversity of microbial communities in the soil under long-term monoculture of maize using different cultivation techniques. *Frontiers in microbiology*, 9(2018), article 76. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00076>.
- Hai-Ming, T., Xiao-Ping, X., Wen-Guang, T., Ye-Chun, L., Ke, W. y Guang-Li, Y. (2014). Effects of Winter Cover Crops Residue Returning on Soil Enzyme Activities and Soil Microbial Community in Double-Cropping Rice Fields. *PLOS ONE*, 9(6), e100443. doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0100443>.
- Hammer, Ø. (2020). *PAST Paleontological Statistics Version 4.0 Reference manual*. University of Oslo. Oslo, Noruega. 278 p.
- Haynes, R.J., Swift, R.S. y Stephen, R.C. (1991). Influence of mixed cropping rotations (pastureable) on organic matter content, water stable aggregation and clod porosity in a group of soils. *Soil & tillage Research*, 19(1991), 77 - 87.
- Henríquez, C., Uribe, L., Valenciano, A. y Nogales, R. (2014). Actividad enzimática del suelo -Deshidrogenasa, beta-glucosidasa, fosfatasa y ureasa- bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense*, 38(1), 43 - 54.
- Islam, M.R., Chauhan, P.S., Kim, Y., Kim, M. y Sa, T. (2011). Community level functional diversity and enzyme activities in paddy soils under different long-term fertilizer management practices. *Biology and Fertility of Soils*, 47(2011), 599 - 604. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-010-0524-2>.
- Kandeler, E. (1996). Urease activity by colorimetric technique. En: Schinner, F., Kandeler, E., Öhlinger, R. y Margesin, R. (Eds.). *Methods in Soil Biology*. Berlin, Germany: Springer. 171 - 174.
- Lu, S., Lepo, J.E., Song, H., Guan, C. y Zhang, Z. (2018). Increased rice yield in long-term crop rotation regimes through improved soil structure, rhizosphere

- microbial communities, and nutrient bioavailability in paddy soil. *Biology and Fertility of Soils*, 54(2018), 909 - 923. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-018-1315-4>.
- Macedo, I., Roel, A., Ayala, W., Pravia, M.V., Terra, J.A. y Pittelkow, C.M. (2021). Irrigated rice rotations affect yield and soil organic carbon sequestration in temperate South America (en línea) 12 enero 2022. *Agronomy Journal*. doi: <https://doi.org/10.1002/agj2.20964>.
- Macedo, I., Castillo, J., Saldain, N., Martínez, S., Ayala, W., Hernández, J., Serrón, N., Bordagorri, A., Zorrilla, G. y Terra, J. (2016). Nuevas rotaciones arroceras, primero datos de productividad. *Revista Asociación de cultivadores de arroz* n.º 88: 33-39.
- Martínez, S. y Escalante, F. (2020). Las comunidades de microorganismos asociadas a suelos arroceros. *Revista INIA* n.º 63: 58 - 62.
- Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G. y Swif, M.J. (1997). Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. *Science* 277, 504 - 509. doi: <https://doi.org/10.1126/science.277.5325.504>.
- MGAP (Ministerio de Ganadería, Agricultura y Pesca). (2013). *Guía de buenas prácticas agrícolas*. Uruguay. 53 p.
- Moebius-Clune, B.N., Moebius-Clune, D.J., Gugino, B.K., Idowu, O.J., Schindelbeck, R.R., Ristow, A.J., van Es, H.M., Thies, J.E., Shayler, H.A., McBride, M.B., Kurtz, K.S.M., Wolfe, D.W. y Abawi, G.S. (2016). *Comprehensive Assessment of Soil Health – The Cornell Framework, Edition 3.2*. Geneva, NY: Cornell University. 123 p.
- Motschenbacher, J.M. (2012). *Long-Term Effects of Rice Rotation, Tillage, and Fertility on Near-Surface Soil Carbon and Nitrogen Cycling*. Tesis de doctorado. Fayetteville, Arkansa, EUA. University of Arkansas. 262 p.
- Mungai, N.W., Motavalli, P.P., Kremer, R.J. y Nelson, K.A. (2005). Spatial variation of soil enzyme activities and microbial functional diversity in temperate alley cropping systems. *Biology and Fertility of Soils*, 42(2005), 129 - 136. doi: <http://dx.doi.org/10.1007/s00374-005-0005-1>.

- Nadimi-Goki, M., Bini, C., Wahsha, M., Kato, Y. y Fornasier, F. (2017). Enzyme dynamics in contaminated paddy soils under different cropping patterns (NE Italy). *Soils sediments*, 18(2018), 2157 - 2171. doi: <https://doi.org/10.1007/s11368-017-1830-1>.
- Reardon, C.L. y Wuest, S.B. (2016). Soil amendments yield persisting effects on the microbial communities - a 7-year study. *Applied Soil Ecology*, 101(2016), 107 - 116. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apsoil.2015.12.013>.
- Saldías, R., Penengo, C., Lanfranco, B. y Baethgen, W. (2016). El sector arrocero al 2030: soluciones de desarrollo sostenible. *Revista INIA* n.º 44: 47-49.
- Seybold, C., Mausbach, M.J., Karlen, D.L. y Roger, S.H. (1997). Quantification of soil quality. En: Lal, R., Kimble, J.M., Follet, R.F. y Stewart, B.A. (Eds.). *Soil processes and the carbon cycle*. Boca Ratón, Florida, EUA. CRS Press. 387-404.
- Snyder, C. y Slaton, N. (2002). *Effects of soil flooding and drying on phosphorus reactions*. News and Views Newsletter (en línea) 12 enero 2022. Potash and Phosphate institute. Atlanta, Georgia.  
<https://www.yumpu.com/en/document/read/23491080/effects-of-soil-flooding-and-drying-on-phosphorus-reactions>.
- Soman, C., Li, D., Wander, M.M. y Kent, A.D. (2016). Long-term fertilizer and crop-rotation treatments differentially affect soil bacterial community structure. *Plant Soil*, 413(2017), 145 - 159. doi: <https://doi.org/10.1007/s11104-016-3083-y>.
- Tabatabai, M. (1994). Soil Enzymes. En: SSSA. *Methods of Soil Analysis, Part 2. Microbiological and Biochemical Properties* (Book series No. 5). 775-833p.
- Terra, J., Martínez, S., Saravia, H., Mesones, B. y Álvarez, O. (2020). Arroz 2020. *Serie técnica INIA* n.º 257. 128 p. doi: <http://doi.org/10.35676/INIA/ST.257>.
- Tseng, M.C., Roel, A., Deambrosi, E., Terra, J., Zorrilla, G., Riccetto, S. y Pittelkow, C.M. (2020). Towards actionable research frameworks for sustainable intensification in high-yielding rice systems. *Scientific Reports*, 10(9975): 1-13. doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63251-w>.

- Uruguay XXI. (2013). *Sector arrocero. Promoción de inversiones y exportación*. 15 p.
- Venter, Z.S., Jacobs, K. y Hawkins, H.J. (2016). The impact of crop rotation on soil microbial diversity: A meta-analysis. *Pedobiologia - Journal of Soil Ecology*, 59(2016): 215 - 223. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.pedobi.2016.04.001>.
- Von Mersi, W. (1996) Dehydrogenase Activity with the Substrate INT. En: Schinner, F., Kandeler, E., Öhlinger, R. y Margesin, R. (Eds.). *Methods in Soil Biology*. Berlin, Germany: Springer. 243 – 245.
- Wang, L. y Huang, D. (2021). Soil microbial community composition in a paddy field with different fertilization managements. *Canadian Journal of Microbiology*, 67(2021): 864 - 874. <http://dx.doi.org/10.1139/cjm-2020-0590>.
- Weil, R.R. y Brady, N.C. (2017). *The Nature and Properties of soils. Fifteenth Edition*. Prentice Hall. 1086 p.
- Wingeyer, A.B., Amado, T.J.C., Pérez-Bidegain, M., Studdert, G.A., Perdomo Varela, C.H., Garcia, F.O. y Karlen, D.L. (2015). Soil Quality Impacts of Current South American Agricultural Practices. *Sustainability*, 7(2015), 2213 - 2242. <http://dx.doi.org/doi:10.3390/su7022213>.
- Xu, S., Silveira, M.L., Inglett, K.S., Sollenberger, L.E. y Gerber, S. (2017). Soil microbial community responses to long-term land use intensification in subtropical grazing lands. *Geoderma*, 293(2017), 73 - 81. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.geoderma.2017.01.019>.
- Xue, D., Yao, H., Ge, D. y Huang, C. (2008). Soil Microbial Community Structure in Diverse Land Use Systems: A Comparative Study Using Biolog, DGGE, and PLFA Analyses. *Pedosphere*, 18(5), 653 - 663.
- Zorrilla, G., Martínez, S., Terra, J. y Saravia, H. (2018). Arroz 2018. *Serie técnica INIA n.º 246*. 93 p.

## Tablas y figuras

**Tabla 1.** Rotaciones evaluadas de la «Plataforma de Largo plazo Arroz, Pasturas y Otros Cultivos» del INIA Treinta y Tres, en Paso de la Laguna

año	1		2		3		4		5		6		
rotación	pv	ot	pv	ot	pv	ot	pv	ot	pv	ot	pv	ot	
APL	arroz 1	PV	arroz 2	PL: festuca + trébol blanco + lotus									
ASPL	arroz 1	PV	soja 1	PV	soja 2	PV	arroz 2	PL: festulolium + lotus					
ASC	arroz	PV	soja	PV									
AC	arroz	PV											

Primavera (pv), otoño (ot), puente verde (PV), pradera larga (PL), arroz-pradera larga o rotación clásica (APL), arroz-soja-pradera larga (ASPL), arroz-soja continuo (ASC), arroz continuo (AC).

**Tabla 2.** Intensidad en rotaciones arroceras evaluadas

Rotación	% veranos con arroz	% veranos con cultivos (arroz o soja)	% veranos con praderas
APL	40 %	40 %	60 %
ASPL	33 %	66 %	33 %
ASC	50 %	100 %	0 %
AC	100 %	100 %	0 %

Arroz-pradera larga o rotación clásica (APL), arroz-soja-pradera larga (ASPL), arroz-soja continuo (ASC), arroz continuo (AC).

**Tabla 3.** Dosis de fertilizantes utilizadas en cultivo de arroz como % de N-P/Psoluble-K

Tratamiento	0-46/46-0 (kg/ha)	0-0-60 (kg/ha)	46-0-0 (kg/ha)
APL-Az1			147
APL-Az2	22	138	220
ASPL-Az1	22	69	155
ASPL-Az2			170
ASC-Az	64	89	170
AC-Az	110	160	300

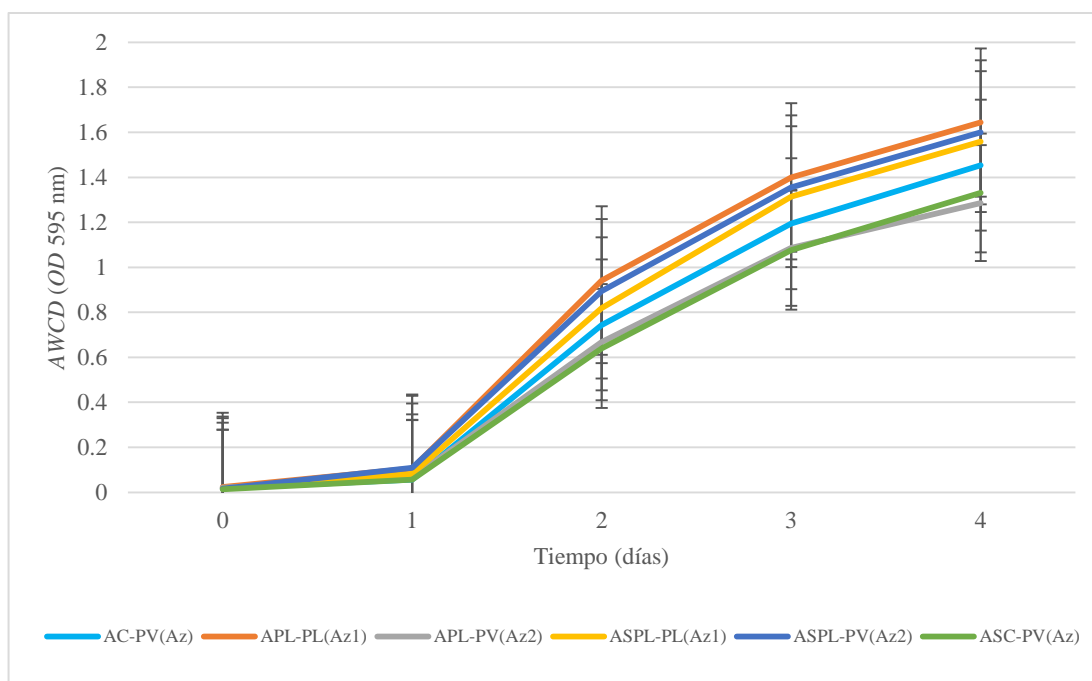
Datos de manejo en zafra 2018-19, comunicación personal A. Bordagorry - INIA Treinta y Tres, 6 de setiembre de 2019. Primer arroz de la rotación de arroz-pradera larga (APL-Az1), segundo arroz de la rotación de arroz-pradera larga (APL-Az2), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-Az1), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (ASPL-Az2), arroz de la rotación arroz soja continuo (ASC-Az), arroz de la rotación arroz continuo (AC-Az).



**Tabla 4.** Actividades enzimáticas y pH de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra del arroz

Tratamiento	Deshidrogenas a ( $\mu\text{g INTF g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	$\beta$ -glucosidasa ( $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Fosfatasa alcalina ( $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Ureasa ( $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	pH suelo
<b>APL-PL(Az1)</b>	24,99 a	34,49 <b>ab</b>	25,18 a	132,58 a	5,07 a
<b>APL-PV(Az2)</b>	21,25 a	33,78 <b>a</b>	26,37 a	105,77 a	5,30 a
<b>ASPL-PL(Az1)</b>	31,53 a	37,53 <b>ab</b>	36,14 a	113,22 a	5,10 a
<b>ASPL-PV(Az2)</b>	26,44 a	43,44 <b>ab</b>	34,44 a	92,84 a	5,20 a
<b>ASC-PV(Az)</b>	30,56 a	32,47 <b>a</b>	33,89 a	108,81 a	5,20 a
<b>AC-PV(Az)</b>	23,85 a	60,27 <b>b</b>	28,11 a	131,80 a	5,70 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).



**Figura 1.** Gráfica de media y desvío estándar de actividad media de pocillo (*AWCD*) a través del tiempo obtenida con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz. Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

**Tabla 5.** Actividad media de pocillo (*AWCD*), área debajo de la gráfica del día 0 al 4 (actividad acumulada durante 4 días) y pendiente entre los días 1 y 4 (velocidad de uso de sustratos del período) obtenida con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz

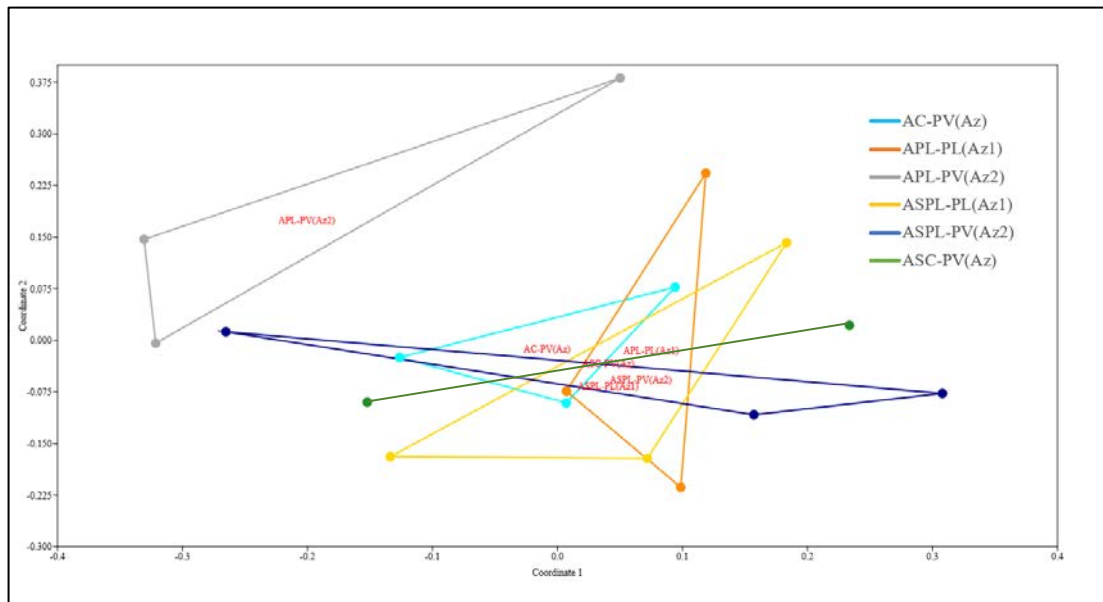
<b>Tratamiento</b>	<b><i>AWCD</i> t4</b>	<b>Área 0-4</b>	<b>Pendiente 1-4</b>
<b>APL-PL(Az1)</b>	1,64 a	3,28 a	0,51 a
<b>APL-PV(Az2)</b>	1,29 a	2,47 a	0,41 a
<b>ASPL-PL(Az1)</b>	1,56 a	3,00 a	0,49 a
<b>ASPL-PV(Az2)</b>	1,60 a	3,17 a	0,49 a
<b>ASC-PV(Az)</b>	1,33 a	2,45 a	0,47 a
<b>AC-PV(Az)</b>	1,45 a	2,73 a	0,46 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), Puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

**Tabla 6.** Riqueza e índices de equitatividad (*equitability* y *evenness*) y diversidad (Shannon) de uso de los diferentes sustratos obtenidos con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz

<b>Tratamiento</b>	<b>Riqueza *</b>	<b><i>Equitability</i></b>	<b><i>Evenness</i></b>	<b>Shannon</b>
<b>APL-PL(Az1)</b>	27,33 <b>ab</b>	0,96 <b>b</b>	0,87 <b>ab</b>	3,29 <b>ab</b>
<b>APL-PV(Az2)</b>	25,67 <b>a</b>	0,93 <b>a</b>	0,80 <b>a</b>	3,21 <b>a</b>
<b>ASPL-PL(Az1)</b>	28,67 <b>b</b>	0,96 <b>b</b>	0,87 <b>b</b>	3,30 <b>b</b>
<b>ASPL-PV(Az2)</b>	28,33 <b>b</b>	0,96 <b>b</b>	0,88 <b>b</b>	3,30 <b>b</b>
<b>ASC-PV(Az)</b>	27,33 <b>ab</b>	0,95 <b>ab</b>	0,83 <b>ab</b>	3,25 <b>ab</b>
<b>AC-PV(Az)</b>	27,33 <b>ab</b>	0,95 <b>ab</b>	0,85 <b>ab</b>	3,27 <b>ab</b>

\* La variable riqueza fue analizada con los datos transformados con el Ln. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), Puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).



**Figura 2.** Análisis multivariado de tipo *NM-MDS* obtenidos con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la siembra de arroz. Pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-PV(Az2)**), pradera larga previo al primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PL(Az1)**), puente verde previo al segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-PV(Az2)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-PV(Az)**), puente verde previo al arroz de la rotación arroz continuo (**AC-PV(Az)**).

**Tabla 7.** Actividades enzimáticas y pH de los suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha del arroz

Tratamiento	Deshidrogena ( $\mu\text{g INTF g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	$\beta$ -glucosidasa ( $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Fosfatasa alcalina ( $\mu\text{g p-nitrofenol g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	Ureasa ( $\mu\text{g N-NH}_4^+ \text{g}^{-1}$ suelo seco $\text{h}^{-1}$ )	pH suelo
<b>APL-Az1</b>	25,17 a	86,36 a	24,22 a	118,95 <b>b</b>	6,00 a
<b>APL-Az2</b>	21,47 a	82,93 a	27,74 a	104,87 <b>ab</b>	5,93 a
<b>ASPL-Az1</b>	21,07 a	89,98 a	21,78 a	93,37 <b>ab</b>	5,80 a
<b>ASPL-Az2</b>	21,63 a	94,35 a	22,43 a	89,04 <b>ab</b>	5,99 a
<b>ASC-Az</b>	23,75 a	98,68 a	32,04 a	80,99 <b>a</b>	5,88 a
<b>AC-Az</b>	32,75 a	85,20 a	21,19 a	99,24 <b>ab</b>	6,32 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).

**Tabla 8.** Actividad media de pocillo (*AWCD*), área debajo de la gráfica del día 0 al 4 (actividad acumulada durante 4 días) y pendiente entre los días 1 y 4 (velocidad de uso de sustratos del período) obtenida con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha de arroz

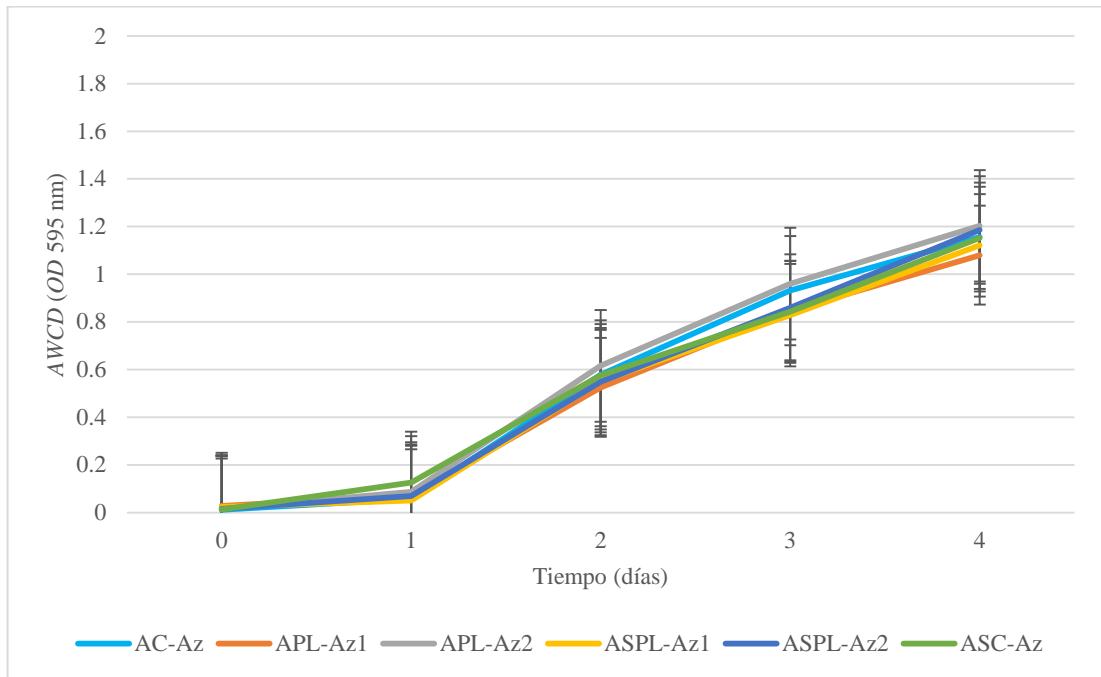
Tratamiento	<i>AWCD</i> t3	Área 0-4	Pendiente 1-4
<b>APL-Az1</b>	0,85 a	2,00 a	0,33 a
<b>APL-Az2</b>	0,96 a	2,27 a	0,37 a
<b>ASPL-Az1</b>	0,83 a	2,00 a	0,35 a
<b>ASPL-Az2</b>	0,86 a	2,08 a	0,37 a
<b>ASC-Az</b>	0,84 a	2,13 a	0,33 a
<b>AC-Az</b>	0,93 a	2,15 a	0,37 a

Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).

**Tabla 9.** Riqueza e índices de equitatividad (*equitability* y *evenness*) y diversidad (Shannon) de uso de los diferentes sustratos obtenidos con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha de arroz

Tratamiento	Riqueza *	<i>Equitability</i>	<i>Evenness</i>	Shannon
<b>APL-Az1</b>	27,00 a	0,96 a	0,87 a	3,25 a
<b>APL-Az2</b>	28,00 a	0,96 a	0,88 a	3,29 a
<b>ASPL-Az1</b>	26,00 a	0,94 a	0,81 a	3,22 a
<b>ASPL-Az2</b>	25,00 a	0,93 a	0,78 a	3,17 a
<b>ASC-Az</b>	26,67 a	0,94 a	0,82 a	3,22 a
<b>AC-Az</b>	26,67 a	0,94 a	0,81 a	3,20 a

\* La variable Riqueza fue analizada con los datos transformados con el Ln. Letras diferentes en cada columna indican diferencias significativas entre tratamientos (Tukey  $\alpha < 0,10$ ). Primer arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), primer arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), segundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), arroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), arroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).



**Figura 3.** Gráfica de media y desvío estándar de actividad media de pocillo (*AWCD*) a través del tiempo obtenida con el uso de las placas Biolog inoculadas con suelos de las rotaciones arroceras previo a la cosecha de arroz. **P**rimero arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az1**), **s**egundo arroz de la rotación arroz-pradera larga (**APL-Az2**), **p**rimero arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az1**), **s**egundo arroz de la rotación arroz-soja-pradera larga (**ASPL-Az2**), **a**rroz de la rotación arroz-soja continuo (**ASC-Az**), **a**rroz de la rotación arroz continuo (**AC-Az**).