



DOCTORADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS, FÍSICAS Y NATURALES
UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN JUAN

TRABAJO DE TESIS

***“EFECTOS DE LOS DIFERENTES MANEJOS AGRONÓMICOS SOBRE
INDICADORES BIOQUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS DE CALIDAD DE SUELOS
DE VIÑEDOS, SAN JUAN, ARGENTINA”***

Opción al Título de
DOCTOR EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
Lic. Emilce Mariel Medina

Director: Dr. Fabio Vázquez
Co-director: Dra. Ángela D. Vega-Ávila

San Juan, Marzo de 2018

RESUMEN.....	8
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO.....	11
1.El suelo: recurso natural.....	12
2.Rol de los microorganismos del suelo.....	12
3.Calidad del suelo.....	13
3.1Indicadores de Calidad de Suelos.....	13
4.Vitivinicultura.....	15
4.1Contexto vitícola mundial y nacional.....	15
4.2Vitivinicultura en San Juan.....	15
5.Cultivo de Vitis vinifera L.....	16
5.1Taxonomía.....	16
5.2Condiciones agroecológicas del viñedo.....	16
5.3El suelo vitícola.....	17
6.Manejo agrícola del viñedo.....	18
6.1Labranza convencional.....	18
6.2Manejo orgánico del cultivo.....	20

6.3 Labranza mínima.....	22
7. Antecedentes generales y justificación del trabajo.....	22
8. OBJETIVO GENERAL.....	25
CAPÍTULO II: METODOLOGÍA GENERAL.....	26
1. Área de Estudio.....	27
2. Diseño Experimental.....	31
3. Análisis Estadístico.....	33
CAPÍTULO III: INDICADORES FÍSICO-QUÍMICOS.....	34
I. INTRODUCCIÓN.....	35
1.1 HIPÓTESIS.....	41
1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	42
II. MATERIALES Y MÉTODOS.....	43
2.1 Análisis físico-químicos.....	44
2.1.1 Determinación de pH.....	44
2.1.2 Determinación de Materia orgánica.....	44
2.1.3 Determinación de Nitrógeno Total (N) del suelo.....	45
2.1.4 Determinación de Potasio Intercambiable (K).....	45

2.1.5	Determinación de Fósforo disponible (P_2O_5).....	46
2.1.6	Determinación del Cu del suelo.....	47
III.	RESULTADOS.....	48
3.1	pH en suelos de vid.....	49
3.2	Materia orgánica de suelos (MOS) de vid.....	49
3.3	Macronutrientes (N-P-K) en suelos de vid.....	50
3.4	Cu en suelos de vid.....	54
3.5	Análisis de Correlación.....	55
3.6	Análisis de Componentes Principales.....	57
IV.	DISCUSIÓN.....	60
	CAPÍTULO IV: INDICADORES MICROBIOLÓGICOS.....	68
I.	INTRODUCCIÓN.....	69
1.1	HIPÓTESIS.....	77
1.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	78
II.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	79
2.1	Determinaciones Microbiológicas, Bioquímicas y Moleculares de Calidad de Suelo.....	80

2.1.1	Determinación del Carbono de la Biomasa Microbiana (CBM)	80
2.1.2	Determinación de la Abundancia de Microorganismos Cultivables	81
2.1.2.1	Recuento de bacterias	81
2.1.2.2	Recuento de Hongos filamentosos	81
2.1.3	Determinación de las Actividades enzimáticas	82
2.1.3.1	Determinación de las Actividades de las enzimas Amilasas, Celulasas y Xilanasas	82
2.1.3.2	Determinación de la Actividad de las enzimas β-Glucosidasas	83
2.1.3.3	Determinación de la Actividad de las enzimas Fosfatasas	83
2.1.4	Determinación de la estructura de las comunidades bacterianas no cultivables	84
2.1.4.1	Procesamiento de las muestras	84
2.1.4.2	Extracción y purificación del ADN del suelo	85
2.1.4.3	Electroforesis en Gel de Agarosa	86
2.1.4.4	Amplificación de ARNr 16S a través de PCR	86

2.1.4.5Análisis de restricción del ADN ribosomal 16S amplificado (Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis -ARDRA-)	87
III.RESULTADOS	89
3.1Abundancia de microorganismos cultivables	90
3.2Carbono de la biomasa microbiana (CBM)	91
3.3Actividad de las enzimas Xilanasas	92
3.4Actividad de las enzimas Celulasas	93
3.5Actividad de las enzimas Amilasas	94
3.6Actividad de las enzimas β -Glucosidasas	95
3.7Actividad de las enzimas Fosfatasas Ácidas	96
3.8Actividad de las enzimas Fosfatasas Alcalinas	97
3.9Análisis de Correlación	98
3.10Análisis de Componentes Principales	100
3.11Estructura de las comunidades bacterianas no cultivables	104
IV.DISCUSIÓN	106
CAPÍTULO V: INTERACCIÓN INDICADORES FÍSICO-QUÍMICOS Y MICROBIOLÓGICOS	124

I.INTRODUCCIÓN.....	125
II.RESULTADOS.....	129
2.1Análisis de correlación entre los indicadores físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos.....	130
2.2Análisis Multivariado.....	132
III.DISCUSIÓN.....	136
CONCLUSIONES.....	145
PROYECCIONES.....	148
BIBLIOGRAFÍA.....	150
ANEXO.....	188

ABREVIATURAS:

ACP: Análisis de componentes principales
Am: Actividad de las enzimas Amilasas
B-Gl o β -Gl: Actividad de las enzimas β -Glucosidasas
CBM: Carbono de la biomasa microbiana
Ce: Actividad de las enzimas Celulasas
CMC: Carboximetilcelulosa
CN: Caldo nutritivo
Conv: Tratamiento con labranza convencional del viñedo
Cu: Cobre
DNS: Ácido 3,5-dinitrosalicílico
FÁc: Actividad de las enzimas Fosfatasas Ácidas
FAI: Actividad de las enzimas Fosfatasas Alcalinas
F: Fila del cultivo de *Vitis vinifera* L.
IF: Interfila del cultivo de *Vitis vinifera* L.
K: Potasio
Min: Tratamiento con labranza mínima del viñedo
MOS: Materia orgánica del suelo
N: Nitrógeno
Org: Tratamiento con labranza orgánica del viñedo
P: Fosforo
PCR: Reacción en cadena de la polimerasa
pNF: p-Nitrofenol
Xi: Actividad de las enzimas Xilanasas

RESUMEN

Las funciones de la biota del suelo son centrales para los procesos de descomposición de la materia orgánica y el ciclado de nutrientes. Para el estudio de la calidad del suelo, se emplean diferentes indicadores: físicos, físico-químicos, bioquímicos, microbiológicos y moleculares. Las principales funciones de los indicadores son: evaluar condiciones o tendencias, comparar transversalmente sitios o situaciones, proveer información preventiva temprana y anticipar condiciones y tendencias futuras.

Los suelos de San Juan se caracterizan por presentar escaso desarrollo pedogenético, son pobres en materia orgánica, nitrógeno total y fósforo. El clima es semiárido, con estación invernal seca-fría y escasas precipitaciones. Existen distintas prácticas de manejo en los suelos de viñedos y cada una de ellas, tiene efectos positivos y negativos en la calidad del mismo.

El objetivo del trabajo fue evaluar el impacto de distintos sistemas de manejo agronómico del cultivo de vid (labranza mínima, convencional y orgánica) en parámetros físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos de calidad de suelos de ambientes áridos de San Juan.

El muestreo se llevó a cabo en una finca del departamento de San Martín. Se tomaron muestras de los primeros 10 cm de suelos de viñedos con labranza mínima (empleo de cincel y agroquímicos), convencional (empleo de cincel, rastra de disco, subsolador y agroquímicos) y orgánica (empleo de cincel, rastra de disco, subsolador, sin agroquímicos y con aplicación de enmienda). En cada uno de los tres tratamientos, se tomaron muestras en las filas y las interfilas del cultivo. El muestreo se llevó a cabo en los meses de abril y noviembre, durante tres años consecutivos (2013, 2014 y 2015). No se consideró variación estacional ni anual, sino que, las muestras de suelo se mezclaron para que fueran más representativas del sistema vitícola.

Los suelos correspondientes al manejo con labranza orgánica de *Vitis vinifera* L., presentaron valores significativamente mayores en los contenidos de MOS, N, P, abundancia de bacterias cultivables, CBM y en las actividades de las enzimas

celulasas, β -Glucosidasas y fosfatasas, respecto de los otros tratamientos bajo estudio. El sistema de manejo agrícola con labranza mínima, presentó diferencias significativas respecto de los otros sitios bajo estudio, en los valores de P, K, Cu y en las actividades amilolíticas. Los suelos con labranza convencional registraron los menores valores en los contenidos de P, K, Cu, abundancia de bacterias cultivables y actividades celulolíticas y amilolíticas. Los micrositios que presentaron características distintivas fueron las interfilas, tanto del manejo orgánico como del sistema con labranza mínima. En análisis de componentes principales mostró que los suelos de las interfilas del viñedo orgánico, se asociaron en mayor medida a los indicadores bioquímicos y microbiológicos. Se destacaron por presentar diferencias significativas en relación a la abundancia de hongos cultivables, el CBM y la actividad de las enzimas celulasas, β -Glucosidasas y fosfatasas en general. Mientras que, los parámetros físico-químicos, fueron los más representativos en las interfilas con laboreo mínimo. Dichos suelos, presentaron los mayores valores de pH, P, K y Cu.

La práctica agroecológica que supone la incorporación de restos de poda en los suelos de dicho tratamiento, permite la reposición de la materia orgánica que se mineraliza de forma natural. La adición de dicha enmienda, contribuye en forma significativa a la inducción de la actividad microbiana; y por ende, a la fertilidad del suelo vitícola.

La MOS, el N, la abundancia de bacterias cultivables, el CBM y las actividades de las enzimas celulasas, β -Glucosidasas y fosfatasas; fueron los indicadores físicoquímicos, microbiológicos y bioquímicos más sensibles a los agroquímicos, ya que presentaron valores menores en los suelos donde se emplearon fertilizantes y herbicidas (sistemas vitícolas con labranza mínima y convencional) y, por otra parte, los mayores valores en los suelos asociados al viñedo orgánico.

La aplicación de agroquímicos, y no así, el efecto del laboreo agrícola, es el factor que condicionaría la actividad microbiológica y bioquímica de los suelos de viñedos bajo estudio.

CAPÍTULO I:

“Marco Teórico”

1. El suelo: recurso natural

El suelo es una matriz dinámica y viva, parte esencial del ecosistema terrestre. Es un recurso crítico no sólo para la producción agrícola y la seguridad alimentaria (disponibilidad de alimentos y acceso de las personas a ellos), sino también, para el mantenimiento de la mayoría de los procesos vitales (Tilak *et al.*, 2005).

A lo largo de los milenios, la población se ha hecho progresivamente más experta en la explotación de este recurso para satisfacer sus necesidades. Sin embargo, los límites del recurso son finitos, mientras que las necesidades no lo son. La creciente demanda, se traduce en una presión sobre el sistema edáfico, reflejada en una producción declinante y una degradación progresiva del mismo (FAO, 2014).

En general, se considera que el suelo es un recurso lentamente renovable; sin embargo, su tasa de degradación excede su tasa natural de regeneración. Por este motivo, la gestión ambiental está orientada a resolver, mitigar y/o prevenir los problemas de carácter ambiental, con el propósito de lograr un desarrollo sostenible (Ingaremo, 2003).

2. Rol de los microorganismos del suelo

Las funciones de la biota del suelo son centrales para los procesos de descomposición y ciclado de nutrientes. El suelo se considera un depósito de actividad microbiana, pese a que el espacio ocupado por microorganismos vivos se estima en menos del 5% del espacio total (Tilak *et al.*, 2005).

La importancia de la composición e interacción de las poblaciones microbianas en el suelo es indiscutible. En gran medida, la fertilidad del suelo está controlada por las actividades biogeoquímicas de la microbiota que actúa como abastecedora potencial de nutrientes para las plantas (De Cary & Angulo, 2006).

Existen estudios que destacan otros servicios ecosistémicos mediados por microorganismos, resaltando su papel en mejorar respuestas de las plantas al estrés del suelo (Lau & Lennon, 2011). Estas múltiples facetas de los microorganismos del suelo, explican su papel en la promoción del crecimiento y la productividad de la planta (Hol *et al.*, 2010).

Un número creciente de trabajos donde se han estudiado interacciones entre hongos y comunidades bacterianas del suelo, actividades enzimáticas y el estado nutricional de *Vitis vinifera* L., han puesto de relieve el papel fundamental de los procesos microbianos en la nutrición de la vid (Peregrina *et al.*, 2010; Novara *et al.*, 2013; Novara *et al.*, 2014). Los microorganismos del suelo controlan el funcionamiento del agroecosistema de la vid como mediadores de la descomposición y estabilización del carbono, y el ciclo de nutrientes (Coleman & Whitman, 2005).

3. Calidad del suelo

Blum & Santelises (1994) describieron el concepto de sustentabilidad y resiliencia del suelo basado en seis funciones ecológicas y humanas: el suelo como productor de biomasa; el suelo como reactor natural capaz de transformar, filtrar, amortiguar y depurar las sustancias que llegan a su superficie; el suelo como buffer y como transformador de materia para proteger el ambiente, el agua subterránea y la cadena de alimentos de la contaminación; el suelo como hábitat biológico y reserva genética; el suelo como medio físico y el suelo como fuente de recursos y de herencia cultural. Estos conceptos y los sugeridos por Warketin (1996) fueron las bases a partir de las cuales la *Soil Science Society of America* estableció el concepto de calidad del suelo (Karlen *et al.*, 1996). En términos simples, Karlen *et al.* (1996), definieron a la calidad del suelo como "la capacidad (del suelo) para funcionar". Esta definición, basada en la función, refleja la naturaleza viva y dinámica del suelo. La calidad del suelo puede ser conceptualizada como un asiento de tres patas, cuya función y equilibrio requieren de la integración de tres componentes principales: la productividad biológica sostenida, la calidad ambiental y la salud animal y vegetal. Teniendo en cuenta este concepto, el recurso suelo debe ser reconocido como un sistema vivo, dinámico, que emerge a través de un equilibrio e interacción de sus componentes biológicos, químicos y físicos.

3.1 Indicadores de Calidad de Suelos

Doran & Parkin (1996) establecieron indicadores cuantitativos de calidad del suelo a partir de los conceptos antes mencionados.

Un indicador es una variable que resume o simplifica información relevante haciendo que un fenómeno o condición de interés se haga perceptible y que cuantifique, mida

y comunique, en forma comprensible, información relevante. Los indicadores deben ser preferiblemente variables cuantitativas, aunque pueden ser cualitativas o nominales o de rango u ordinales, especialmente cuando no hay disponibilidad de información cuantitativa, o el atributo no es cuantificable, o cuando los costos para cuantificar son demasiado elevados. Las principales funciones de los indicadores son: evaluar condiciones o tendencias, comparar transversalmente sitios o situaciones, para evaluar metas y objetivos, proveer información preventiva temprana y anticipar condiciones y tendencias futuras (Cantú *et al.*, 2007).

Los indicadores deben presentar las siguientes características:

- sencillos, fáciles de medir y tener un alto grado de agregación, es decir, deben ser propiedades que resuman otras cualidades o propiedades;
- interdisciplinarios; en lo posible deberán contemplar la mayor diversidad de situaciones por lo tanto incluir todo tipo de propiedades de los suelos (químicas, físicas, biológicas, etc.);
- tener una variación en el tiempo tal que sea posible realizar un seguimiento de las mismas, asimismo, no deberán poseer una sensibilidad alta a los cambios climáticos y/o ambientales pero la suficiente como para detectar los cambios producidos por el uso y manejo de los recursos (Gallopín, 1995; Doran & Zeiss, 2000).

En el caso particular del presente trabajo, se han escogido indicadores (físico-químicos, bioquímicos, microbiológicos y moleculares), con las características antes descritas, a fin de que su monitoreo aporte información sobre el efecto del manejo agronómico en la calidad del suelo vitícola.

Para la evaluación de la calidad de suelos agrícolas, como los del presente estudio, se han propuesto diferentes indicadores que aportan información acerca del estado de los suelos. Se estudian propiedades físicas y químicas, empleadas generalmente para evaluar productividad, como así también, indicadores microbiológicos, que brindan información del estado biológico del sistema suelo (Aparicio & Torres, 2007). A demás, se utilizan también, indicadores moleculares que permiten obtener mayor información del comportamiento de las comunidades microbianas edáficas a nivel de estructura y diversidad (Insam, 2001).

El estudio de todas estas propiedades, persigue diferentes fines: a demás de permitir monitorear cambios en la calidad del suelo, relacionados con los diversos agentes causantes de su degradación, asociados a las prácticas de manejo intensivo de estos suelos agrícolas, también es útil para visualizar la evolución de la aplicación de una enmienda o como herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso biorremediador (Cantú *et al.*, 2007).

4. Vitivinicultura

4.1 Contexto vitícola mundial y nacional

Los principales productores de *Vitis vinifera* L. a nivel mundial son: España, Francia, Italia, Turquía, Estados Unidos, China, Irán, Portugal, Argentina, Chile y Australia (INV, 2016).

La superficie cultivada en el mundo es del orden de los 7,4 millones de hectáreas (Pantaleón, 2014), de las cuales, 224.707 ha corresponden a territorio argentino. Por esta razón, Argentina ocupa un lugar importante a nivel mundial y se posiciona como un exportador altamente competitivo de los países vitivinícolas tradicionales, como Australia, Francia, España e Italia. La elaboración de vinos y mostos es el principal destino de las uvas que se cultivan en Argentina, el 97% de la superficie implantada con vid es de variedades para vinificar, mientras que el 3% restante se destina para consumo en fresco y para producción de pasas (INV, 2016).

4.2 Vitivinicultura en San Juan

La historia de la vitivinicultura en San Juan, es la historia de la primera actividad industrial de la provincia. Si bien hay documentos de 1569 que registran la implantación de vides, también se han encontrado indicios de que la actividad llegó unos años antes, apenas se fundó la ciudad en 1562. Esto posiciona a San Juan como pionera en la vitivinicultura, desplazando incluso a Mendoza, que en la actualidad es la principal productora de vinos (INV, 2016). El clima y suelo de San Juan ayudaron a la rápida expansión de la actividad. Hoy la provincia se destaca en el mundo por la excelencia de sus vinos (Rivera Medina, 2006).

San Juan y Mendoza, forman parte de la región centro-oeste del país, que concentra más del 90 % de la superficie del viñedo nacional (Abraham *et al.*, 2009; de Rosas *et*

al., 2009). San Juan es la segunda provincia (luego de Mendoza) con mayor superficie cultivada con *Vitis vinifera* L. (50820 ha.) en Argentina (INV, 2016). El 99 % de la superficie ocupada por este cultivo se ubica en los valles de Tulum, Ullum y Zonda (M.P.D.E., 2015).

La provincia de San Juan, le aporta al producto bruto interno nacional en materia vitivinícola el 28% (Dal Borgo & Maldaceda, 2014). En la vendimia de 2016, en la provincia de San Juan se produjeron 6.044.328 quintales de uva, de los cuales el 90% se destinó a la elaboración de vinos (INV, 2016).

5. Cultivo de *Vitis vinifera* L.

5.1 Taxonomía

La familia *Vitáceas* comprende catorce géneros. Las vides pertenecen al género *Vitis* que, a su vez, posee dos subgéneros: *Euvitis* y *Muscadinia*. La vid cultivada de mayor difusión e importancia es *Vitis vinifera* L. perteneciente al subgénero *Euvitis*. Su nombre vulgar es vid (SINAVIMO, 2016).

Reino: *Vegetal*

División: *Espermatófitas*

Subdivisión: *Angiospermas*

Clase: *Dicotiledóneas*

Orden: *Rhamnales*

Familia: *Vitáceas*

Género: *Vitis*

Subgénero: *Euvitis*

Especie: *Vitis vinifera* L.

5.2 Condiciones agroecológicas del viñedo

En San Juan, la vid encuentra las condiciones ecológicas necesarias para su desarrollo. Es susceptible a patógenos y competencia con malezas (Whitelaw-Weckert, 2004; Dorigo *et al.*, 2007). Crece en suelos profundos, sueltos y permeables, pobres en materia orgánica, nitrógeno total y fósforo, de reacción alcalina, ricos en calcio y potasio. Crece también en clima semiárido, con estación invernal seca-fría y lluvias no mayores de 250 mm anuales, por lo que el riego es un factor antrópico indispensable (Farinelli, 2007).

La vid tiene unas exigencias climáticas bien determinadas, definidas fundamentalmente por las temperaturas, la insolación y las lluvias, teniendo también una influencia decisiva los mesoclimas y los microclimas (Pérez Hernández, 2007).

5.3 El suelo vitícola

La vid es una planta rústica que se adapta y crece en prácticamente todos los suelos existentes, salvo casos límite en que tampoco lo hacen otros cultivos, sin embargo, sus vinos están íntimamente ligados al perfil pedológico, la textura, la composición, el pH, la profundidad, entre otros (Pérez Hernández, 2007). Si bien, es una especie que se adapta a diversas condiciones edáficas, los óptimos para su crecimiento son aquellos de textura franca, moderadamente profundos a profundos y de buen drenaje. Los buenos suelos vitícolas se caracterizan por poseer un poder de infiltración elevado y altos contenidos de grava, que permiten un rápido calentamiento en primavera.

Vitis vinifera L., suele crecer en terrenos poco productivos, pedregosos, con pendiente, a veces pobres en nutrientes. Es una especie sensible a la asfixia radical, motivo por el cual, deben evitarse los suelos arcillosos y anegables (Dorigo *et al.*, 2007).

Tiene pocas necesidades nutricionales, por lo que el plan de fertilización pretende mantener los minerales en un nivel medio, evitando carencias o insuficiencias que pueden afectar la fisiología del viñedo y la calidad de vendimia (Pérez Hernández, 2007).

Las raíces de la vid pueden expandirse a lo ancho-largo y profundo en búsqueda de agua y nutrientes. Por esta razón, la planta frecuentemente no requiere de la adición de más nutrientes, con la excepción de vides que son cultivadas en terrenos inhóspitos (Dorigo *et al.*, 2007).

La adición de compuestos de síntesis química, ha sido el método principal para mejorar los suelos desde la Segunda Guerra Mundial. Los nutrientes esenciales incluyen el nitrógeno (N), fósforo (P), potasio (K), calcio (Ca), magnesio (MG), y azufre (S). Los micronutrientes incluyen el hierro (Fe), zinc (Zn), manganeso (Mn), cobre (Cu), boro (B), molibdeno (Mo), y cloro (Cl). De los nutrientes mencionados, el

N, P, K, Ca, Mg, Fe, Zn y el B son los más comúnmente implicados en situaciones de desbalance de nutrientes. Todos estos elementos juegan un papel importante en las funciones metabólicas de las plantas de vid y necesitan mantenerse en niveles mínimos (Chien, 2011).

6. Manejo agrícola del viñedo

El objetivo principal de toda plantación de viñedo es la producción de uva de calidad, ya sea para el destino de mesa o bien para la vinificación. Para ello, el conjunto de técnicas y factores de producción vitícola deben considerar la densidad de plantación, la nutrición mineral y orgánica, el sistema y la estrategia de riego, la lucha y control fitosanitarios, el sistema de conducción y poda, las operaciones en verde (espergurado, aclareo de racimos, despunte, deshojado), los métodos de recolección (López-Piñeiro *et al.*, 2012). En este contexto, las técnicas de mantenimiento del suelo resultan fundamentales para lograr el control de la vegetación espontánea, evitar la formación de la costra superficial, mejorar la capacidad de retención de agua en el suelo, optimizar el contenido de materia orgánica y fertilidad del terreno, facilitar la incorporación, movilidad y absorción de nutrientes, favorecer el desarrollo del sistema radicular, posibilitar el acceso y circulación de maquinaria en la plantación y evitar problemas de escorrentía y erosión (Gil-Albert, 1991).

6.1 Labranza convencional

Tradicionalmente, la labranza convencional ha sido la técnica más empleada en los viñedos. Ésta práctica consiste en trabajar el terreno en profundidad y/o superficie, permaneciendo éste libre de vegetación espontánea (Sánchez-Moreno *et al.*, 2006). Ésta técnica emplea maquinaria pesada para roturar y voltear el suelo, en ocasiones alcanzando los 0,8 m de profundidad (MAGRAMA, 2012).

El sistema de riego por surco en el viñedo, necesita de distintos trabajos de arada:

-Arada en otoño: es una labor profunda que aporta suelo al pie de la planta, protegiéndola de los fríos del otoño e invierno y, además, realiza callejones para la vendimia.

-Arada de principios de primavera: es una labor superficial que produce un surco cercano al pie de la planta y un bordo sobre el callejón, permitiendo así el riego.

-Arada en el mes de noviembre: es una labor superficial que se realiza en floración, cubriendo con tierra nueva el pie de la planta y tapando el surco, el que quedará en el centro del callejón. En el mes de diciembre los riegos son más necesarios debido al crecimiento de los racimos.

-Arada en los meses de verano: en esta época debido a las mayores exigencias de agua dadas por un aumento de la evapotranspiración, los surcos se realizan al pie de la planta. En febrero se disminuye la cantidad de riegos para aumentar la cantidad de azúcares en los frutos. Durante los meses de marzo-abril, se realiza la cosecha por lo que se suspende todas las actividades (SINAVIMO, 2016).

El laboreo se ha venido justificando por una serie de efectos favorables que se le suelen atribuir. Entre ellos, se puede destacar la facilidad que este sistema confiere para la incorporación de abonos y enmiendas, como así también, para el enraizamiento profundo, la infiltración del agua y la aireación del perfil de suelo labrado. A demás, esta práctica aún sigue en vigencia debido a que el rendimiento de este tipo de manejo es, en promedio, un 25% superior al de la producción agrícola con laboreo reducido (Badgley *et al.*, 2007). No obstante, se ha comprobado la existencia de una serie de inconvenientes relacionados con su utilización, como la formación de suela de labor o pie de arado (compactación a mayor profundidad de la capa arable), el aumento de la erosión, la degradación de la estructura por debajo de los horizontes labrados, la disminución del carbono orgánico del suelo (Mazzoncini *et al.*, 2011), la modificación de la comunidad biológica del suelo a diferentes niveles tróficos (Coulouma *et al.*, 2006; Sánchez-Moreno *et al.*, 2006; Schreck *et al.*, 2012) o la dificultad de circulación de maquinaria agrícola en períodos lluviosos, que han hecho plantearse al agricultor otros sistemas alternativos de gestión del suelo (Gago *et al.*, 2007).

Una práctica común en la agricultura tradicional es la eliminación de “malas hierbas” mediante el uso de herbicidas, arrancado manual o maquinaria agrícola, siendo esta última la más habitual. Esta práctica se realiza normalmente con aperos, los cuales roturan, levantan y voltean el suelo, exponiendo parte de sus horizontes a la luz y temperatura superficial, por lo que muchos de los procesos bioquímicos y metabólicos se alteran (Sánchez Fernández, 2015). Esto supone una agresión

directa sobre el ecosistema suelo y trae consigo otra serie de perjuicios a corto y largo plazo:

- expone la micro-fauna a la superficie y a sus depredadores, limitando su importante función de dotar de estructura al suelo mediante sus galerías y poros, además de su labor detritívora y descomponedora;
- desestabiliza los agregados del suelo, desecándolos y fracturándolos, de igual forma que a las comunidades de hongos, siendo ambos de suma importancia para la comunidad microbiana y actividades enzimáticas;
- aumenta su superficie específica, por lo que más cantidad de suelo queda expuesto, y la evapotranspiración se ve incrementada, pudiendo generar problemas de salinidad en el suelo;
- crea rodaduras de compactación en los cultivos a largo plazo y lo deja sin cobertura vegetal alguna, lo que incrementa la erosión y la pérdida de suelo, debido al efecto de la lluvia, el aire y la escorrentía superficial.

6.2 Manejo orgánico del cultivo

El manejo del suelo mediante aplicación de abonos orgánicos, presenta numerosas ventajas agronómicas y medioambientales con respecto a la técnica tradicional de laboreo (Acosta & Paolini, 2006).

En el caso del cultivo de vid, el efecto de las enmiendas sobre el incremento del contenido de materia orgánica en el suelo, está ampliamente confirmado (Hernández *et al.*, 2000, Morlat y Jacquet, 2003; Fourie *et al.*, 2007; Steenwerth y Belina 2008; Ochoa, 2009).

La enmienda de suelo o fertilización orgánica, mejora la estructura del suelo y el contenido de materia orgánica del mismo con resultados contrastantes dependiendo tanto de la cantidad como de la calidad de la materia orgánica aplicada (Navel & Martins, 2014).

En el horizonte superficial, el contenido de materia orgánica incide directamente sobre diferentes propiedades físicas relacionadas con la calidad del suelo, como el porcentaje de agregados y su estabilidad, la densidad aparente, la porosidad, la infiltración del agua y su capacidad de almacenamiento. De igual modo, propiedades

microbiológicas como la biomasa microbiana y la actividad microbiana del suelo, se ven incrementados por la aplicación de enmiendas (Virto *et al.*, 2012).

Otra técnica de gestión sustentable en viticultura, es la implementación de cubierta vegetal en los viñedos, la cual también contribuye a mejorar la infiltración de agua, la captura de carbono, el suministro y retención de nutrientes, y la reducción de la erosión del suelo (Smith *et al.*, 2008; Steenwerth & Belina, 2008b; Peregrina *et al.*, 2010; Mazzoncini *et al.*, 2011; Ruiz-Colmenero *et al.*, 2013; Salomé *et al.*, 2016).

La industria vitivinícola produce una gran cantidad de residuos orgánicos que se utilizan como enmiendas en suelos o como componentes para la elaboración de sustratos. Los principales residuos sólidos producidos en esta actividad, son el orujo (compuesto por piel, semillas y raspones) y los restos de poda.

El orujo puede llegar a representar el 20% en peso de la cosecha. Debido a sus características (pH ácido y fitotoxicidad), se realiza un proceso de compostaje antes de su uso. El compost de este residuo de bodega, presenta una baja salinidad y aumenta el porcentaje de materia orgánica en el suelo, los niveles de nutrientes, la biomasa microbiana (Bustamante *et al.*, 2010; Paradelo *et al.*, 2011) y mejora las propiedades físicas de los suelos (aireación, capacidad de retención de agua, etc.).

Por otra parte, el picado y reincorporación de restos de poda, se considera una buena práctica vitícola ecológica, ya que devuelve parte de los nutrientes que se han extraído durante la producción de uva y constituye una fuente de materia orgánica para la microbiota edáfica (Rodríguez, 2016). Esta técnica, donde los sarmientos son picados e incorporados al suelo en el sector de la interfila, con el fin de reciclar y aumentar el contenido de materia orgánica, se basa en principios de la agroecología, contribuyendo a la sostenibilidad del sistema suelo (Díaz *et al.*, 2009).

Una práctica agroecológica muy común en manejo de *Vitis vinifera* L., es el uso de diferentes tipos de estiércol (de caballo, oveja, gallina y cabra) debidamente tratados. El empleo de estas enmiendas, aumentan significativamente las comunidades microbianas, la actividad enzimática, el contenido de materia orgánica, y, además, estabilizan agregados, facilitan la generación de complejos de cambio arcillo húmico y dotan de textura a suelos degradados (García-Orenes *et al.*, 2010).

6.3 Labranza mínima

El objetivo de la agricultura de conservación es lograr un manejo rentable y sostenible mediante la aplicación de tres principios básicos: el uso de rotaciones de cultivo, la reducción del laboreo, con una alteración mínima del suelo, y el mantenimiento sobre la superficie de éste de una cantidad adecuada de residuos de cultivo (FAO, 2014).

Particularmente, en el caso de *Vitis vinifera* L., por tratarse de un cultivo perenne, no es posible llevar a cabo rotaciones. Por ello, la necesidad de emplear prácticas de gestión sostenible, que incrementen el nivel de materia orgánica y en consecuencia la fertilidad del suelo (Guerra & Steenwerth, 2012).

El laboreo mínimo, es una técnica de mantenimiento del suelo que, si bien utiliza maquinaria pesada para roturar y voltear el suelo, lo hace a una profundidad no superior a los 0,2 m, a diferencia del laboreo convencional, donde el impacto alcanza una profundidad cercana al metro (Sánchez Fernández, 2015).

El no laboreo del suelo, con arados y rastras, disminuyen los riesgos de erosión y afectan positivamente las características químicas (pH, materia orgánica, niveles de nutrientes), físicas (compactación, retención de agua) y biológicas (actividad de la microbiota) del suelo. Estos suelos retienen mayor cantidad de agua debido a la presencia de residuos en la superficie, que reducen las pérdidas por evaporación y aumenta la infiltración de agua cuando ocurren lluvias. En estos suelos bajo labranza mínima, existen más huecos, llamados poros y macroporos, los cuales aceleran y aumentan la entrada del agua al subsuelo (Prieto-Méndez *et al.*, 2013).

7. Antecedentes generales y justificación del trabajo

La importancia del estudio de la capa superficial del suelo, radica en que la superficie edáfica es la interfaz vital que recibe gran parte de los fertilizantes y pesticidas aplicados al cultivo y participa en el flujo de gases dentro y fuera del suelo. A demás, se considera que esta capa es la más activa dentro del perfil del suelo, ya que contiene la mayor proporción de materia orgánica (Moreno *et al.*, 2006), la cual representa una especie de “motor biológico”, debido a que sus componentes (azúcares, almidones, proteínas de bajo peso molecular,

hemicelulosa, celulosa, ligninas, grasas y ceras) constituyen la materia prima que actúa como fuente en el proceso de descomposición microbiana (Bohn, 1993; Zúñiga *et al.*, 1995).

Por estas razones, el estudio de indicadores de calidad en esta porción del suelo, es esencial para conocer el funcionamiento del mismo como un sistema vivo (Franzluebbers, 2002). En este sentido, existen antecedentes que informan acerca de la importancia del estudio de los 10 primeros centímetros del suelo (comparado con profundidades mayores), debido al impacto que ocasionan los manejos agronómicos en relación con la dinámica del ciclado biológico de nutrientes (Taylor *et al.*, 2002; Bending *et al.*, 2004; Nachtigall *et al.*, 2007; Qin *et al.*, 2010). De hecho, la interfase entre los residuos vegetales y el suelo (detritósfera) se ha señalado como fundamental en el proceso de descomposición. En comparación con la labranza convencional, se ha encontrado bajo siembra directa (SD) mayor cantidad de C orgánico del suelo (CO) y mayor concentración en los primeros 10 cm, debido a la no inversión del suelo (McCallister & Chien, 2000) y a un ambiente menos oxidativo para la actividad microbiana (Wats *et al.*, 2000; Balesdent *et al.*, 2000).

El sistema de manejo convencional del cultivo, ha favorecido el desarrollo de la economía mundial, ya que ha permitido que tierras no aptas para cultivo, se hayan transformado en verdaderos agroecosistemas (Jaramillo, 2002). A demás, el manejo agrícola tradicional, ha contribuido a la neoformación de suelos que en condiciones naturales (sin contribución antrópica) no hubiera sido posible el desarrollo de actividades agrícolas (Violic, 1998; Panettieri *et al.*, 2014). Sin embargo, la ejecución de estas prácticas reiteradas a lo largo de los siglos, han resultado agresivas para los suelos, poniendo en peligro la sostenibilidad a largo plazo de los sistemas agrícolas (Hemmat *et al.*, 2010). En relación a esto, se ha informado que existe una protección física de la materia orgánica que se produce a nivel de macro y microagregados, los cuales son destruidos por la labranza (Balesdent *et al.*, 2000; Apezteguía & Sereno, 2002).

En estas condiciones el riesgo de pérdida de fertilidad y calidad del suelo es muy elevado (Caravaca *et al.*, 2002). De la misma forma, ha sido estudiado en los primeros centímetros de suelos cultivados, el efecto de distintos agroquímicos sobre

las comunidades microbianas y sus actividades enzimáticas asociadas (Gundi *et al.*, 2007; Klose *et al.*, 2006). Se ha observado que, el uso prolongado de pesticidas orgánicos e inorgánicos en viñedos ha dado como resultado un incremento en las concentraciones de estos contaminantes en el suelo y otros ambientes relacionados (Komárek *et al.*, 2010). Por ello, en este sentido, es fundamental estudiar parámetros que reflejen fielmente la calidad del suelo y sean significativamente sensibles a cualquier cambio que pueda producirse en el mismo. Estos parámetros brindan información sobre la capacidad del suelo para llevar a cabo y mantener sus funciones ambientales y su producción (Arshad & Martin, 2002).

Si bien existen antecedentes puntuales (Steenwerth *et al.*, 2008) acerca de las particularidades de las comunidades microbianas asociadas a suelos de viñedos respecto de otros agroecosistemas, dado que su fertilización no requiere grandes aportes de nitrógeno, necesita menos frecuencia de labranza y un uso moderado de herbicidas; estos antecedentes se consideran escasos. Refuerza esta percepción el hecho de que los distintos suelos y geografías donde está implantada la vid, si bien tienen características en común, también podrían presentar diferencias remarcables, lo cual amerita incrementar el conocimiento en este aspecto. A demás, en función de comprender la dinámica del suelo vitícola, es necesario generar conocimiento acerca de los distintos manejos del viñedo en relación con sus comunidades microbianas asociadas. Si bien existen antecedentes científicos recientes donde se compara la influencia de sistemas de labranza tradicionales y laboreo orgánico (Okur, 2009; Coll *et al.*, 2011; Oliveira Freitas *et al.*, 2011; Forlan Amaral, 2012; Peregrina *et al.*, 2016), no se ha generado conocimiento acerca del impacto de las prácticas agronómicas usuales en viñedos de ambientes áridos, integrando en su evaluación indicadores microbiológicos y bioquímicos generales con parámetros físico-químicos. A demás, el presente trabajo, aportará información (ausente en la bibliografía, hasta el momento) acerca de las propiedades edáficas no sólo en las filas, sino también, en interfilas del cultivo de *Vitis vinifera* L., permitiendo conocer más específicamente, el impacto del manejo a nivel de micrositio.

8. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el impacto de distintos sistemas de manejo agronómico del cultivo de vid en parámetros físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos de calidad de suelos de ambientes áridos del departamento de San Martín, provincia de San Juan.

CAPÍTULO II:
“Metodología General”

1. Área de Estudio

El sitio bajo estudio, corresponde a la finca “San Martín”, ubicada en el departamento de San Martín, provincia de San Juan.

La provincia de San Juan se ubica en la región centro-oeste de Argentina y su geografía se caracteriza por tener 80 % del territorio ocupado por serranías y cordones montañosos. El clima es desértico y con amplias variaciones térmicas entre el día y la noche. Las precipitaciones son escasas, con un promedio de 95 mm anuales en el área con mayor superficie agrícola (Sánchez *et al.*, 2016). Por este motivo, y, sumado a la elevada evapotranspiración, es imprescindible el riego en estas zonas. Esta limitación natural ha llevado a que los asentamientos humanos se desarrollen en torno a las áreas regadas, creando un sistema de economía de oasis en los distintos valles localizados a lo largo de ríos (Miranda *et al.*, 2015). El origen del agua se encuentra en el deshielo de la nieve de las altas cumbres de la Cordillera de los Andes, la cual forma un límite natural al oeste de la provincia, en límite con Chile. El oasis más importante por su disponibilidad de agua y suelos es el Valle de Tulum, el cual forma el principal espacio poblacional y económico (junto con los valles vecinos Ullum y Zonda). Está integrado por tres grandes unidades Fisiográficas: el cauce fluvial del río San Juan, los cordones montañosos y el valle o depresión propiamente dicho (Suvires, 2004). Desde un enfoque edafogenético, puede decirse que los suelos que conforman esta región tuvieron una evolución fuertemente marcada por factores formadores como el clima y relieve. Por ello los suelos destinados a la agricultura, están constituidos por los materiales del transporte y sedimentación del río San Juan, como también de procesos eólicos y derrubios coluviales pertenecientes a las formaciones montañosas periféricas. Muchos de estos suelos pertenecen a la ex llanura de inundación del río, por lo que son profundos, de variada granulometría y con distribución heterogénea, constituidas por una alternancia de capas que responden en cierta medida a la capacidad de arrastre del río y el relieve preexistente sobre el cual fueron depositados (Liotta, 2001). Los suelos de San Juan presentan la característica de ser suelos jóvenes, inmaduros, con escaso desarrollo de horizontes pedogenéticos, debido a las características climáticas desérticas. La característica favorable para el desarrollo de estos suelos desérticos, destinados a la agricultura, es que evolucionan bajo condiciones diferentes a las de las zonas áridas o de montañas donde el desarrollo

del perfil es inapreciable. El rasgo particular de estos suelos es que están constituidos por depósitos de materiales erosionados que fueron transportados por el río, por lo que los efectos causados por los factores formadores de suelo son diferentes a la situación normal de ambientes desérticos. Debido a esto, los procesos edafogénicos actuales operan más rápido de lo esperado (Porta *et al.*, 2014).

El agua para riego proviene de la cuenca del río San Juan, que es el cauce más importante de toda la región; con un caudal anual medio de 60,5 m³. El mismo proviene de las aguas de deshielo de la alta montaña, por lo que su derrame es mínimo en invierno y máximo en verano, necesitando de manera inevitable su regulación a través de embalses (Miranda *et al.*, 2015).

A causa del régimen climático árido en la provincia de San Juan, la agricultura necesita del riego durante todo el ciclo biológico de los cultivos. La superficie agrícola es 102.688 ha, de las cuales 89.118 son regadas con agua distribuida por la red de riego y las 13.570 ha restantes sólo con agua subterránea mediante extracciones privadas (Miranda *et al.*, 2011a). Los cultivos de mayor importancia son la vid y el olivo, 50 y 17 % de la superficie, respectivamente. Por el tipo de suelo y su formación en los diferentes valles, sólo 2,4 % del total de la superficie provincial cuenta con tierras aptas para el desarrollo agrícola; esto significa unas 220.000 ha (PROSAP, 2005).

En los tres años que se llevó a cabo el presente estudio (2013, 2014 y 2015), las precipitaciones medias anuales se encontraron en un rango de 12 a 39 mm; y la temperatura media (correspondiente a los tres años) entre 17 °C y 23 °C.

Durante los 3 años de muestreo del trabajo, en general, las precipitaciones fueron muy escasas en las dos estaciones muestreadas. En el mes de abril correspondiente al año 2013, no hubieron precipitaciones; en el 2014, llovió 0,9 mm y en el año 2015 1,8 mm. En el segundo muestreo correspondiente al año 2013, llovió 0,3 mm; en el 2014 1,9 mm y en el año 2015, 2 mm (SIGA-INTA, 2016).

Se estudiaron las características físico-químicas, bioquímicas y microbiológicas de suelos asociados a viñedos (Varietal: *Syrah*), sometidos a 3 sistemas de manejo agronómico diferentes: labranza mínima, convencional y orgánica.

Los suelos vitícolas con labranza mínima, presentan como característica distintiva: reducción en el trabajo de labranza. Únicamente se utiliza el arado de cincel, con dos púas, para mejorar la infiltración del agua. En este sistema de manejo, se emplean entre 60 y 140 unidades de nitrógeno (urea), por hectárea. Las aplicaciones se llevan a cabo en el mes de marzo (post cosecha) y en octubre (para el crecimiento de brotes y bayas).

Con el fin de combatir las malezas, se emplea un herbicida sistémico (glifosato común). Además, se aplican fungicidas preventivos: azufre e hidróxido de cobre. El azufre se emplea para prevenir el ataque del oidio (*Uncinula necator Burr.*), hongo que inverna en el interior de las yemas y en los sarmientos, y que, al comienzo de la brotación, cuando se dan las condiciones ambientales para que salga de su letargo y empiece su desarrollo, ocasiona daños directos en la cantidad y calidad de la cosecha. Por otra parte, el hidróxido de cobre se aplica para prevenir la aparición de la peronóspora, enfermedad causada por el hongo *Plasmopara viticola*, que provoca disminución de la actividad fotosintética, dificultad en la maduración de racimos, menores reservas futuras de energía para la brotación del año siguiente y disminución en los rendimientos de cosecha (Catania *et al.*, 2012). No reciben el aporte de ningún tipo de enmienda.

Estos suelos con manejo de labranza mínima, tienen una antigüedad de plantación de 13 años y se caracterizan por presentar textura fina, en superficie son franco-arcillo- limosos, y en profundidad, arcillosos.

Los suelos de viñedos con labranza convencional, presentan como característica distintiva: el trabajo de labranza tradicional. Se utilizan tres tipos de arados: de cincel, de disco y subsolador, con el fin de mejorar la infiltración del agua y remover el suelo, tanto en superficie como en profundidad. Este sistema de manejo, es similar al sistema con laboreo reducido en cuanto a la aplicación de agroquímicos, es decir, que también emplea fertilizante: nitrógeno (las mismas dosis por hectárea),

herbicida: glifosato común y fungicidas preventivos: azufre e hidróxido de cobre. De modo similar a los suelos con labranza mínima, no reciben ningún tipo de enmienda orgánica.

Estos suelos vitícolas con labranza convencional, tienen una antigüedad de plantación de 30 años y se caracterizan por presentar textura franco-limosa en superficie, y arenosa fina en profundidad.

Los suelos de *Vitis vinifera* L. con labranza orgánica, presentan dos características que los distinguen de los otros tratamientos: no reciben agroquímicos (ni fertilizante nitrogenado ni herbicida), únicamente emplean como fungicida preventivo contra la peronóspora, el oxiclورو de cobre; y, además, reciben el aporte de enmienda. Se emplean restos de poda (aproximadamente 3000 kg/ha) que se incorporan a través de la labranza en las interfilas del viñedo.

Presenta una característica en común con el manejo convencional: el laboreo. Dicha tarea de labranza convencional, implica el empleo de los tres tipos de arado (de cincel, de disco y subsolador).

Estos suelos con manejo de labranza orgánica, tienen una antigüedad de plantación de 35 años y se caracterizan por presentar textura franco-limosa en superficie (similar al viñedo convencional), y arcillo-limosa en profundidad.

Los tres tratamientos bajo estudio, presentan niveles de conductividad eléctrica similares: 8/16 dS/m⁻¹. Estos valores se consideran elevados, lo que significa que se trata de suelos con alta concentración de sales.

Los tres tipos de viñedos, reciben el aporte de agua de riego.

A continuación, se muestran las características de los tres tratamientos, que fueron detalladas anteriormente (Tabla 1).

Características	Labranza Mínima	Labranza Convencional	Labranza Orgánica
Coordenadas	S: 31° 34' 26,9" O: 68° 19' 38,6"	S: 31° 31' 51,8" O: 68° 34' 2"	S: 31° 34' 15,4" O: 68° 20' 29,1"
Maquinaria agrícola	Arado de Cincel	Arados: -de Cincel -de Disco -Subsolador	Arados: -de Cincel -de Disco -Subsolador
Manejo de la interfila	Vegetación natural/espontánea	Suelo desnudo	Se aplica enmienda: restos de poda (se incorporan al suelo con la rastra de disco)
Fertilizantes	Nitrógeno	Nitrógeno	-
Herbicidas	Glifosato común	Glifosato común	-
Fungicidas	-Azufre -Hidróxido de Cobre (Cu(OH) ₂)	-Azufre -Hidróxido de Cobre (Cu(OH) ₂)	Preventivos: -Oxicloruro de Cobre (Cu ₂ (OH) ₃ Cl)
Textura superficial del suelo	Franco-arcillo- limosa	Franco-limosa	Franco- limosa
Textura en profundidad del suelo	Arcillosa	Arenosa fina	Arcillo-limosa
Salinidad (Conductividad eléctrica)	Salinidad fuerte (8/16 dS/m ⁻¹)	Salinidad fuerte (8/16 dS/m ⁻¹)	Salinidad fuerte (8/16 dS/m ⁻¹)
Antigüedad de la plantación	13 años	30 años	35 años

Tabla 1. Características de los sistemas de manejo agrícola con labranza mínima, convencional y orgánica de los viñedos bajo estudio.

2. Diseño Experimental

El diseño experimental para la extracción de muestras de suelo fue en bloques al azar con 9 repeticiones, en 6 cuadros de viñedos (dos cuadros por cada uno de los tres sistemas de manejo bajo estudio). Cada uno de los cuadros muestreados, presentó una extensión de 3 hectareas.

En cada uno de los tres años de muestreo, se tomaron muestras de suelo en 9 filas y 9 interfilas de cada uno de los cuadros de viñedos, considerando los primeros 10 cm de profundidad, utilizando un testigo esterilizable *in situ*. Dentro de cada una de

estos micrositios (9 filas y 9 interfilas), a su vez, se tomaron 9 submuestras (Figura 1). Dichas submuestras fueron mezcladas y homogeneizadas.

CUADRO DE VIÑEDO

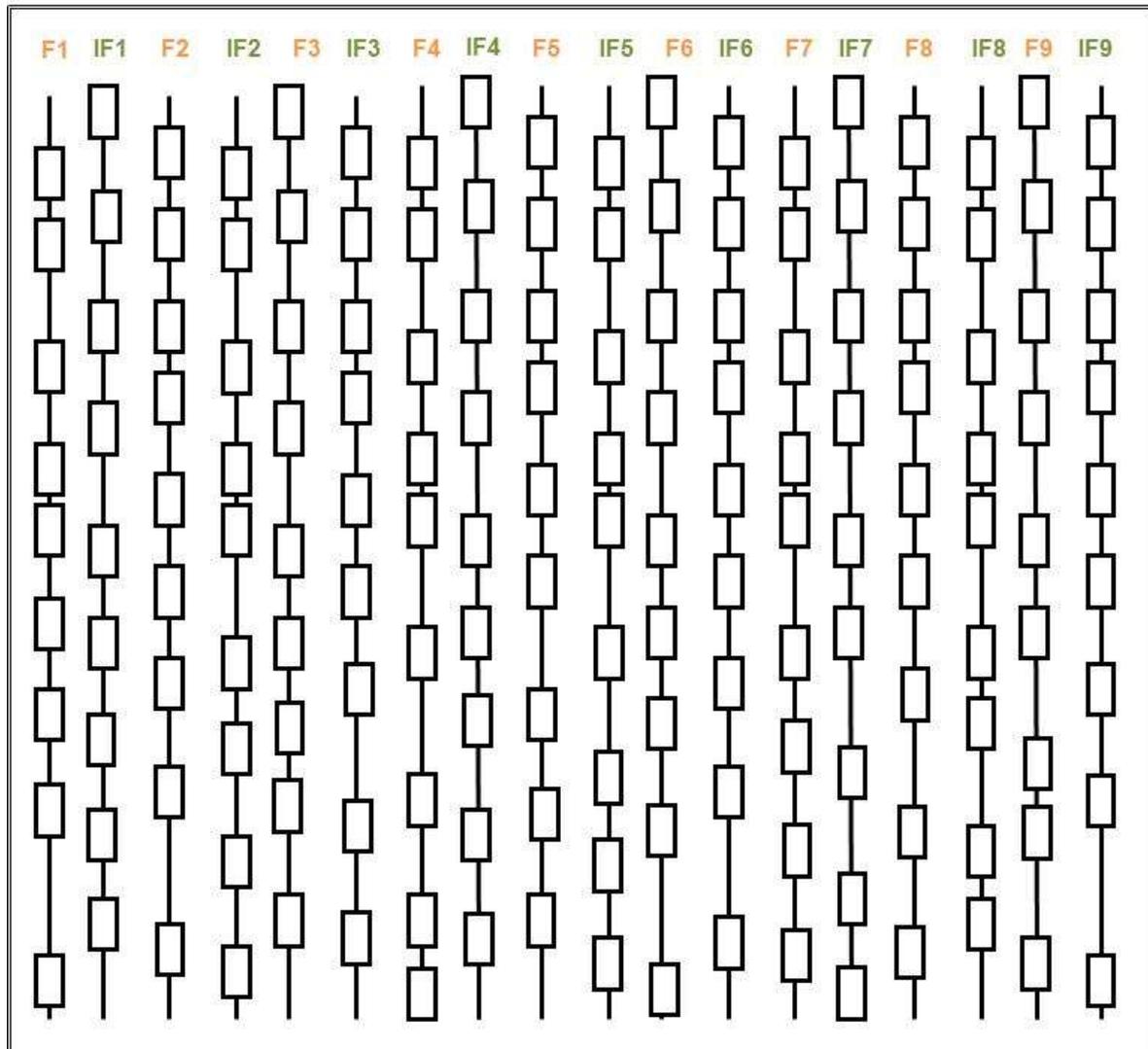


Figura 1. Esquema de diseño de muestreo. Se muestran los micrositios: 9 filas (F) y 9 interfilas (IF) muestreadas en los viñedos con labranza mínima, convencional y orgánica. Las cajas representan las submuestras (9) tomadas dentro de cada uno de los micrositios correspondientes a los tres tratamientos.

Las muestras de suelo se tamizaron por medio de tamiz de malla de 2mm (MAPA, 1986). Luego se colocaron en recipientes estériles y se refrigeraron para ser conservadas hasta el momento del análisis en el laboratorio.

Se tomaron dos muestras por año (2013, 2014 y 2015): en abril y en noviembre, a fin de tener una mayor representatividad del sistema suelo.

Por otra parte, en el presente trabajo, no se realiza un análisis temporal de los datos, ya que los análisis estadísticos no mostraron tendencias de las variables en el tiempo y, además, existen antecedentes que afirman que para evaluar efectos del manejo agronómico sobre propiedades edáficas, se requiere un lapso superior a tres años, es decir, una escala temporal más amplia (Abril *et al.*, 2006; Çoban *et al.*, 2016; Prosdocimi *et al.*, 2016).

3. Análisis Estadístico

Para la evaluación del efecto de las distintas prácticas de manejo agrícola en los parámetros de calidad de suelos de viñedos, los datos se analizaron mediante un Análisis de la Varianza Unifactorial (ANOVA). La separación de medias a posteriori, se realizó por método de Tukey con un nivel de significancia menor a 0,05. Para los resultados que no presentaron una distribución normal se realizó la prueba no paramétrica de Kruskal Wallis. Los datos que no resultaron normales, fueron transformados a logaritmo natural (ln) para satisfacer los criterios de normalidad. Para determinar asociaciones y correlaciones entre las variables, se realizaron análisis de componentes principales (PCA) y análisis de correlación de Pearson. Todos los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software R (Team, 2016).

CAPÍTULO III:

“Indicadores físico-químicos de calidad de suelos de viñedos bajo diferentes manejos agrícolas”

I. INTRODUCCIÓN

Los indicadores físico-químicos se refieren a condiciones de este tipo que afectan las relaciones suelo-planta, la calidad del agua, la capacidad amortiguadora del suelo, la disponibilidad de agua y nutrientes para las plantas y microorganismos (SQI, 1996). Entre ellos se encuentran la disponibilidad de nutrientes, el carbono orgánico total, el carbono orgánico lábil, el pH, la conductividad eléctrica, la capacidad de adsorción de fosfatos, la capacidad de intercambio de cationes, los cambios en la materia orgánica, el nitrógeno total y el nitrógeno mineralizable (García *et al.*, 2012).

El pH mide el grado de acidez, es decir, la concentración de hidrogeniones (H^+) que existen en el suelo. Es influenciado por el equilibrio entre la composición de los cationes de intercambio: calcio (Ca^{+2}), magnesio (Mg^{+2}), potasio (K^+), sodio (Na^+), y amonio (NH^{4+}) y las cargas negativas de arcillas y materia orgánica (Martínez-Casasnovas *et al.*, 2009). El pH influye en la abundancia de bacterias en el suelo, ya que la mayor parte de ellas, se desarrollan mejor a pH neutro y ligeramente alcalino; en cambio, los hongos se desarrollan a un pH más amplio (Fassbender, 1982).

Por otra parte, la conductividad eléctrica (CE), es una medida indirecta de la cantidad de sales que contiene un suelo (Tránsito *et al.*, 2012). Estos dos parámetros químicos (pH y CE), se consideran indicadores fundamentales en el estudio de la calidad del suelo (Doran & Parkin, 1996).

En general, los suelos de sistemas áridos, como los del presente estudio, contienen exceso de sales solubles. En estos ambientes, dichas sales no se pierden, sino que lixivian al horizonte B, y en momentos de sequía ascienden nuevamente (por capilaridad) a la superficie del perfil (Uliarte *et al.*, 2013).

Según Julca-Otiniano *et al.* (2006), la materia orgánica representa del 95 al 99% del total del peso seco de los seres vivos, pero su presencia en los suelos suele ser escasa y son mínimas las excepciones en las que supera el 2% (Navarro *et al.*, 1995). Según Gros y Domínguez (1992), el nivel deseable de materia orgánica en los suelos arcillosos medios es del 2%, pudiendo descender a 1,65% en suelos pesados y llegar a un 2,5% en los arenosos.

La materia orgánica del suelo (MOS) contiene cerca del 5% de N total, pero también contiene otros elementos esenciales para las plantas, tales como fósforo, magnesio, calcio, azufre y micronutrientes (Graetz, 1997). La evolución de la materia orgánica ocurre en dos fases: la humificación y la mineralización (Gros & Domínguez, 1992). La humificación es una fase bastante rápida, durante la cual los microorganismos del suelo actúan sobre la materia orgánica desde el momento en que se la entierra. Primero se forma el humus joven, "lábil o libre" (mezclado con las partículas del suelo, pero aún no ligado a ellas), de evolución rápida, que a su vez, da paso al humus estable. Ambos productos forman la llamada materia orgánica total del suelo. El humus estable es la materia orgánica ligada al suelo, es decir, sólidamente fijada a los agregados de color oscuro, compuesto por húmina, ácidos húmicos y fúlvicos. La fase de mineralización es muy lenta, en ella los microorganismos destruyen progresivamente el humus estable, liberando así los minerales que luego absorberán las plantas. Esta fase presenta dos etapas: amonificación (paso del N orgánico a amonio) y nitrificación (paso del amonio a nitrato) (Julca-Otiniano *et al.*, 2006). En el caso particular de los suelos agrícolas de zonas áridas, como los del presente trabajo, el escaso contenido de humus, se traduce en una baja resiliencia de los suelos, por lo que un manejo agronómico inadecuado, puede conducir a la desertificación a corto plazo (Vázquez *et al.*, 2013). Estos suelos se caracterizan por presentar un contenido más elevado de materia orgánica en la capa superficial (primeros 5 cm de profundidad en zonas naturales y unos 10 cm en zonas cultivadas), disminuyendo en profundidad primero drásticamente y después paulatinamente, hasta llegar casi a desaparecer a los 30-60 cm de profundidad, dependiendo del cultivo (Abril *et al.*, 2014). En condiciones climáticas áridas, donde se emplea agricultura de conservación (labranza mínima y uso reducido de agroquímicos), la determinación de carbono orgánico del suelo (SOC), no es el mejor indicador de mejora de la calidad del suelo; porque las fracciones de materia orgánica lábil son más sensibles a los cambios en el manejo del suelo que el SOC (Haynes, 2005). La materia orgánica particulada (POM) es una reserva transitoria de materia orgánica entre residuos vegetales frescos y materia orgánica humificada (Gregorich & Janzen, 1996), enriquecida en C y nutrientes. A pesar de que representa sólo una pequeña porción de la masa del suelo, es un atributo importante de la calidad del mismo, porque su corto tiempo de rotación hace que sea una fuente importante de C y nutrientes (Peregrina *et al.*, 2010).

La MOS, tiene un rol fundamental en el funcionamiento y sustentabilidad de los sistemas agropecuarios, impactando de manera significativa sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Rotenberg *et al.*, 2007). El proceso de mineralización de la MO es controlado por el tamaño poblacional y la actividad microbiana, sensible a determinadas perturbaciones o cambios en el manejo del suelo (Nannipieri, 1994).

Los procesos de erosión son muy intensos en los cultivos sin rotación, cuando la cubierta vegetal es retirada (Cerdà *et al.*, 2010). En el caso de los viñedos, se produce la eliminación de la vegetación adventicia que deja al suelo desnudo, lo que favorece altas tasas de erosión (Arnáez *et al.*, 2007). La labranza convencional empleada en viñedos, más que el uso de herbicidas, es la causante de una tradicional falta de cubierta vegetal (Novara *et al.*, 2014). Por este motivo, los suelos bajo estas condiciones presentan bajos niveles de MOS (Haynes, 2005).

Los viñedos representan un agroecosistema perenne ideal para la implementación de técnicas que mejoren el contenido de MOS (Steenwerth *et al.*, 2008). Este parámetro, es un indicador físico-químico muy empleado para evaluar el efecto de cultivos de cobertura y demás prácticas de manejo orgánico del cultivo de vid en la calidad edáfica (Steenwerth *et al.*, 2008; Valor & Sánchez, 2013; Salomé *et al.*, 2014).

El nitrógeno (N) en el suelo se encuentra en dos formas diferentes: orgánica e inorgánica. En forma inorgánica, aparece como nitratos, nitritos y amoníaco. La mayor parte de las veces, el N que se analiza en los laboratorios es el orgánico junto al amoniacal, considerándose que los nitratos y los nitritos representan una pequeña fracción. Tanto el N orgánico como el amoniacal se encuentran formando parte de los residuos de cosecha, abonos orgánicos o en los microorganismos del suelo. El N en forma de nitrato es directamente asimilable por las plantas; sin embargo, es fácilmente lavable en profundidad, pudiendo contaminar las aguas subterráneas de forma irreversible.

Los análisis de fósforo (P) intentan imitar la extracción que realizan las plantas mediante la acción de ácidos. Se emplean ácidos más fuertes para la extracción de

P total y ácidos débiles para la extracción del P activo. El P activo, es el P que en teoría utilizan las plantas. Dicho P es el que se encuentra en las sedes de intercambio y en la solución del suelo. Mientras que el P en reserva (total-activo), se encuentra en el suelo en forma de fosfato insoluble. En suelos básicos, el P se inactiva fácilmente en formas insolubles, por lo que suele encontrarse poco P en forma activa. En este caso, tras realizar el abonado, con el paso del tiempo el P se va inactivando.

El potasio (K) se encuentra en el suelo en forma de catión intercambiable, es decir, adsorbido a las arcillas y a la materia orgánica en sus sedes de intercambio, pasando fácilmente a la solución del suelo por la acción de ácidos débiles. Son ricos en K, los suelos que se abonan frecuentemente con estiércol.

Numerosos trabajos realizados en cultivos de *Vitis vinifera* L., emplean el estudio de macronutrientes (N, P y K) con distintos fines. Entre ellos, para conocer el estado de fertilidad de suelos cultivados con vid (Çoban *et al.*, 2016; Novara *et al.*, 2013); comparar suelos vitícolas con zonas prístinas (Farías *et al.*, 2012; Vega-Ávila, 2012); evaluar el efecto de la incorporación de cubiertas vegetales (Sánchez Martínez, 2004; Karll *et al.*, 2016); conocer el potencial productivo de un viñedo (Apcarian *et al.*, 2006); evaluar el aporte nutricional de distintos tipos de estiércol o compost (García Trujillo, 2015); comparar el estado químico de suelos cultivados con tratamiento ecológico del viñedo, respecto de suelos con manejo convencional (García Trujillo, 2015); evaluar el efecto de la aplicación al suelo de aguas residuales de bodega (Mosse *et al.*, 2013).

Los compuestos de cobre (Cu), como el oxiclورو de cobre $[\text{CuCl}_2 \cdot 3\text{Cu}(\text{OH})_2]$ son ampliamente utilizados en la agricultura convencional del viñedo, donde se emplean para combatir las enfermedades de hongos que afectan a los cultivos comerciales (Fernández Calviño *et al.*, 2016).

En los suelos de viñedos, la longevidad de las plantaciones y el uso sostenido de compuestos cúpricos, desde finales del siglo XIX en Europa, han contribuido a una acumulación de Cu más pronunciada (Gessler *et al.*, 2011). Además, la necesidad de aumentar la producción de uva para un mercado cada vez más competitivo ha

favorecido una mayor frecuencia e intensidad de las aplicaciones de fungicidas a base de Cu (Gómez-Armesto *et al.*, 2014). Algunos suelos de viñedos superan claramente el umbral de toxicidad medio para las plantas (alrededor de 100 mg kg^{-1}) (Kabata-Pendias & Pendias 2001), principalmente en países con una larga tradición en esta práctica como Portugal (Magalhães *et al.*, 1985), Italia (Deluisa *et al.*, 1996), Francia (Chaignon *et al.*, 2003) y España (Fernández Calviño *et al.*, 2009). Sin embargo, el rápido desarrollo del sector durante las últimas décadas, ha llevado a la acumulación de Cu en suelos de viñedos de otros países, como la República Checa (Komarec *et al.*, 2008), Eslovenia (Rusjan *et al.*, 2007), Grecia (Vavoulidou *et al.*, 2005), Australia (Wightwick *et al.*, 2008), Nueva Zelanda (Morgan & Taylor, 2004) y Brasil (Mirlean *et al.*, 2007). Además de las prácticas de manejo de fungicidas, las condiciones climáticas también afectan la acumulación de Cu en los suelos de los viñedos. Algunos estudios indican que los niveles totales de Cu son mayores en suelos de viñedos de áreas húmedas (Brun *et al.*, 1998). Sin embargo, la precipitación moderada y las temperaturas con una alta humedad del aire, son condiciones óptimas para el desarrollo de enfermedades fúngicas en plantas de vid, motivo por el cual, se requiere de un uso reiterativo de fungicidas con base cúprica; promoviendo así la acumulación de este elemento en suelos vitivinícolas (Fernández-Calviño *et al.*, 2009). En este contexto, numerosos trabajos estudian el contenido de Cu del suelo como indicador de contaminación en viñedos (Wightwick *et al.*, 2013; Mackie *et al.*, 2015; Fernández-Calviño *et al.*, 2016).

Los parámetros descritos anteriormente (pH, MOS, N, P, K y Cu), fueron las propiedades físico-químicas seleccionadas para evaluar la calidad de los suelos vitícolas del presente trabajo, ya que cumplen con los requisitos propuestos por Doran & Parkin (1996), que debe presentar todo indicador de calidad de suelo, es decir, que representen variables cuantitativas, sencillas de medir, que permitan evaluar tendencias y comparar tratamientos. Además, la evaluación en conjunto de todos estos parámetros, ofrece una visión global de los efectos de los diferentes manejos agronómicos sobre la calidad físico-química de los suelos de viñedos.

1.1 HIPÓTESIS

La incorporación de restos de material vegetal, en el manejo de labranza orgánica del viñedo, a diferencia de los otros sistemas bajo estudio, favorece el incremento de materia orgánica y nitrógeno en los suelos.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Determinar parámetros físico-químicos: pH, micronutriente (cobre) y macronutrientes (nitrógeno, potasio y fósforo) de los suelos sometidos a tres sistemas de manejo agronómico: labranza convencional, labranza mínima y labranza orgánica del cultivo de *Vitis vinifera* L.

-Determinar el contenido de materia orgánica de los suelos sometidos a los tres sistemas de manejo mencionados.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Análisis físico-químicos**2.1.1 Determinación de pH**

Se prepararon pastas saturadas de cada una de las muestras de suelo (400 g) mediante adición de agua desionizada ($CE_{25} \approx 1 \mu S \text{ cm}^{-1}$) (relación 1:5; suelo: agua), de acuerdo con el método descrito por Rhoades (1996). Se dejó equilibrar la mezcla de agua y suelo durante un periodo de 4 a 5 horas a temperatura ambiente (21 a 27°C) sin adicionar solución de hexametáfosfato de sodio en el extracto de saturación. El extracto de saturación se obtuvo por filtración de la pasta saturada en un embudo Büchner, dotado de papel de filtro de 7-11 μm de poro, con un kitasato debajo conectado a un sistema de vacío de entre 10 y 15 kPa, recogiéndose el extracto filtrado tras un periodo de tiempo que iba de 30 minutos a una hora.

En los extractos de saturación, se les determinó el pH a temperatura ambiente (25 °C). Se midió con pHmetro Adwa AD8000, calibrado con soluciones patrón de 4,00; 7,00 y 10,00 unidades de pH, los cuales enmarcan el intervalo de pH donde se encuentran los valores de pH de las muestras.

2.1.2 Determinación de Materia orgánica del suelo (MOS)

Para determinar el contenido de materia orgánica del suelo, se llevó a cabo el método de digestión húmeda de Walkley y Black (MAPA, 1994), basado en la hidrólisis y oxidación del carbono orgánico por una mezcla oxidante de dicromato de potasio y ácido sulfúrico concentrado, acelerada por el calor de dilución del ácido sulfúrico en agua. Se colocaron 2 g de suelo tamizado seco (tamiz de 0,2 mm) en un Erlenmeyer de 500 mL y se agregaron 10 mL de solución de $K_2Cr_2O_7$, 1 N. Luego se agitó la solución hasta lograr la unificación del suelo y se agregaron 20 mL H_2SO_4 concentrado y se calentó a 150°C durante 1 min. Luego se agregaron 200 mL de H_2O desionizada y se dejó enfriar hasta temperatura ambiente. Posteriormente, se añadieron 10 mL de H_2PO_4 y 1 mL de solución de difenilamina (0,5 g de difenilamina en 100 mL H_2SO_4 concentrado), y se enfrió hasta temperatura ambiente. Por último, se valoró el dicromato en exceso (valoración por retroceso) mediante una solución de sulfato ferroso amónico (sal de Mohr) ($Fe(NH_4)_2(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$) 0,5 N. El punto final se tomó cuando la solución viró de color azul a verde. El cálculo del carbono fácilmente oxidable (% CFO) se realizó a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{CFO (\%)} = (V_0 - V) * N * 0,39 / \text{PM}$$

$$\text{MO (\%)} = (V_0 - V) * N * 0,39 * 1,1 * 1,72 / \text{PM}$$

Donde V_0 y V representan el volumen de sal de Mohr consumido por el blanco y la muestra respectivamente; el valor 0,39 es el peso equivalente del carbono; N es la normalidad sulfato de hierro y PM es el peso de la muestra de suelo.

El carbono fácilmente oxidable se multiplicó por un factor empírico de conversión (1,1) para obtener el porcentaje de carbono total, y éste, por el factor de Van Bemmelen (1,72) para obtener el porcentaje de materia orgánica: $\text{MO} = \text{CO} \times 1,72$ (Yeomans & Bremmer, 1989).

2.1.3 Determinación de Nitrógeno Total (N) del suelo

El nitrógeno total se determinó a partir del método de digestión de Kjeldahl (Bremmer & Mulvaney, 1982).

Se utilizó 1 g de muestra de suelo seco y tamizado (tamiz de 0,2 mm), y se colocó en un balón Kjeldahl de 100 mL. Se completó una serie de 5 muestras y 1 control. Luego se agregó a cada balón 0,5 g de catalizador (175 mg SeCl_2 ; 42 mg CuSO_4 y 307 mg K_2SO_4) y 4 mL de H_2SO_4 concentrado. Posteriormente se calentó a 400°C durante 3-4 horas hasta completar el proceso de digestión. Luego se agregó agua y 15 mL de solución concentrada de NaOH y se destiló por 7 minutos en corriente de vapor. Posteriormente se recogió el producto de la destilación en un Erlenmeyer con 10 mL de H_2SO_4 0,02 N, 1 mL de solución alcohólica, 2 g/L de rojo de metilo y azul de metileno en proporción 3:1. La destilación se detuvo cuando se obtuvo un volumen de 60 mL de producto. Por último, se tituló el producto destilado con NaOH 0,02N. Se consideró como volumen final al volumen de NaOH gastado hasta el momento de cambio de color, de violeta a verde.

2.1.4 Determinación de Potasio Intercambiable (K)

Para la determinación de potasio intercambiable, se empleó el método del acetato de amonio (Novozamsky & Houba, 1987).

El ion potasio intercambiable, se extrajo mediante la solución de acetato de amonio 1 N a pH 7. Se colocaron 2 g de suelo en un Erlenmeyer, se agregó 50 mL de solución de acetato de amonio y se agitó por 20 minutos. Luego se centrifugó y separó la solución mediante filtración. La determinación del potasio en solución, se realizó por fotometría de absorción atómica. Mediante esta técnica, los elementos en solución fueron atomizados en llama de acetileno-aire, lo que permitió que los mismos absorban la radiación emitida por una lámpara específica para este metal. El dato de absorción es proporcional al número de átomos presentes en la solución.

2.1.5 Determinación de Fósforo disponible (P_2O_5)

El fósforo disponible se determinó mediante el método de extracción carbónica, expresado como P_2O_5 en ppm.

Se colocaron 2 g de suelo en un Erlenmeyer, luego se agregaron 100 mL de H_2O en burbujeo constante de CO_2 (relación suelo extractante 1:50) y se agitó la solución durante 30 minutos (Nijensohn & Olmos, 1959). Finalmente, a cada Erlenmeyer, se le agregó 200 mg de carbón activado (para obtener un filtrado más claro) y se filtró con papel Whatman N°42. Luego se colocó 1 mL del extracto en un Erlenmeyer, más 8,5 mL de H_2O y 0,4 mL de solución de $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot H_2O$ 25 g/L de molibdato de amonio en H_2SO_4 (al 27 %). Se agitó y posteriormente se agregó 0,1 mL de solución $SnCl_2 \cdot 2 H_2O$ (1 g de $SnCl_2 \cdot 2 H_2O$ con 2,5 mL de HCl concentrado y 62,5 mL de H_2SO_4 1 N). Luego de 10 minutos se llevó a cabo la lectura del porcentaje de transmitancia (%T) en el fotocolorímetro a 660 nm. Se midió en el espectro de absorción atómica (Heldrich, 1990). Finalmente, se refirieron los resultados de las concentraciones de fósforo de los extractos de suelo sobre la curva de calibración. Los valores se refirieron de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$P \text{ ppm} = VI * Ve * 10 / Vf * Ps$$

Donde VI es el valor de interpolación en la curva de calibración, 10 es el volumen de determinación, Ve es el volumen de la solución extractora (1:50), Vf es la alícuota de la solución extractada del suelo y Ps es el peso del suelo.

2.1.6 Determinación del Cu del suelo

El cobre del suelo se extrajo mediante DTPA, con una relación 1:4. Se determinó por espectrofotometría de absorción atómica (Heldrich, 1990).

Este método se utiliza en análisis foliares, supone una etapa de incineración del tejido seco y molido a una determinada temperatura, y luego disolución de cenizas en ácido sulfúrico. Para el análisis en suelo, se emplean estos principios.

Se pesó 1 g de cada muestra de suelo y se carbonizó a 500 °C, seguidamente se adicionó 1 ml de HCl 37% y 3 ml de HNO₃ y se colocó en una plancha de calentamiento hasta evaporar. Luego se adicionó 10 ml de HCl 37% y se evaporó hasta secarse. Se lavó con agua destilada y se filtró. Luego se llevó al aforo en un balón de 100 ml y se tomó una alícuota de 1 ml y se diluyó a 50 ml con HCl 0,5 N.

Para la preparación de patrones de cobre, se pesó aproximadamente 0,0181 g de Cu en un vaso de precipitado de 100 ml. Seguidamente, se adicionó 20 ml de HNO₃. Se calentó a ebullición durante 10 minutos, luego se filtró y se diluyó a 100 ml con agua destilada. Luego se tomó alícuota de 10 ml, se diluyó a 100 ml con HNO₃ 1%. Se tomaron alícuotas que respecten al cálculo correspondiente para tener concentraciones de 0; 0,5; 1; 2; 3; 4 y 5. Se aforó a 50 ml con HCl 0,5 N y finalmente se llevó a cabo la lectura en el equipo de Absorción Atómica.

III. RESULTADOS

3.1 pH en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

En la Tabla 2 se observa que, dentro de cada uno de los tratamientos con labranza convencional y orgánica, los valores de pH no presentaron diferencias significativas entre los micrositos. Sin embargo, en los suelos del viñedo con labranza mínima, los valores de pH fueron significativamente mayores en las interfilas.

pH	Manejos agrícolas					
	Mín		Conv		Org	
	F	IF	F	IF	F	IF
	7,63 ± 0,19 b	8,13 ± 0,18 a	7,69 ± 0,2 a	7,68 ± 0,14 a	7,69 ± 0,15 a	7,71 ± 0,16 a

Tabla 2. pH de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media ± DS (n=12) para cada microsito: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey p< 0,05).

En la Tabla 3 se observa que los valores de pH no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos.

pH	Manejos agrícolas		
	Mín	Conv	Org
	7,88 ± 0,32 a	7,68 ± 0,17 a	7,70 ± 0,15 a

Tabla 3. pH de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media ± DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey p< 0,05).

3.2 Materia orgánica de suelos (MOS) de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

En la Figura 2 A se observa que, dentro de cada uno de los tratamientos con labranza convencional y orgánica, los valores de MOS no presentaron diferencias significativas entre los micrositos; mientras que en los suelos del viñedo con labranza mínima, el contenido de MOS fue significativamente mayor en las interfilas. Además, los valores de MOS fueron significativamente mayores en los suelos con manejo orgánico del viñedo (Figura 2 B).

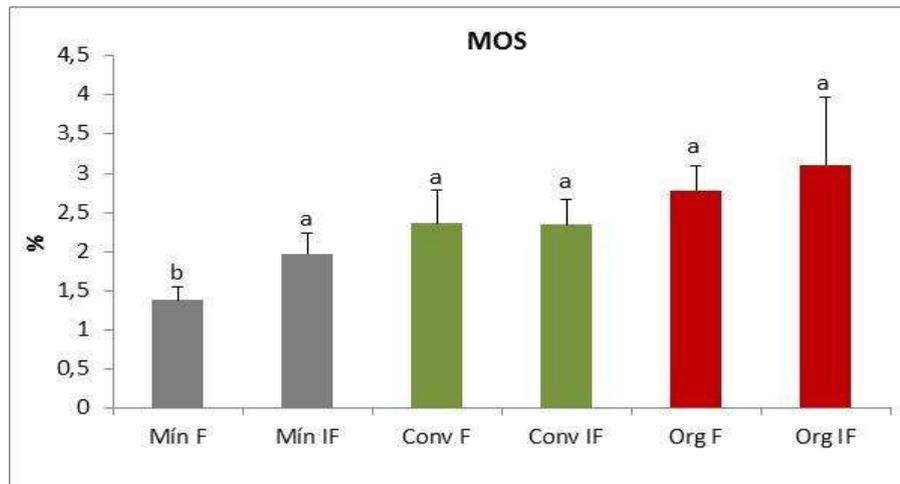


Figura 2 A. Materia orgánica de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

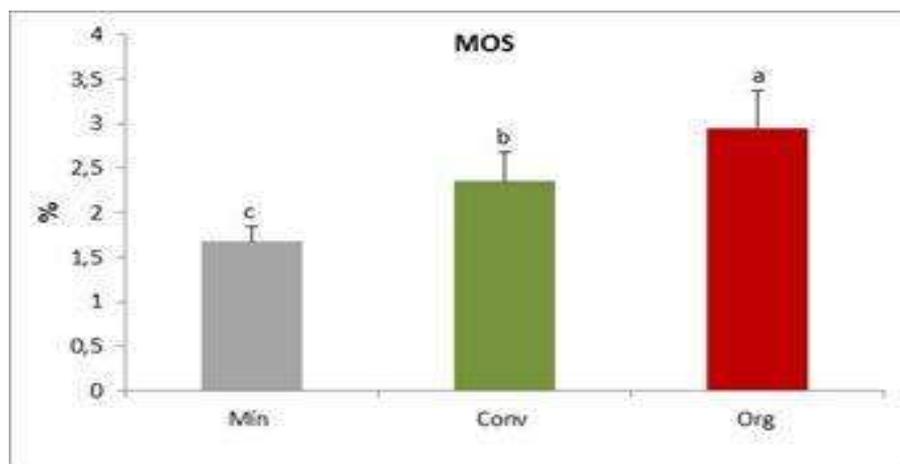


Figura 2 B. Materia orgánica (MOS) de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.3 Macronutrientes (N-P-K) en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

La Figura 3 A muestra que tanto en los suelos con labranza mínima como convencional, el contenido de N fue significativamente mayor en las interfilas; mientras que en el manejo orgánico, no se encontraron diferencias significativas entre los micrositios.

En general, se encontró que los valores de N fueron significativamente mayores en los suelos del viñedo con manejo orgánico (Figura 3 B).

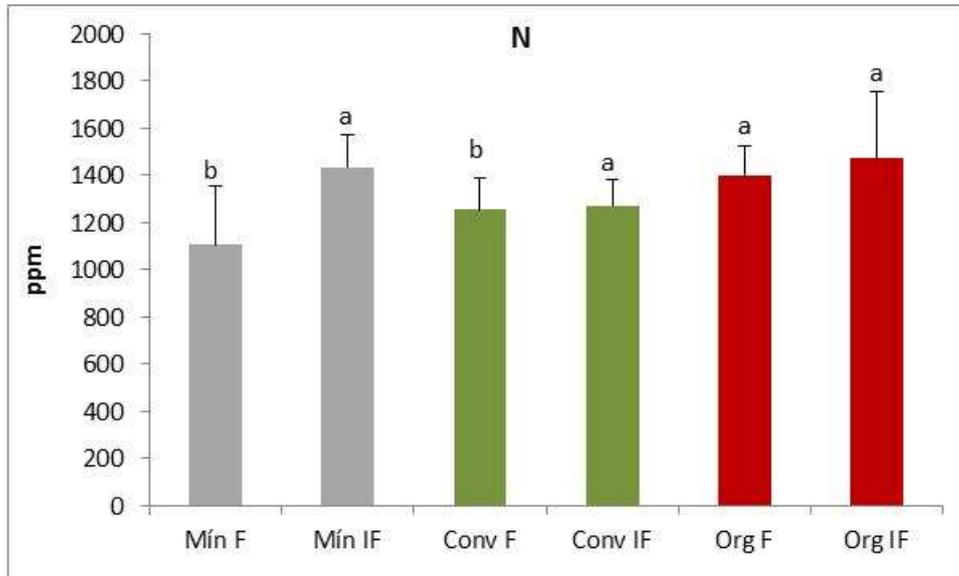


Figura 3 A. Nitrógeno total en suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranzamínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

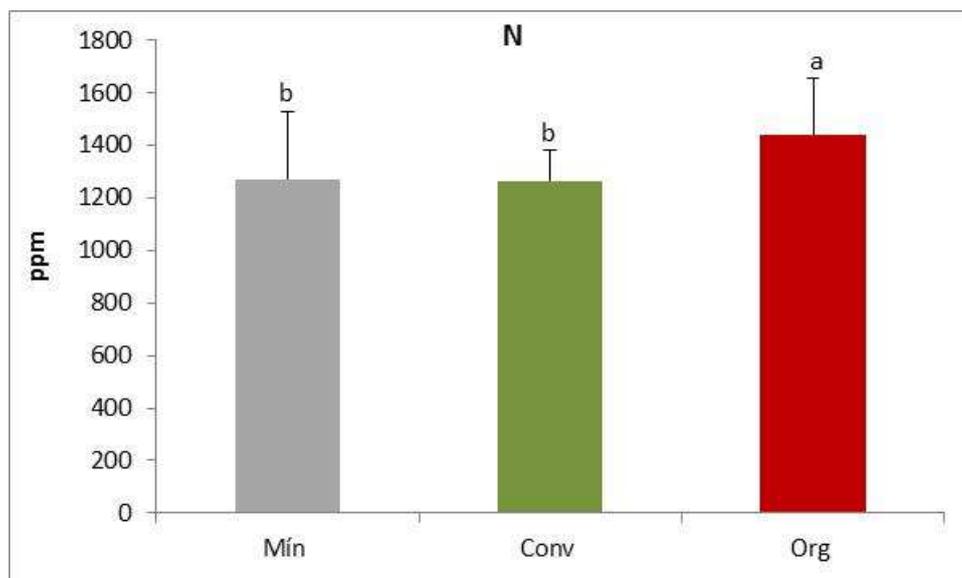


Figura 3 B. Nitrógeno total en suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

La Figura 4 A muestra que dentro de cada uno de los tratamientos con labranza convencional y orgánica, el contenido de P no presentó diferencias significativas entre los micrositios. Mientras que, en las interfilas del manejo con labranza mínima, este macronutriente fue significativamente mayor que en las filas.

Se encontró que los manejos agrícolas con labranza mínima y orgánica presentaron valores de P significativamente mayores que los suelos con sistema convencional del viñedo (Figura 4 B).

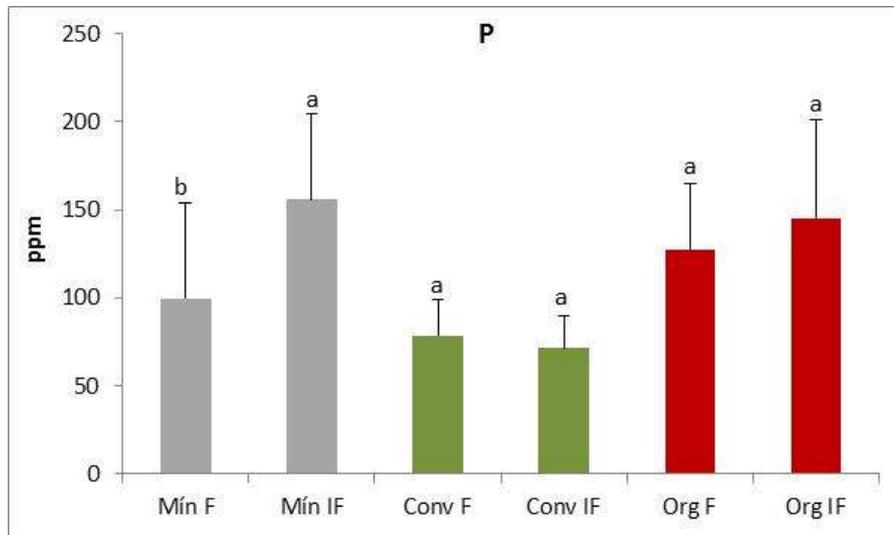


Figura 4 A. Fósforo disponible en suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

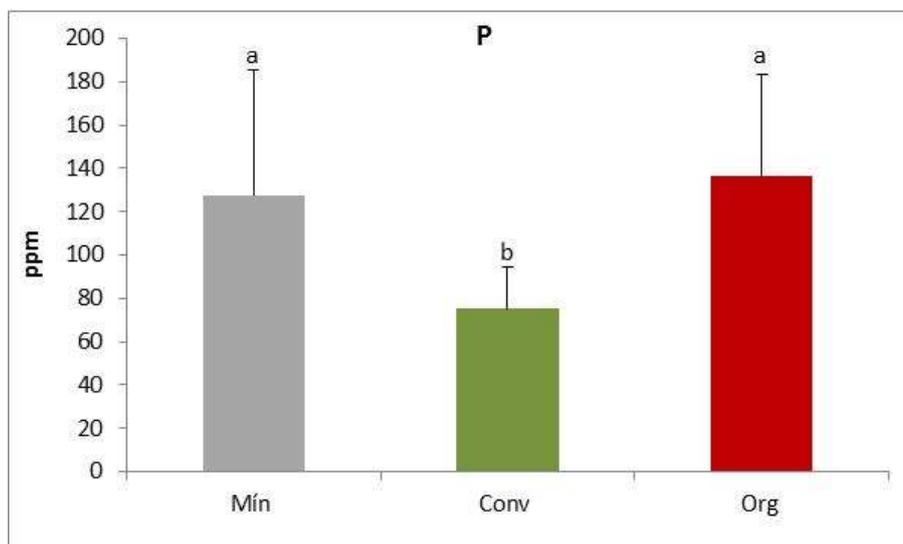


Figura 4 B. Fósforo disponible en suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

La Figura 5 A muestra que dentro del tratamiento con labranza convencional, el contenido de K no presentó diferencias significativas entre los micrositios. En los suelos del viñedo con labranza mínima, el K presentó mayores valores en las

interfilas; mientras que en el manejo orgánico, los resultados fueron opuestos: el contenido de K fue significativamente mayor en las filas del viñedo (Figura 5 B). Además, se encontró que el contenido de K fue significativamente mayor en los suelos del manejo agrícola con labranza mínima (Figura 5 B).

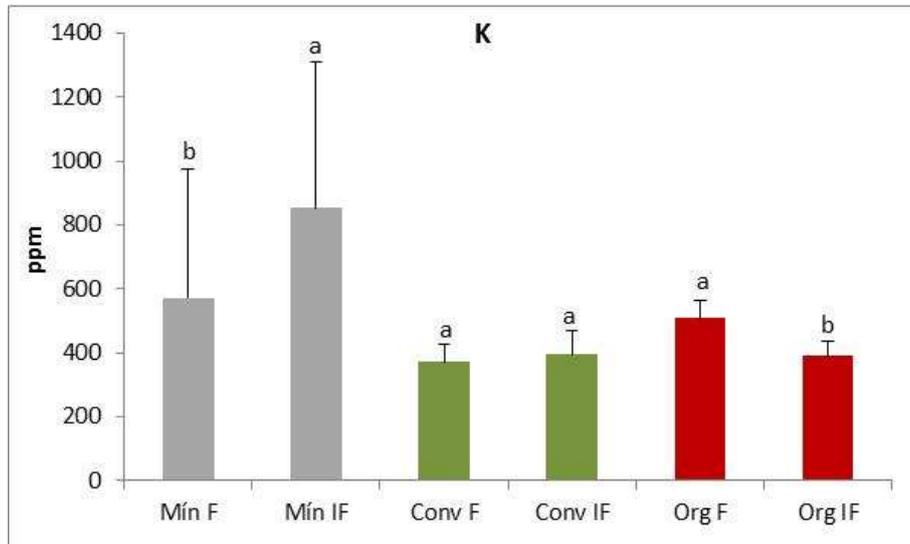


Figura 5 A. Potasio intercambiable en suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos Test de Tukey $p < 0,05$).

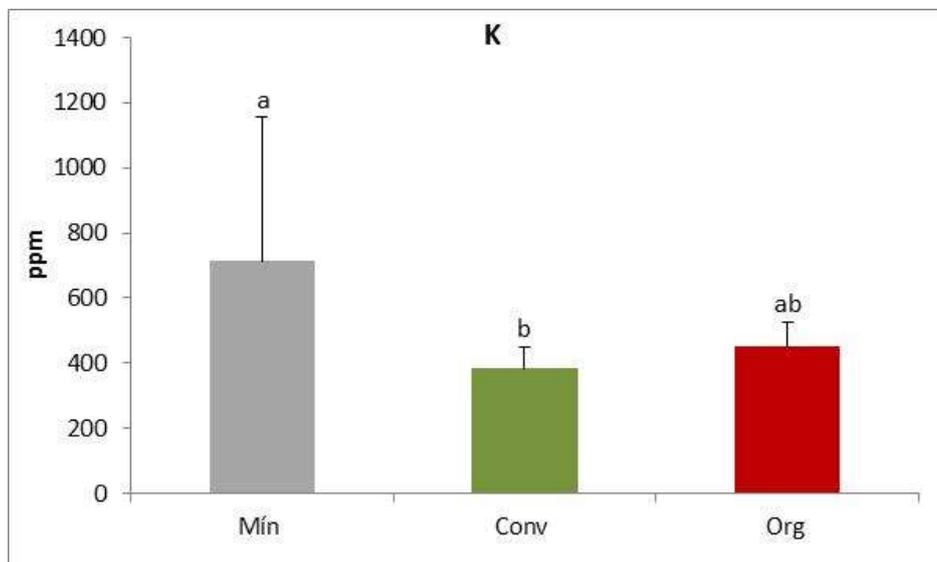


Figura 5 B. Potasio intercambiable en suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.4 Cu en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

La Figura 6 A muestra que dentro de cada uno de los tratamientos con labranza convencional y orgánica, el contenido de Cu no presentó diferencias significativas entre los micrositos. Mientras que, en las interfilas del manejo con labranza mínima, fue significativamente mayor que en las filas.

Se encontró también, que los valores de Cu fueron significativamente mayores en los suelos con labranza mínima (Figura 6 B).

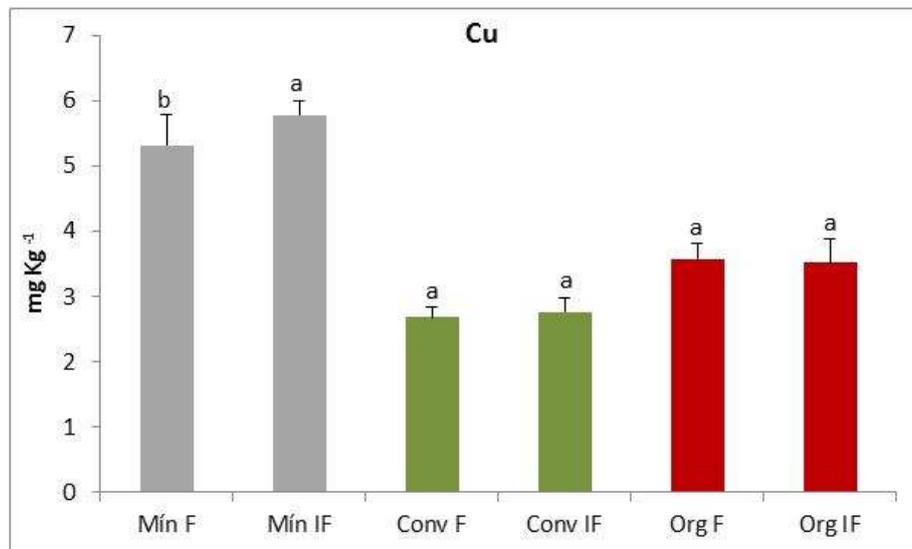


Figura 6 A. Cobre en suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

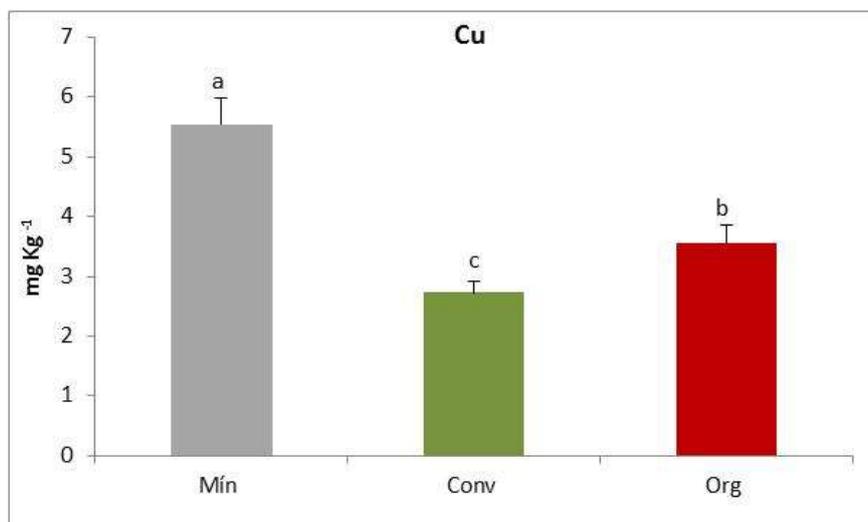


Figura 6 B. Cobre en suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.5 Correlación de todos los parámetros físico-químicos de calidad suelos bajo estudio

La Tabla 4 muestra las correlaciones entre todas las variables físico-químicas bajo estudio. Se observó una correlación positiva entre el pH y los valores de P, K y Cu. La MOS correlacionó positivamente con el N, con el P y con el Cu. El N presentó una correlación positiva con el P, y éste último, con los valores de K y de Cu. Los valores de K correlacionaron positivamente con el Cu.

	pH	MOS (%)	N (ppm)	P (ppm)	K (ppm)	Cu (mg Kg ⁻¹)
pH	1	0,37	0,09	***	***	**
MOS (%)	-0,22	1	***	*	0,56	***
N (ppm)	0,16	0,56	1	**	0,15	0,50
P (ppm)	0,56	0,14	0,42	1	*	*
K (ppm)	0,42	-0,21	0,15	0,42	1	***
Cu (mg Kg ⁻¹)	0,38	-0,44	0,09	0,45	0,63	1

Tabla 4. Correlación entre los parámetros físico-químicos de calidad de suelos de viñedos con labranza mínima, convencional y orgánica. Por encima de la diagonal se representan los valores de p, y por debajo, los valores del coeficiente de correlación de Pearson. Significancia (*: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001).

3.6 Análisis Multivariado

Con el fin de determinar la relación existente entre las variables físico-químicas, y además, visualizar de qué manera los parámetros bajo estudio se asociaron a los distintos micrositos y tratamientos, se llevó a cabo un Análisis de Componentes Principales (ACP).

En la Tabla 5 se pueden observar los autovalores asociados a cada autovector (existen tantos autovectores como componentes principales se hayan seleccionado para el análisis). Los resultados señalan que las dos primeras componentes permiten explicar el 93% de la variación total.

Autovalores			
Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	3,36	0,56	0,56
2	2,25	0,37	0,93
3	0,35	0,06	0,99
4	0,03	0,01	1
5	0,01	0,00021	1
6	0	0	1

Tabla 5. Autovalores que representan la proporción de variabilidad total explicada por cada componente y la proporción de la variabilidad total explicada, en forma acumulada.

En la Tabla 6 se observan los autovectores (e1 y e2) reportados por el programa estadístico. Se muestran los coeficientes con que cada variable original fue ponderada para conformar las CP 1 y CP 2.

Variables	Autovectores	
	e1	e2
pH	0,51	-0,06
MOS	-0,02	0,67
N	0,32	0,53
P	0,47	0,26
K	0,51	-0,18
Cu	0,39	-0,41

Tabla 6. Autovectores resultantes del análisis de Componentes Principales.

Al construir la CP 1 (eje X), se encontró que las variables pH y K recibieron los pesos positivos más altos; mientras que la MOS, fue el único parámetro que presentó peso negativo. Las variables N, P y Cu también presentaron pesos con coeficientes positivos, aunque inferiores al pH y al K (Tabla 6). Este eje (CP 1), explica el 56 % de la variabilidad (Tabla 5).

La construcción de la CP 2 (eje Y), permitió visualizar que los parámetros MOS y N recibieron los pesos positivos más altos; mientras que el Cu presentó el peso negativo más alto. El K y el pH también presentaron peso con coeficiente negativo, aunque inferior al Cu (Tabla 6). Esta componente (CP 2), explica el 37 % de la variabilidad (Tabla 5).

La Figura 6 muestra que los valores de pH, K y Cu se asociaron a los suelos de las interfilas del viñedo con labranza mínima. El contenido de P presentó una asociación intermedia entre dicho micrositio y los suelos del viñedo orgánico.

A demás, se encontró que la MOS y el N se asociaron en mayor medida a los suelos de las interfilas del manejo con labranza orgánica, y en menor medida, a las filas del mismo.

Por otra parte, se encontró que las filas del sistema con labranza mínima y los dos micrositios con labranza convencional, no presentaron variables asociadas. Se encontró también, una proximidad de ambos micrositios del tratamiento con labranza convencional. En general, el gráfico muestra que los indicadores físico-químicos tienen mayor peso en las interfilas del viñedo con labranza mínima y en los dos micrositios del tratamiento orgánico.

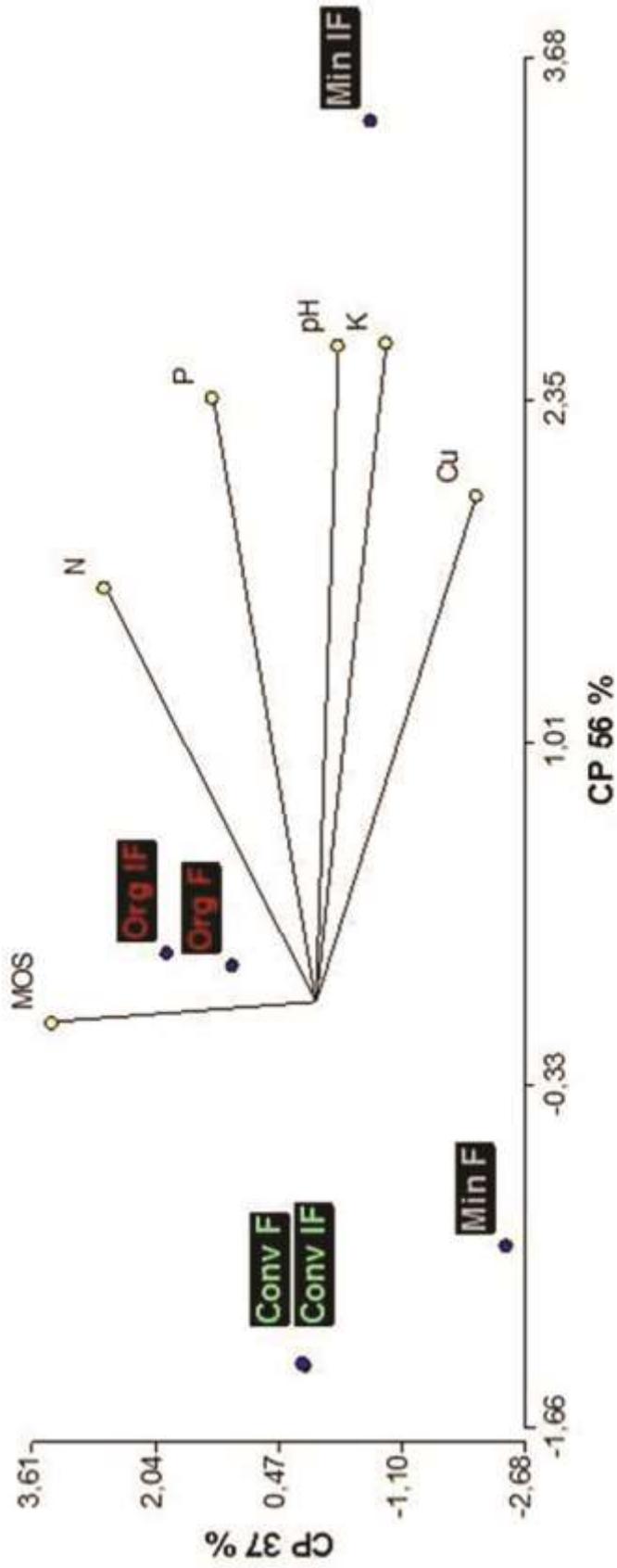


Figura 7. Análisis de componentes principales (ACP). Se representan indicadores físico-químicos de suelos de *Vitis vinifera* L. de filas (F) e interfilas (IF) correspondientes a los tres tratamientos: labranza mínima (Min), convencional (Conv) y orgánica (Org).

IV. DISCUSIÓN

Los valores de pH medidos en las muestras tomadas en los suelos bajo distintos manejos, no presentaron diferencias significativas, oscilaron entre 7,68 y 7,88 (Tabla 3). Los restos de poda aplicados en el manejo orgánico del cultivo, no generaron los cambios de pH que ocasionan otro tipo de enmiendas, como el estiércol de animales o los residuos de agroindustrias (Di Serio *et al.*, 2008; Mekki *et al.*, 2009). En relación con esto, Nuñez *et al.* (2007), determinaron que suelos con pH básico, de texturas finas y calcáreos (características similares a los suelos del presente estudio), presentan una gran capacidad *buffer* que permite que se pueda restituir los valores de pH que oscilan al incorporar una enmienda. Si bien se considera que el pH óptimo para el desarrollo del cultivo debe estar comprendido dentro de los límites de la neutralidad (6 – 7) para que la planta pueda absorber la mayor cantidad de nutrientes, la vid tolera suelos más alcalinos (Espíndola & Pugliese, 2015).

Como se mencionó anteriormente, los valores de pH se situaron entre 7,68 y 7,88 (Tabla 3). Estos resultados concuerdan con valores de pH de suelos de viñedos de Mendoza, donde se concluyó que, por la naturaleza pedogenética, en general, los suelos del árido, normalmente presentan pH cercanos o mayores a la neutralidad (Martínez, 2011). En el sistema de manejo con labranza mínima del cultivo, las interfilas presentaron mayores valores de pH que las filas (Tabla 2). Estos resultados también se reflejaron en el ACP (Figura 7), donde claramente se observa una asociación entre el pH y la interfila del manejo con labranza mínima. Por otra parte, los suelos de los micrositios correspondientes a los manejos convencional y orgánico no presentaron diferencias significativas en dicha variable (Tabla 2). En relación a la diferenciación entre micrositios, en un estudio realizado en suelos de filas e interfilas de viñedos orgánicos de Alemania, también se encontró, al igual que en los suelos de los viñedos orgánico y convencional del presente estudio, que no había diferencias significativas entre ellas, los valores oscilaron entre neutros y ligeramente alcalinos (Mackie *et al.*, 2013).

En la Tabla 4 se observa una correlación altamente positiva entre el pH y el P. En relación a esto, existen antecedentes que dan cuenta que el pH del suelo afecta la disponibilidad de nutrientes. Cada nutriente se comporta de manera distinta en el suelo, y el pH regula la disponibilidad de los mismos para el cultivo (Ortiz, 1979). En suelos alcalinos, cuando el pH supera el valor de 7,5; el P está menos disponible

para la planta (Elías, 2017). Por ello, los valores de P en suelo son mayores en los tratamientos con pH más alcalino (labranza mínima y orgánica) (Figura 4 B). De igual modo que el P, el Cu se encuentra menos disponible para la planta, y por ende, más concentrado en suelo, a mayores niveles de pH (Elías, 2017). Este hecho se vio reflejado en las interfilas de los suelos con laboreo mínimo donde se registraron los valores más altos de pH (Tabla 2), y también se encontraron mayores niveles de Cu (Figura 6 A). El ACP también muestra una asociación de ambas variables (pH y Cu) con las interfilas del manejo con labranza mínima (Figura 7). En relación a esto, Harter (1983) estudió el efecto del pH sobre la absorción de metales pesados (Pb, Ni, Zn y Cu) en el suelo; y encontró que la cantidad de los cuatro metales retenidos dependía del pH de la muestra de suelo, con una retención que aumentaba drásticamente por encima del pH 7,5. En el caso particular de este estudio, el pH explicaría el comportamiento del Cu en el suelo. Los resultados muestran que la aplicación de hidróxido de Cu en los tratamientos con labranza mínima y convencional, para combatir la peronóspora, no presentan un efecto similar en cuanto al comportamiento de Cu en suelo; ya que en el manejo tradicional, pese a la aplicación de dicho fitosanitario, los suelos presentaron los valores más bajos de este micronutriente (Figura 6 B).

En la Figura 1 B se observa que los valores de MOS fueron significativamente mayores en los suelos con manejo orgánico del cultivo. Estos resultados, ponen en evidencia los efectos generados por el aporte de los restos vegetales a los suelos. Existen antecedentes donde los resultados indican que este tipo de práctica vitícola, que supone la adición de materia orgánica a partir del material vegetal, promueve la actividad biológica del suelo, restituye su fertilidad y mejora su estructura y calidad (Hidalgo, 2002). A nivel de micrositio, sólo se registraron diferencias significativas entre las filas y las interfilas del manejo con labranza mínima (Figura 2 A). En este sentido, únicamente existe un estudio realizado en Santa Cruz (Chile), donde se evaluaron diferencias en el contenido de MOS en las filas e interfilas de un viñedo, respecto del monte nativo. Se encontraron, a diferencia de este estudio, mayores valores de materia orgánica en las filas del cultivo. Determinaron que la razón de ello, estaría asociada con el aporte de enmienda orgánica a las filas del cultivo (Farías *et al.*, 2012). A diferencia del trabajo mencionado anteriormente, en el presente estudio, si bien, los restos de poda se aplican en las interfilas del viñedo

orgánico, no se observaron diferencias a nivel de micrositio (Figura 2 A). Sin embargo, el ACP mostró una mayor asociación entre la MOS y las interfilas del viñedo orgánico, respecto de las filas del mismo (Figura 7).

De los tres macronutrientes bajo estudio, dos de ellos (N y P), presentaron un comportamiento similar: a nivel de micrositio se registraron mayores valores en las interfilas, respecto de las filas del manejo con labranza mínima (Figuras 3 A y 4 A). Este hecho podría deberse a que la vid incorpora estos nutrientes, lo que se traduciría en una disminución de los mismos en el micrositio asociado a la planta; o bien, podría estar vinculado al efecto de la labranza mínima. En diversos estudios realizados en suelos vitícolas del Mediterráneo (con características similares a las del presente estudio) se ha determinado que la labranza reducida disminuye los problemas de erosión que enfrentan los viñedos, evitando la pérdida de nutrientes de los suelos, y por ende, su fertilidad (Martínez-Casasnovas *et al.*, 2009; Costantini *et al.*, 2015; Lieskovský & Kenderessy, 2014; Vaudour *et al.*, 2015; García-Díaz *et al.*, 2016). En relación con esto, existen antecedentes que ponen de manifiesto que la adopción de “medidas agroambientales” en suelos de viñedos (García-Díaz *et al.*, 2016), como la reducción de la labranza y el empleo de enmiendas o cultivos de cobertura, aumentan los niveles de materia orgánica. El ACP mostró una asociación entre N, P y la MOS con los suelos del viñedo orgánico (Figura 7). En este sentido, la importancia de la materia orgánica en las propiedades químicas del suelo, radica en el aporte directo de nutrientes esenciales como N y P presentes en la misma, además de aportar coloides que aumentan substancialmente la capacidad de intercambio catiónico del suelo. Cabe mencionar que prácticamente la totalidad del N aportado por el suelo al cultivo proviene de la descomposición de la materia orgánica por lo que, en general, a mayor contenido de materia orgánica lábil en el suelo, hay mayor disponibilidad de N (Acevedo & Silva, 2003). Estas conclusiones coinciden con los resultados reportados en el presente trabajo, donde se encontró que en general, los contenidos de N y P fueron significativamente mayores en los suelos del tratamiento orgánico del viñedo (Figuras 3 B y 4 B).

La Tabla 4 muestra que los valores del P correlacionaron positivamente con los del N. En este sentido, existen antecedentes que ponen en evidencia que la disponibilidad del P se ve estimulada por la mineralización del N, encontrándose una

mayor concentración de este elemento donde existe una mayor abundancia de N (Zúñiga *et al.*, 1995; Acevedo & Silva, 2003).

Los resultados permiten inferir que el P fue significativamente mayor en los suelos con labranza mínima y orgánica del viñedo (Figura 4 B), y, además, en el ACP puede observarse una asociación de dicho macronutriente con el tratamiento orgánico en general, y con las interfilas del sistema con labranza mínima (Figura 7). En relación a esto, existen antecedentes que muestran que el P lábil del suelo puede encontrarse adsorbido por las arcillas formando una unión de ligando con el aluminio estructural de éstas, compartiendo un oxígeno (Acevedo & Silva, 2003). Este hecho podría explicar los valores mayores de este macronutriente en los suelos del viñedo con laboreo reducido, donde el contenido de arcillas, es superior al de los otros tratamientos bajo estudio (Tabla 1, Cap. II). Además, otra posible causa que podría explicar la mayor concentración de este macronutriente en la interfila del viñedo con labranza mínima, podría ser el valor del pH, que fue significativamente mayor en éste micrositio (Tabla 2). En este sentido, los antecedentes ponen en evidencia que el pH del suelo determina la forma iónica en que se encuentra el P, y su consecuente aprovechamiento. En soluciones muy ácidas predomina el PO_4H_2^- , mientras que en soluciones muy alcalinas (como las registradas en las interfilas del manejo con laboreo reducido) predomina el anión PO_4^- . Este último, a diferencia del anterior, es menos aprovechable para la planta, lo que se traduce en una mayor disponibilidad del mismo en el suelo (Acevedo & Silva, 2003).

El N es un limitante en viñedos de ambientes áridos donde la materia orgánica es escasa, por ello, en los suelos de los sistemas de manejo con labranza mínima y convencional, se aplica fertilizante nitrogenado (Tabla 1, Cap. II). Se destaca en los resultados obtenidos en el presente estudio, que, pese a que dichos tratamientos reciben el aporte de éste agroquímico, presentaron valores menores de N, respecto del tratamiento orgánico (quien no recibe fertilización química). Si bien, el empleo del arado de disco en el sistema de labranza tradicional permite que el suelo se mezcle produciendo una distribución homogénea de los nutrientes en la capa arable, también se producen pérdidas de suelo, y con ello, de elementos nutritivos, principalmente, por erosión. El suelo se compacta por el tráfico de la maquinaria y se mineraliza la materia orgánica con rapidez, afectando negativamente las propiedades físicas y

químicas del suelo, y perdiéndose una importante cantidad de C a la atmósfera (Acevedo & Silva, 2003).

En el caso de los suelos con manejo orgánico, los resultados indicarían que los efectos de la labranza tradicional llevada a cabo en dicho tratamiento, estarían siendo contrarrestados con la incorporación de restos de poda, la cual constituye una fuente de abono ecológico que permite aprovechar el N y P extraídos por el viñedo para la formación del material vegetal que vuelven al suelo (Mackie *et al.*, 2013). En relación a esto, Ovalle *et al.* (2013), evaluaron también el efecto de otro tipo de abono del viñedo y encontraron resultados similares a los del presente trabajo. Ellos evaluaron el efecto de cubiertas vegetales (leguminosas) en suelos de viñedos en una zona de secano de Chile. Encontraron que los valores de N y P fueron mayores en los suelos con el tratamiento de cubierta vegetal, respecto de los suelos donde crecía vegetación espontánea (laboreo mínimo). Ellos argumentaron que la incorporación de N por fijación biológica de las leguminosas y su posterior mineralización en el suelo, permitió incrementar el contenido de N disponible en éste. Por el mismo efecto, y debido a la fertilización de establecimiento que recibió el suelo bajo cubiertas vegetales, también se encontró un mayor tenor de K en el suelo (este resultado no concuerda con el presente estudio, donde los niveles mayores de K, no se encontraron en los suelos con manejo orgánico del viñedo). Así como se registran incrementos en el contenido de MOS y macronutrientes por el efecto del empleo de cubiertas vegetales, la bibliografía también reporta que la incorporación de sarmientos en los suelos vitícolas, puede llegar a compensar un 40 % de la pérdida anual de materia orgánica, aportando un valor fertilizante medio por hectárea de: 7 kg de N, 2 Kg de P₂O₅, 9 Kg de CaO y 2 Kg de MgO (Pino Torres, 2013).

En relación al efecto de la aplicación de enmiendas, en un trabajo realizado en suelos de viñedos con manejo orgánico (aplicación de compost y vermicompost) en una zona árida de Mendoza, se encontró también que, el P disponible y K intercambiable incrementaron 237% y 28% en suelos abonados respecto de los suelos que no recibieron el aporte del compost (Martínez, 2011). En este sentido, Márquez-García *et al.* (2014), reportaron antecedentes del efecto de la incorporación de restos de poda de un cultivo perenne y leñoso, propio del árido, semejante a la

vid (*Olea europaea* L.). Informaron que la incorporación de restos de poda de olivo a suelos asociados a este cultivo en zonas áridas de España, posibilitaron un incremento del 38 % en el contenido de MOS y un 41 % en el contenido de N, respecto del testigo. Concluyeron que este tipo de prácticas permiten reemplazar el uso de agroquímicos por la incorporación de nutrientes de origen natural, favoreciendo de esta manera, la calidad físico-química de los suelos.

A nivel de micrositio, K y Cu se comportaron de modo similar al N y al P, es decir que, registraron los mayores valores en las interfilas del manejo con labranza mínima (Figuras 5 A y 6 A). En general, estos dos nutrientes fueron significativamente más abundantes en los suelos del viñedo con labranza mínima (Figuras 5 B y 6 B). El ACP, también refleja una estrecha asociación entre K y Cu con el micrositio correspondiente a las interfilas del manejo con laboreo reducido (Figura 7).

Los mayores niveles de K^+ (potasio intercambiable) presentes en el viñedo con manejo de labranza mínima (Figura 5 B), podrían estar asociados a la clase textural del suelo. El sistema de laboreo mínimo, presenta mayor contenido de arcilla, respecto de los suelos de viñedos con manejo convencional y orgánico (Tabla 1, Cap. II). Las arcillas presentan una propiedad característica, y es que están cargadas mayormente por cargas eléctricas negativas, lo que facilita la adsorción, es decir, la retención eventual de cationes del suelo (Jaramillo, 2002). Este hecho explicaría lo mayores valores de K^+ en el sistema de labranza mínima del viñedo.

Los resultados muestran que, en general, los valores de los tres macronutrientes bajo estudio (N, P y K), fueron significativamente menores en los suelos con manejo convencional del viñedo (Figuras 3 B, 4 B y 5 B). Estos resultados coinciden con un estudio realizado en sistemas áridos de Nayarit, México; donde se estudiaron 8 sitios con diferentes tipos de cultivos (con manejo tradicional) en comparación con áreas naturales. Los suelos cultivados mostraron una menor concentración de materia orgánica, P extractable, K, Ca y Mg intercambiable en el estrato 0 a 10 cm. Determinaron que la frecuencia del laboreo del suelo favorece la ventilación y exposición de la materia orgánica al ataque de los microorganismos implicando además un descenso en el contenido nutrimental y pérdida de la estructura del suelo (Alejo-Santiago *et al.*, 2012).

Los resultados del análisis de correlación de las variables físico-químicas de los suelos bajo los tres tratamientos, mostraron que el contenido de MOS correlacionó positivamente con el N (Tabla 4). Estos resultados son comparables con los encontrados en un trabajo de La Rioja, España; donde se estudiaron propiedades físico-químicas en suelos de viñedos bajo dos tipos de manejo: uso de cubiertas vegetales permanentes y aplicación de SPCH (sustrato de post cultivo de champiñón agotado, un residuo rico en materia orgánica); en comparación con una porción del área donde se llevó a cabo manejo convencional. Se determinó que los suelos con manejo orgánico, presentaron mayor contenido de materia orgánica total y de fracciones lábiles como el C soluble y N potencialmente mineralizable, respecto de los suelos con tratamiento convencional (Ramos *et al.*, 2010).

Los resultados muestran que la MOS correlacionó con N y P (Tabla 4). Por otra parte, el ACP, agrupó al N, al P y a la MOS, y no así, al contenido de Cu y de K (Figura 7). Estos resultados se contraponen con los encontrados en un estudio de suelos de viñedos de ambientes áridos de España, donde el ACP agrupó las variables: MOS, Cu y K. Ellos argumentaron que la MOS ejerce una influencia notable sobre la disponibilidad de la mayoría de los nutrientes minerales (Quiroga Martínez, 2014). En relación a lo mencionado anteriormente, la MOS presenta una característica que permite mejorar la calidad química del suelo: es insoluble en agua, propiedad que impide el lavado de los suelos y la pérdida de los nutrientes (Abril *et al.*, 2014).

En general, el ACP (Figura 7) permite visualizar una clara separación entre los tres tratamientos bajo estudio, lo que indicaría que las técnicas de manejo llevadas a cabo en cada sistema vitícola, afectan de manera diferente a los parámetros físico-químicos estudiados. Los suelos del viñedo con laboreo reducido, se asociaron al pH, al K, al Cu y al P. Esta última variable fue el único parámetro que tuvieron en común dicho sistema de manejo y los suelos con labranza orgánica. Estos suelos que reciben el aporte de los restos de poda se asociaron también a la MOS y al N. Por otra parte, los suelos del viñedo con labranza convencional se separaron completamente de los otros tratamientos, y no presentaron asociación con ninguna de las variables físico-químicas evaluadas.

CAPÍTULO IV:

“Indicadores bioquímicos y microbiológicos de calidad de Suelos de viñedos bajo diferentes manejos agrícolas”

I. INTRODUCCIÓN

Los indicadores microbiológicos del suelo son aquellos relacionados directa o indirectamente con la estructura y función de los microorganismos (Nielsen *et al.*, 2002; Ochoa *et al.*, 2007). Estos parámetros tienen relación con la diversidad (taxonómica y funcional), la actividad (respiración y enzimas) y las características biomoleculares (ATP, ácidos nucleicos, ácidos grasos) de los microorganismos del suelo (Pedraza *et al.*, 2010; Martínez & Ortega Blu, 2015; Salomé *et al.*, 2016).

Dado que los microorganismos participan en el ciclado de nutrientes, se estudian indicadores tales como: respiración del suelo (Stenstrom *et al.*, 1998), cociente metabólico (qCO_2) (Trasar-Cepeda *et al.*, 2008), descomposición de la materia orgánica (Gallardo & Merino, 1993), actividades enzimáticas (hidrolasas, deshidrogenasas, β -Glucosidasas) (Mangalassery *et al.*, 2015; Yang *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2016), organismos metanotróficos (Bourne *et al.*, 2000), todos éstos, asociados al ciclo del carbono. Por otra parte, indicadores tales como la mineralización del nitrógeno (Kandeler *et al.*, 1999; Weils *et al.*, 2016), nitrificación (Visser *et al.*, 1992; Weils *et al.*, 2016), desnitrificación (García-Ruiz *et al.*, 1998; Li *et al.*, 2016), fijación del nitrógeno por *Rhizobium* o por Cyanobacteria (Brookes, 1995; Goh *et al.*, 2016), se emplean para el estudio del ciclo del nitrógeno. La biomasa microbiana edáfica se estudia a través de métodos indirectos (análisis de fosfolípidos de membrana) (Bloem *et al.*, 2003; Balsinde, 2016) y directos (carbono de la biomasa microbiana) (Carter *et al.*, 1999; Câmara Ferreira *et al.*, 2016).

El carbono de la biomasa microbiana (CBM) (Anderson & Domsch, 1990; Paz-Ferreiro *et al.*, 2016) se ha propuesto como el índice más sensible a los cambios del suelo que el C orgánico total, ya que la biomasa microbiana de un suelo responde más rápidamente a los cambios que la materia orgánica (Powlson & Jenkinson, 1981). Esto significa que si un suelo se encuentra en un proceso de degradación, este deterioro, podría ser detectado principalmente por cambios microbianos, mientras que los cambios en la materia orgánica no se detectarían a una etapa temprana de degradación (Bastida *et al.*, 2008). Permite estimar a corto plazo la tendencia de variación que mostrará la materia orgánica a largo plazo (Albiach *et al.*, 2006). Además, el CBM está relacionado con diversos procesos del suelo, incluyendo la descomposición de residuos orgánicos, el ciclaje de nutrientes, la solubilización de fosfatos, la degradación de compuestos xenobióticos y

contaminantes, la estructuración del suelo, el control biológico y supresión de patógenos de plantas. Por esa razón, se ha señalado como un indicador importante de la calidad del suelo y la productividad de las plantas (Nogueira *et al.*, 2006; Bustamante *et al.*, 2006).

El estudio del CBM en suelos de viñedos, se ha empleado en distintos trabajos con diferentes fines. Por ejemplo, se ha evaluado como indicador de la calidad del suelo vitícola luego de su abandono debido a la contaminación por cobre (Cavani *et al.*, 2016). Se lo ha utilizado, también, como parámetro para determinar la degradación biológica del suelo debido al laboreo tradicional del cultivo de *Vitis vinifera* L. (Virto *et al.*, 2014). Además, se lo estudia con el fin de evaluar el efecto de prácticas de manejo del viñedo que emplean cultivos de cobertura de leguminosas y subproductos industriales ricos en nutrientes (Messiga *et al.*, 2015). En varios trabajos, se mide con el fin de determinar junto a otros parámetros biológicos como las actividades enzimáticas, el carbono orgánico total y el coeficiente metabólico (tasa de CO₂ por unidad de biomasa y tiempo) el impacto de diferentes prácticas de manejo agrícola orgánico y convencional de suelos de viñedos (Probst *et al.*, 2008; Okur *et al.*, 2009; Okur *et al.*, 2016).

Otro indicador fiable de la calidad del suelo que se utiliza ampliamente, son las actividades enzimáticas (Dick *et al.*, 1996; Peregrina *et al.*, 2012; Virto *et al.*, 2012; Burns *et al.*, 2013; Wightwick *et al.*, 2013; Cavani *et al.*, 2016; García-Orenes *et al.*, 2016). Existe un gran interés en el uso de enzimas extracelulares como indicadores biológicos de la calidad del suelo, ya que están estrechamente relacionados con sus propiedades importantes, tales como contenido de materia orgánica, propiedades físicas, así como actividad microbiana o biomasa. Por lo tanto, las enzimas del suelo tienen una importancia ecológica, son sensibles al estrés ambiental y responden rápidamente a los cambios en el manejo de la tierra (Dick, 1997). Son consideradas, además, como indicadoras del balance de la actividad metabólica de los microorganismos edáficos (García & Hernández, 2000).

La biomasa microbiana es la fuente principal de la producción de enzimas, y aun siendo baja la concentración de éstas en el suelo, tienen un rol fundamental en el

mantenimiento y dinámica de los nutrientes a través del ciclado de la materia orgánica (Bolinder *et al.*, 1999).

Muchos microorganismos del suelo producen enzimas exocelulares que forman parte de la matriz del suelo (Aon & Colaneri, 2001; Tripathi *et al.*, 2007). Estas actividades son reguladas de manera indirecta, a través de un aumento en la producción y secreción por parte de los microorganismos (Aon *et al.*, 2001), o bien, directamente a través de condiciones físico-químicas, ya que pueden ser estabilizadas por medio de la unión de las enzimas a los coloides del suelo (Sinsabaugh, 1994). Ciertas enzimas se encuentran inmovilizadas en el suelo, es decir, unidas a coloides minerales (arcillas) u orgánicos (sustancias húmicas) y son muy resistentes a procesos de desnaturalización (Nannipieri, 1994).

Las enzimas hidrolasas, como por ejemplo, las amilasas, β -glucosidasas, celulasas y xilanasas, están directamente relacionadas con el ciclo del carbono, por lo que su actividad en suelos es fundamental para poder llevar a cabo el proceso de degradación de fuentes carbonadas (celulosas y hemicelulosas) (Henríquez *et al.*, 2014; Cadenas, 2016).

La actividad de la enzima β -glucosidasa, es un indicador general de metabolismo microbiano, asociado a mineralización de materia orgánica celulósica (Martínez & Blu, 2015). Por otra parte, las enzimas fosfatasas ácidas y alcalinas, son responsables de la hidrólisis de diversos ésteres y anhídridos del ácido fosfórico relacionados con el ciclo del fósforo, e indican la disponibilidad potencial de P a partir de formas orgánicas a través de actividad microbiana (Trasar-Cepeda *et al.*, 2008). En los agroecosistemas, este ciclo se ve influenciado por las prácticas de fertilización, debido a la incorporación de fosfatos de origen mineral (Porta, 2014). Las enzimas sulfatasas permiten a las plantas, bacterias y hongos del suelo no sólo satisfacer su necesidad de sulfatos, sino también degradar compuestos xenobióticos (Kertesz *et al.*, 1994, Alef & Nannipieri, 1995). Muchos microorganismos rizosféricos pueden producir sulfatasas exocelulares responsables de la mineralización bioquímica del sulfato orgánico presente en la solución del suelo (Tabatabai & Bremner, 1970) cooperando de manera simultánea a la nutrición vegetal y microbiana. Otro grupo enzimático presente en los suelos son las ureasas,

empleadas para indicar la disponibilidad potencial de nitrógeno a partir de formas orgánicas como la urea a través de actividad microbiana (Contreras *et al.*, 2011).

Por otra parte, una de las actividades más estudiadas, es la de la enzima deshidrogenasa, que sirve como indicador general de la actividad microbiana y que está relacionado con la oxidación de compuestos orgánicos y el transporte de electrones para la generación de energía de la célula microbiana (Bastida *et al.*, 2008).

En suelos de viñedos, existen numerosos trabajos donde se estudian las actividades enzimáticas como parámetros de calidad edáfica. Por ejemplo, se monitorea la actividad de las enzimas deshidrogenasas, β -Glucosidasas, ureasas y fosfatasas como indicadoras de la contaminación por cobre (Fernández-Calviño *et al.*, 2010); como así también, para evaluar si existe correlación entre la distribución espacial de la actividad microbiana y la distribución espacial de cobre en suelos cultivados con vid (Mackie *et al.*, 2013; Mackie *et al.*, 2014). Se utilizan también como indicadores sensibles y tempranos del grado de degradación o recuperación de suelos (Ferrerías *et al.*, 2009) y para evaluar el manejo sostenible de la tierra en los agroecosistemas vitícolas (Okur *et al.*, 2016). Además, también se monitorean actividades enzimáticas para evaluar cambios en la calidad de suelos de *Vitis vinifera* L. bajo distintos tipos de cubiertas vegetales en las interfilas del cultivo (Peregrina *et al.*, 2014). También, se emplea el estudio de las actividades de diversas enzimas, como indicadoras de la influencia de las precipitaciones y la temperatura en la activación del metabolismo microbiano en suelos de viñedos (Peregrina, 2016).

El estudio de la diversidad microbiana en el suelo es también un indicador de calidad muy importante, ya que una amplia gama de microorganismos está implicada en los ciclos de los principales nutrientes (N, C, S, P, etc.), la mineralización, la humificación, la formación de la estructura física, la degradación de los contaminantes y la fertilidad del suelo y, por consiguiente, en las funciones del suelo (García *et al.*, 2002; Tilak *et al.*, 2005).

Si bien se siguen empleando los métodos tradicionales de cultivo de microorganismos para la evaluación de la calidad de los suelos (Fincheira-Robles *et al.*, 2016; Gutierrez-Calle, 2016), se sabe que de esta manera se pierde más del

90% de la “información del suelo”. Estos métodos no aportan conocimientos sobre diversidad edáfica y no son capaces de caracterizar el ecosistema microbiano del suelo, sin embargo, pese a sus limitaciones, se emplean con fines comparativos (Bastida *et al.*, 2008).

La caracterización molecular se desarrolló y adoptó hace casi 20 años para detectar especies microbianas cultivables y no cultivables, basándose en la identificación de algunas secuencias únicas de sus ácidos nucleicos (Lynch *et al.*, 2004, Mocali *et al.*, 2008, Rahman *et al.*, 2014). El ADN ribosomal 16S es utilizado en estudios de filogenia y taxonomía porque su estructura y función han permanecido constantes a través del tiempo, de modo que, las alteraciones en la secuencia reflejan cambios aleatorios. Su transmisión es prácticamente vertical, ya que no está sujeto a transferencia génica horizontal entre microorganismos. La técnica molecular de amplificación del ADNr 16 S es utilizada constantemente en microbiología, ya que por sus características permite identificar y caracterizar bacterias cultivables y no cultivables, cuyas propiedades bioquímicas no se adaptan a identificar satisfactoriamente los organismos; bacterias con elevados requerimientos nutricionales, cuya caracterización fenotípica no es suficiente; o aquellas con crecimiento muy lento (Jiménez Avella, 2007).

El gen *rrs* es una secuencia de ADN que codifica para el ARN 16S, y se utiliza para la reconstrucción de filogenias debido a sus bajas tasas de evolución (Neffts *et al.*, 1990). El ARN 16S, es altamente conservado, presenta regiones comunes a todos los organismos, pero contiene variaciones que se concentran en zonas específicas. El análisis de los genes que codifican el ARN 16S de distintos grupos filogenéticos, reveló un hecho adicional de gran importancia práctica: la presencia de una o más secuencias características que se denominan “oligonucleótidos firma”, se trata de secuencias específicas cortas que aparecen en todos, o en la mayor parte, de los miembros de un determinado grupo filogenético; y nunca, o sólo raramente, están presentes en otros grupos, incluidos los más próximos. Por ello, los oligonucleótidos firma, pueden utilizarse para ubicar a cada bacteria dentro de su propio grupo (Rodicio & Mendoza, 2004).

Tradicionalmente, la estructura microbiana de alta resolución de las comunidades microbianas del suelo ha sido estudiada por técnicas de huella genética basadas en PCR (del inglés, *Polymerase Chain Reaction*), como las técnicas: T-RFLP (polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción terminal), RAPD (ADN polimórfico amplificado aleatoriamente), DGGE (Electroforesis en gel de gradiente desnaturalizante), SSCP (polimorfismo de conformación de una sola hebra), RISA / IGS (análisis espaciador intergénico ribosómico) y ARDRA (análisis de restricción de ADNr amplificado) (Arias *et al.*, 2005).

ARDRA (del inglés, *Amplified rDNA Restriction Analysis*) es una herramienta adecuada para diferenciar los productos de PCR sobre la base de la digestión con enzimas. Esta técnica se basa en la digestión del gen ribosomal 16S previamente amplificado mediante la PCR con lo cual el producto obtenido se separa mediante electroforesis en gel de agarosa para una identificación adecuada (Malik *et al.*, 2008; Fernández *et al.*, 2012).

Existen diversos antecedentes de estudios moleculares realizados en suelos de viñedos con distintos fines. Por ejemplo, con el objetivo de eliminar el exceso de Cu en el suelo generado por el empleo de fungicidas se han aislado bacterias del género *Pseudomonas* (con capacidad biorremediadora) y para identificarlas se empleó el análisis de secuencia del gen ARNr 16S (Andreazza *et al.*, 2010).

Además, se han evaluado poblaciones procariontes no cultivables de suelos de viñedos mediante la secuenciación de la IV variable del gen de ARN ribosómico de la subunidad pequeña (16S V4 ADNr) con el fin de elucidar relaciones entre la estructura de las comunidades bacterianas, el tipo de manejo agrícola del cultivo y propiedades físico-químicas del suelo vitícola (Burns, 2014; Burns *et al.*, 2016). Técnicas moleculares similares se emplean también con el fin de evaluar el efecto de la aplicación de enmiendas orgánicas en la calidad del suelo de viñedos, con el objetivo de observar la composición de las comunidades bacterianas luego de la aplicación de la enmienda (Calleja-Cervantes *et al.*, 2015).

A demás, se ha empleado la técnica de DGGE de las comunidades bacterianas a fin de evaluar el efecto de la labranza profunda, realizada de manera previa a la

implantación de la viña, con el objeto de evaluar la capacidad de resiliencia edáfica (Constantini *et al.*, 2015). Ésta misma técnica, también se ha empleado con el objetivo de comparar la diversidad bacteriana del suelos vitícolas contaminados con diferentes concentraciones de Cu (Dell' Amico *et al.*, 2008). También se utiliza la técnica molecular de análisis espacial ribosómico intergénico automatizado (ARISA) a fin de evaluar el impacto de diferentes niveles en la estructura genética de las comunidades bacterianas de suelos de viñedos (Corneo *et al.*, 2013; Castillo Díaz, 2016).

El presente trabajo, persigue evaluar efectos de los diferentes manejos agrónomicos del cultivo de *Vitis vinifera* L., sobre variables mencionadas anteriormente: abundancia de grupos microbianos cultivables, estructura de las comunidades bacterianas no cultivables, CBM y diferentes actividades enzimáticas. Además, la evaluación de todos los parámetros en conjunto, permiten dar una idea del comportamiento de la microbiota edáfica de zonas áridas en respuesta al manejo agronómico empleado. Por otra parte, se aportará información acerca de las propiedades bioquímicas y microbiológicas de filas e interfilas del cultivo de vid, permitiendo conocer efectos sobre el suelo vitícola en su totalidad. Éste monitoreo de indicadores bioquímicos y microbiológicos en suelos de viñedos, es de suma importancia, ya que permite determinar si los sistemas de manejos empleados, se encuentran en una situación de estabilidad, mejora o degradación.

1.1 HIPÓTESIS

- El manejo agronómico convencional causa un impacto negativo en las comunidades microbianas edáficas, provocando una disminución en la biomasa y actividades enzimáticas asociadas a los suelos de viñedos.
- La no aplicación de agroquímicos y el empleo de enmienda orgánica, constituyen factores determinantes en la estructura de las comunidades bacterianas edáficas.

1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Determinar el carbono de la biomasa microbiana y abundancia de grupos microbianos cultivables (bacterias y hongos filamentosos) en suelos de viñedos, bajo distintos regímenes de manejo agrícola: labranza mínima, convencional y orgánica.

-Analizar las actividades enzimáticas (xilanasas, celulasas, amilasas, β -glucosidasas, fosfatasas ácidas y alcalinas) de suelos de viñedos de los 3 manejos agrícolas bajo estudio.

-Evaluar la estructura de las comunidades bacterianas cultivables y no cultivables presentes en los suelos de viñedos de los tres tratamientos estudiados.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Determinaciones Microbiológicas, Bioquímicas y Moleculares de Calidad de Suelo

2.1.1 Determinación del Carbono de la Biomasa Microbiana (CBM)

Para la realización de este ensayo, se llevó a cabo la técnica de fumigación-extracción (Joergensen *et al.*, 1978), que emplea cloroformo con posterior extracción con sulfato de potasio.

En primer lugar, se pesaron de cada muestra, dos réplicas de 30 g cada una. Únicamente se fumigó con cloroformo una de las muestras.

La técnica de fumigación consiste en generar una atmósfera saturada de cloroformo en un desecador. Esto se logra colocando en un vaso de precipitado cloroformo y realizando vacíos sucesivos para eliminar todo el aire. De esta manera, se obliga a que salga todo el aire contenido en las muestras y se reemplace por cloroformo. Mediante la fumigación con cloroformo (CHCl_3), se obtiene una lisis celular microbiana. Luego de esto, se dejan las muestras en un desecador por 24 h a 25 °C en oscuridad. Transcurrido este tiempo, se procedió a eliminar el cloroformo por vacío y se retiraron las muestras. Posteriormente, se realizó la extracción de carbono contenido, tanto en las muestras fumigadas como en las no fumigadas. Se utilizó como extractante K_2SO_4 0,5 M (proporción 1:5), es decir, a cada muestra se le agregaron 100 mL de solución. Luego, se agitaron en agitador a 180 vueltas/min durante 1 hora. Posteriormente se filtraron los extractos obtenidos. Para la determinación del carbono se procedió a realizar una digestión y oxidación del carbono microbiano, con ácido sulfúrico concentrado y dicromato de potasio ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_6$) 0,0667 M. La reacción se realizó tomando 4 mL del extracto, más 1 mL de $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_6$ y 5 mL de H_2SO_4 . Luego se calentó en estufa a 150 °C durante 30 min. Posteriormente, se realizó lectura de transmitancia en espectrofotómetro a 600 nm. Los resultados se refieren a una curva patrón de biftalato ácido de potasio. Finalmente, se calculó la biomasa microbiana como: $\text{CBM}, C = \text{EC} / \text{kEC}$ donde EC es la diferencia entre el carbono orgánico extraído del suelo fumigado y el carbono orgánico extraído del suelo no fumigado; kEC es una constante cuyo valor es 0,38 (Joergensen *et al.*, 1996).

2.1.2 Determinación de la Abundancia de Microorganismos Cultivables

Se llevó a cabo recuento de bacterias y hongos filamentosos de los suelos de viñedos correspondientes a los tres tratamientos bajo estudio. Se colocó 1 g de suelo de cada una de las muestras, por separado, en 100 mL de una solución salina de NaCl 10 g/L. Dicha solución, se utilizó para evitar la muerte celular por sobre hidratación osmótica. Estas soluciones se agitaron durante 15 min a 180 rpm. Se realizaron sucesivas diluciones, con factores entre 10^{-2} y 10^{-7} .

2.1.2.1 Recuento de bacterias

A partir de las soluciones obtenidas, se realizaron sucesivas diluciones (con factores de 10^{-5} , 10^{-6} y 10^{-7}).

Los extractos diluidos con dichos factores, se sembraron en medio sólido de caldo nutritivo (CN) cuya composición fue: Extracto de Carne 3 g/L, peptona 5 g/L, 10 g/L NaCl y agar (15 g/L). Luego se ajustó a pH 7.

Este medio de cultivo (CN), se seleccionó por su característica distintiva: es un medio no selectivo, por lo tanto, permite el recuento del mayor número de unidades formadoras de colonias (UFC) bacterianas. El medio fue esterilizado en autoclave durante 20 min a 121 °C y se vertió en placas Petri (20 mL/placa). Una vez solidificado y enfriado, se sembraron 50 µL por triplicado de extractos de suelos. Se cultivaron a 29 °C durante 24 hs.

2.1.2.2 Recuento de Hongos filamentosos

Para llevar a cabo el recuento de los hongos filamentosos, se utilizaron las diluciones con factores 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} . Se empleó agar CZAPEK: NaNO₃ g/L, K₂HPO₄ 1g/L, MgSO₄ 0,5g/L, KCL 0,5g/L, FeSO₄ 0,01g/L, sacarosa 30 g/L y agar 15 g/L. Luego se ajustó a pH 5,5. El medio fue esterilizado en autoclave durante 20 min a 121 °C. Luego se agregó cloranfenicol 0,1 g/L para evitar el crecimiento bacteriano y se vertió en placas de Petri (20 mL/placa). Se seleccionó este medio debido a que permite el crecimiento general (no específico) de hongos saprófitos. Una vez solidificado y enfriado, se sembraron 50 µL por triplicado de extractos de suelos. Se cultivaron a 25 °C durante 48 hs.

2.1.3 Determinación de las Actividades enzimáticas

2.1.3.1 Determinación de las Actividades de las enzimas amilasas, celulasas y xilanasas

La medida de las actividades enzimáticas amilolíticas, celulolíticas y xilanolíticas, se estableció a partir de la determinación de azúcares reductores. El contenido de estos azúcares se midió a partir del método colorimétrico de Miller, utilizando DNS (Acido 3,5 dinitrosalicílico). La medición se realizó en espectrofotómetro a una longitud de onda de 540 nm. Para determinar el contenido de azúcares se realizó una curva de calibración a partir de una solución de glucosa 1 g/L (Miller *et al.*, 1959). Una unidad de actividad enzimática se define como la cantidad de enzima que produce 1 μmol de equivalentes de glucosa por minuto, bajo las condiciones de ensayo, y corresponde a 16,67 nkat.

Para cada una de las muestras de suelo, se realizaron tres réplicas (dos muestras y un blanco). En un microtubo de 2 mL se agregaron 0,5 g de suelo; más 0,35 mL de Buffer acetato a pH 5,5; más 0,35 mL de sustrato (por duplicado para cada muestra). Los sustratos variaron según el tipo de actividad enzimática:

-Amilolítica: se empleó Almidón al 1 % en Buffer acetato a pH 5,5 (Vazquez, *et al.* (2004).

-Celulolítica: se utilizó Carboximetilcelulosa (CMC) en Buffer acetato a pH 5,5 (Ghose, 1987; Vallejo Herrera *et al.*, 2004).

-Xilanolítica: se empleó Xilano como birchwood 4-O –metilglucuronoxilano en Buffer acetato a pH 5,5 (Ghose, 1987; Vallejo Herrera *et al.*, 2004).

Además, se realizaron blancos de reacción, los cuales contenían 0,5 g de suelo y 0,35 mL de Buffer acetato a pH 5,5. Luego, todas las muestras se incubaron en baño térmico a 37 °C durante 1 h. Posteriormente, las muestras se enfriaron en baño de hielo, y se agregó el sustrato (almidón, CMC o Xilano, dependiendo de cuál fuera la actividad a medir) a los blancos de reacción. Luego, las muestras se centrifugaron durante 5 min a 9000 rpm. Finalmente, se tomó 0,5 mL del sobrenadante y se le agregó 0,5 mL de DNS. Luego las muestras se calentaron durante 10 min a 100 °C. Se realizó la lectura en espectrofotómetro a 540 nm.

2.1.3.2 Determinación de la Actividad de las enzimas β -Glucosidasas

La determinación de esta actividad, se realizó a partir del método colorimétrico, que consiste en la determinación de la concentración de p-nitrofenol. La técnica utilizada fue descrita por Eivazi y Tabatabai (1988). Para llevar a cabo la reacción enzimática, se utilizó un análogo del sustrato natural celobiosa, el p-nitrofenil- β -D-glucopiranosido (pNPG). Este sustrato es catalizado por la acción de la enzima β -glucosidasa, por hidrolisis del enlace β , para liberar p-nitrofenol (de color amarillo). La reacción se llevó a cabo en microtubos de 2 mL, los cuales contenían 0,25 g de suelo de cada muestra, se agregó 1 mL de Buffer MUB (pH 6) ajustado con HCL 0,1 M, 0,5 mL H₂O, y la solución con el sustrato de 0,25mL de pNPG 0,025 M. Luego se incubó en baño térmico a 37 °C durante 1 h. Transcurrido este tiempo, se enfrió en baño de hielo por 10 min. Posteriormente, se tomó 1 mL y se le agregó 0,5 mL de Tris-NaOH 0,5 M y 0,125 mL de CaCl₂ 0,5 M, para realzar el color del p-nitrofenol y resuspender la solución para liberar el p-nitrofenol absorbido por el suelo (Vuorinen, 1993). Finalmente, se centrifugó a 5000 rpm, durante 5 min y se midió la absorbancia a 410 nm. Los valores fueron corregidos a partir de un blanco de reacción al cual se le añadió el sustrato después de la adición de CaCl₂ y Tris-NaOH. Se calculó la cantidad de p-nitrofenol, utilizando una curva patrón de calibración construida con cantidades conocidas de p-nitrofenol. La actividad β -glucosidasa se expresó como $\mu\text{mol pNP liberado g}^{-1}$ suelo seco h^{-1} .

2.1.3.3 Determinación de la Actividad de las enzimas fosfatasas

La actividad de las enzimas fosfatasa ácida y fosfatasa alcalina, se determinó siguiendo el método descrito por Tabatabai (1994). Esta técnica es del tipo colorimétrica, donde se emplea un sustrato análogo sintético denominado p-nitrofenilfosfato. Para determinar la actividad de estas dos enzimas, se sigue la misma técnica, y únicamente se debe variar el pH de la solución Buffer. Para determinar la actividad de la fosfatasa ácida, se emplea Buffer MUB a pH 6,5 ajustado con HCl 0,1 M; mientras que para la fosfatasa alcalina, el Buffer debe encontrarse a pH 11 ajustado con NaOH 0,1 M.

Para la reacción se colocaron 0,25 g de suelo de cada muestra y se les agregó 1 mL de solución de Buffer MUB (pH 6,5 o bien, pH11) y 0,25 mL de solución de p-nitrofenilfosfato 0,05 M. El contenido se agitó durante unos segundos. Luego se

incubaron los microtubos de 2 mL durante 1 hora a 37 °C. Transcurrido este tiempo, se enfriaron en baño de hielo por 10 min. Posteriormente, se tomó 1 mL y se le agregó 0,5 mL de Tris-NaOH 0,5 M y 0,125 mL de CaCl₂ 0,5 M, para realzar el color del p-nitrofenol y resuspender la solución para que libere el p-nitrofenol absorbido por el suelo (Vuorinen, 1993). Finalmente, se centrifugó a 5000 rpm por 5 min y se midió la absorbancia a 410 nm. Los valores fueron corregidos a partir de un blanco de reacción al cual se le añadió el sustrato después de la adición de CaCl₂ y Tris-NaOH. Se calculó la cantidad de p-nitrofenol, utilizando una curva patrón de calibración realizada con el reactivo patrón de p-nitrofenol. La actividad Fosfatasa se expresó como $\mu\text{mol pNP liberado g}^{-1} \text{ suelo seco h}^{-1}$.

2.1.4 Determinación de la estructura de las comunidades bacterianas cultivables y no cultivables

2.1.4.1 Procesamiento de las muestras

En cada tratamiento, se tomaron muestras de 9 Filas y 9 Interfilas, en cada uno de los tres años bajo estudio. A su vez, en cada micrositio se tomaron submuestras, que luego fueron homogeneizadas. Finalmente, para llevar a cabo el siguiente ensayo, se trabajó con un total de 18 muestras (provenientes de la homogenización de las submuestras antes mencionadas). Las 6 primeras corresponden al tratamiento con labranza mínima, las 6 siguientes (7-12) al tratamiento con labranza convencional y las 6 últimas (13-18) corresponden al manejo orgánico del viñedo. Cada tratamiento está representado por los tres años de estudio (2013, 2014 y 2015) y por los micrositios (filas e interfilas del viñedo) (Tabla 7).

Tratamientos	N° de muestra	Micrositio	Año de muestreo
Labranza Mínima	1	F	2013
	2	IF	
	3	F	2014
	4	IF	
	5	F	2015
	6	IF	
Labranza Convencional	7	F	2013
	8	IF	
	9	F	2014
	10	IF	
	11	F	2015
	12	IF	
Labranza Orgánica	13	F	2013
	14	IF	
	15	F	2014
	16	IF	
	17	F	2015
	18	IF	

Tabla 7. Muestras de suelos correspondientes a los tres tratamientos bajo estudio, tomadas de las filas (F) e interfilas (IF) del cultivo, empleadas para el estudio de la estructura de las comunidades bacterianas de los suelos de viñedos.

2.1.4.2 Extracción y purificación del ADN del suelo

Para determinar si la comunidad microbiana autóctona se ve alterada, se realizó la extracción de ADN total del suelo.

De cada muestra se tomaron 0,25 g de suelo. La extracción de ADN del suelo se llevó a cabo mediante el Kit comercial *Ultra Clean soil DNA extraction* (MoBio), siguiendo las instrucciones del fabricante. Luego se llevó a cabo la purificación como lo indica Petric *et al.* (2011) para eliminar los inhibidores de PCR. Luego, las muestras se conservaron a -20 °C para su posterior análisis.

2.1.4.3 Electroforesis en Gel de Agarosa

La electroforesis en gel es una técnica muy utilizada para separar moléculas o fragmentos de moléculas de ácidos nucleicos. El gel se comporta como un tamiz molecular y permiten separar moléculas cargadas en función de su tamaño y forma. Así, moléculas de ADN de diferente tamaño, van a migrar de forma distinta en un gel de electroforesis. La distancia recorrida por cada fragmento de ADN va a ser inversamente proporcional al logaritmo de su peso molecular (Padilla Peña *et al.*, 2015).

Mediante esta técnica, se confirmó que las extracciones de ADN de las muestras de suelo presentaron suficiente calidad y cantidad para ser amplificadas posteriormente. Para ello, se tomó 5 µL de muestra de ADN extraído (previamente mezclados con 2 µl de tampón de carga 6x, y colocados en los pocillos de un gel-de agarosa (al 1%). Dicho gel se sumergió en una cuba de electroforesis horizontal que contenía tampón TAE 1x (a partir de una solución stock TAE 50X: Tris base (242 g) ácido acético glacial (57,1 ml), EDTA 0,5 M (100 mL), enrasado con agua hasta completar 1 Lt). La electroforesis se desarrolló durante 20 minutos a 120 V. La migración de la banda de ADN extraído se visualizó tiñendo el gel con bromuro de Etidio y se visualizó con la ayuda de un transiluminador de emisión ultravioleta Gene Flash UV imager (Syngene BIO imager, Cambridge, UK).

2.1.4.4 Amplificación de ARNr 16S mediante PCR

Las distintas muestras de ADN se amplificaron por PCR para cada uno de los fragmentos del gen codificante para ARNr 16S. El objetivo de esta técnica fue estudiar las poblaciones bacterianas del suelo, debido que éstas son los microorganismos más abundantes del suelo. Para ello se utilizaron los cebadores universales del dominio Bacteria (Tabla 2), provenientes de *Invitrogen*, y se diluyeron con agua desionizada hasta una concentración stock (25 pmol) y se almacenaron a -20 °C hasta su uso.

Nombre del cebador	Secuencia (5'-3')
907R	5'-AGA GTT TGA TCM TGG CTC AG-3'
341F	5'-TAC GGY TAC CTT GTT ACG ACT T-3' (M: A/C; Y: C/T)

Tabla 8. Cebadores utilizados en las distintas reacciones de PCR.

Todas las reacciones de PCR contenían: 25 µL de Master Mix (50 unidades mL⁻¹ de la polimerasa Taq DNA en una reacción tampón a pH 8,5), 400 µM de cada uno de los dinucleótidos (dNTP), 3 mM de MgCl₂, 10 µM de cada cebador y 2 µL de ADN molde para la síntesis. Todas estas reacciones se completaron hasta un volumen total de 50 µL. Estos 50 µL se sometieron a una reacción en un termociclador Mastercycler pro (Eppendorf) bajo las condiciones del programa de amplificación (Tabla 3). Una vez finalizado el programa, las muestras se mantuvieron a 4 °C en el termociclador hasta su uso.

Ciclos y condiciones de tiempo y temperatura de PCR		
Temperatura (°C)	Tiempo (seg)	Número de Ciclos (N°)
94	5	35
94	30	
58	1	
72	2	
72	10	

Tabla 9. Programa utilizado en el termociclador para las reacciones de PCR.

2.1.4.5 Análisis de restricción del ADN ribosomal 16S amplificado (*Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis -ARDRA-*)

Luego de la purificación del ADN se llevó a cabo el análisis ARDRA. A continuación, una alícuota de 10 µL del producto de reacción de cada réplica que contenía amplificados del gen ARNr 16S, se digirieron por separado mediante las enzimas de restricción: *Hinf* I, *Hae* III y *Rsa* I, a 37 °C durante 4 horas. Posteriormente, las enzimas se inactivaron mediante calentamiento de la solución de digestión a 65 °C durante 15 minutos. Los fragmentos del ARNr 16S digeridos se separaron mediante electroforesis en gel de agarosa al 1,8% y se fotografiaron.

Los perfiles de *Hinf* I, *Hae* III y *Rsa* I se utilizaron para calcular Índices de diversidad y el número de fragmentos del perfil de ARDRA de una muestra de suelo, el cual fue la suma del número de fragmentos de los perfiles obtenidos con las tres enzimas de restricción. El número de fragmentos en una comunidad bacteriana se considera que representa su riqueza de fragmentos (S). Este cálculo se basa en el principio de que cada fragmento contribuye igualmente a la diferencia entre las diversidades bacterianas.

Los perfiles ARDRA obtenidos fueron analizados mediante los paquetes informáticos Cross Checker y FAMD 1.21 (Schlüter & Harris, 2006), empleando el coeficiente de similitud de Dice (Dice, 1945) y el método UPGMA para la construcción del dendrograma.

III. RESULTADOS

3.1 Abundancia de microorganismos cultivables en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

La Figura 8 A muestra que no hubieron diferencias significativas en la abundancia de los grupos microbianos cultivables entre microsítios, dentro de cada uno de los tres tratamientos bajo estudio. Además, se encontró que los suelos con manejo orgánico del viñedo, presentaron mayor abundancia de bacterias cultivables; mientras que en los suelos del sistema convencional, la abundancia de procariontes fue significativamente menor al resto de los tratamientos. Los hongos filamentosos no presentaron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 8 B).

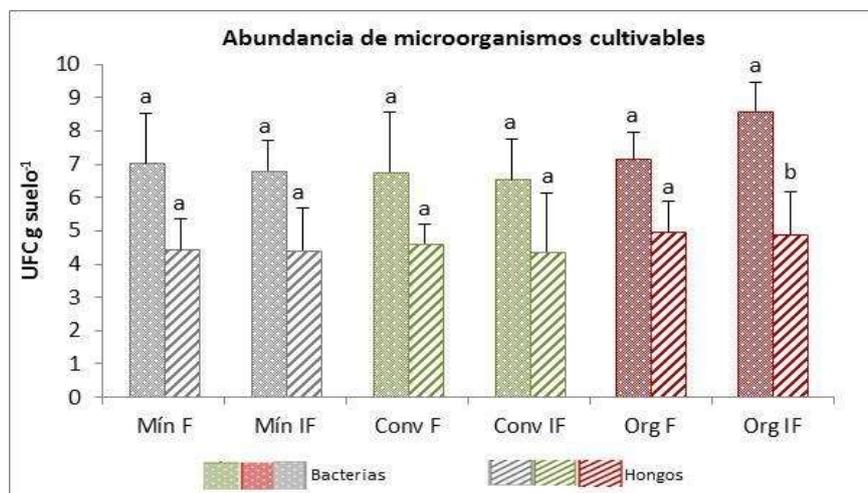


Figura 8 A. Abundancia de grupos microbianos cultivables (bacterias y hongos) de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada microsítio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

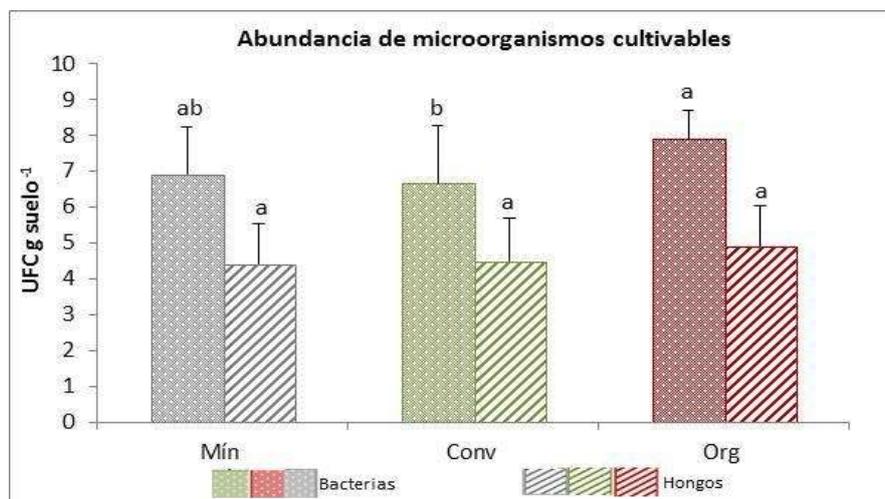


Figura 8 B. Abundancia de grupos microbianos cultivables (bacterias y hongos) de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.2 Carbono de la biomasa microbiana (CBM) en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

Los resultados muestran que en los manejos con labranza mínima y convencional, no hubieron diferencias significativas en el contenido de CBM entre micrositios. Mientras que en los suelos con manejo orgánico, el CBM fue significativamente mayor en las interfilas del viñedo (Figura 9 A). Se encontró que los suelos con labranza orgánica, presentaron mayor CBM respecto de los otros tratamientos (Figura 9 B).

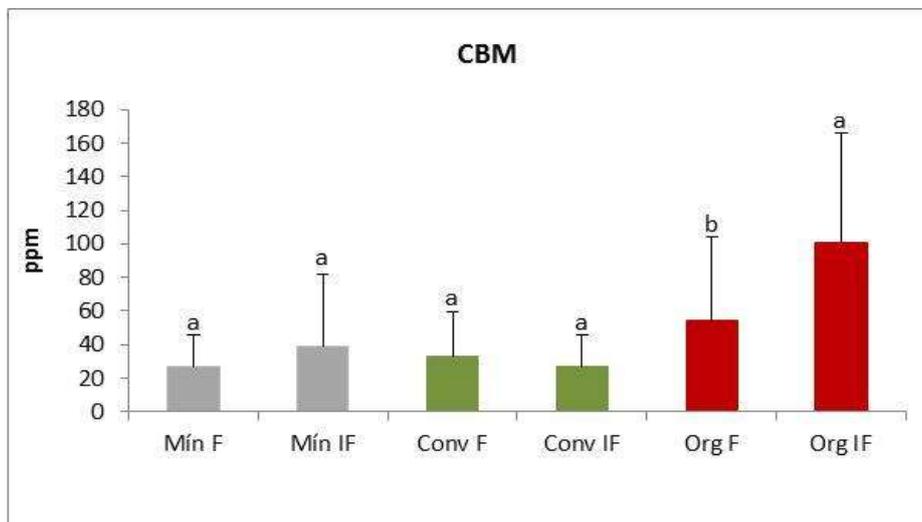


Figura 9 A. Carbono de la biomasa microbiana (CBM) de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

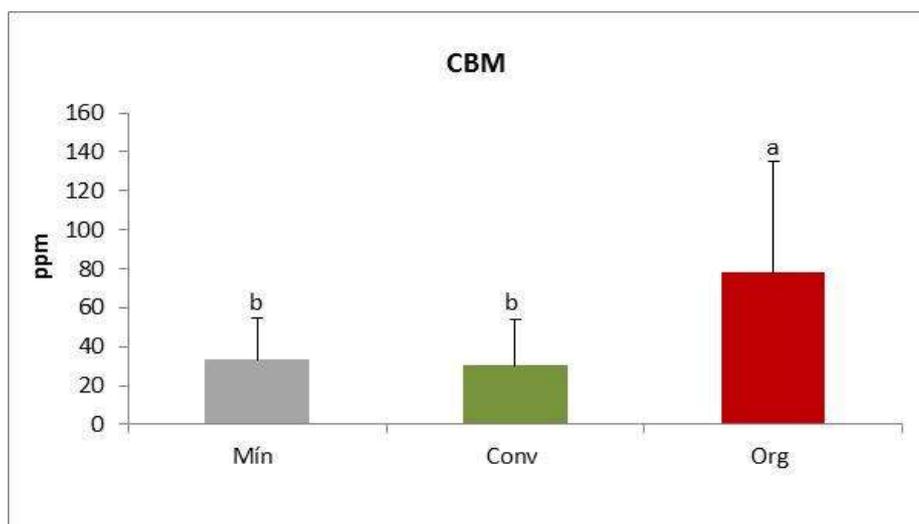


Figura 9 B. Carbono de la biomasa microbiana (CBM) de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.3 Actividad Xilanólica en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

La Figura 10 A muestra que no hubieron diferencias significativas en los valores de las actividades de las enzimas xilanasas entre micrositios, dentro de cada uno de los tres tratamientos bajo estudio. En general, tampoco se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos (Figura 10 B).

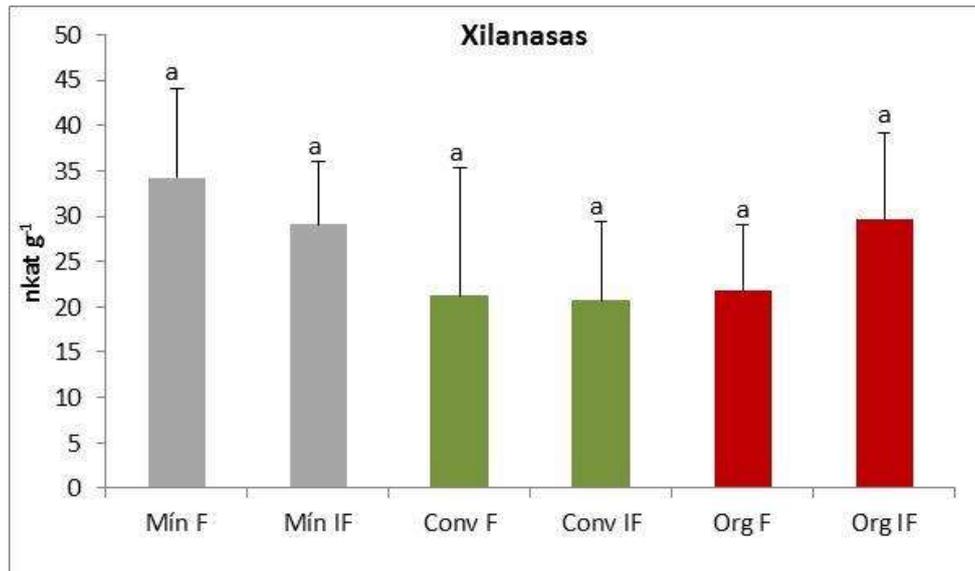


Figura 10 A. Actividad de las enzimas xilanasas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

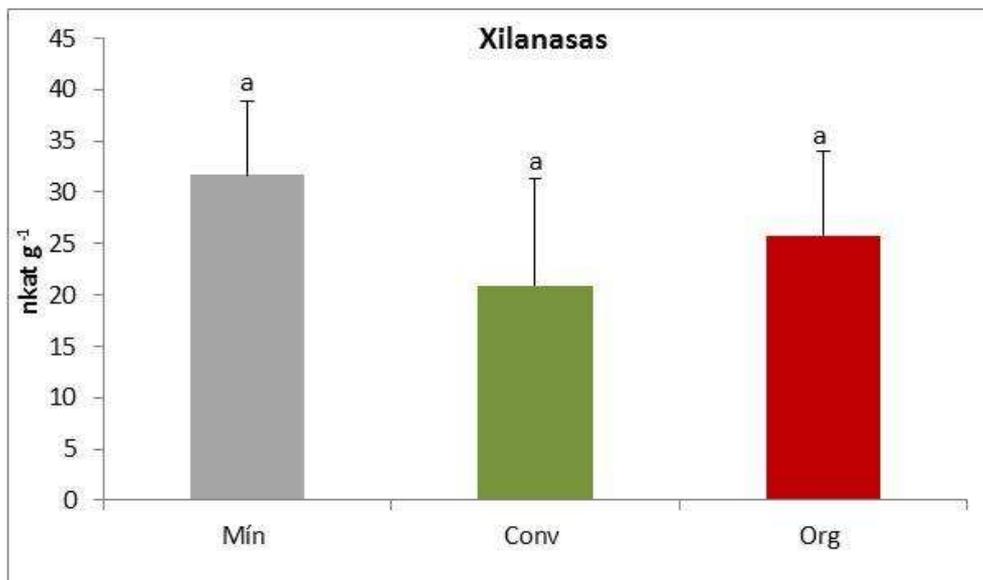


Figura 10 B. Actividad de las enzimas xilanasas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.4 Actividad Celulolítica en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

Los resultados muestran que en el manejo con labranza convencional, no hubo diferencias significativas en los valores de la actividad celulolítica entre micrositios. Mientras que, en los suelos con manejo orgánico y laboreo reducido, la actividad fue significativamente mayor en las interfilas del viñedo (Figura 11 A). Además, se encontró que los suelos con labranza orgánica, presentaron mayores valores de esta actividad, respecto de los otros tratamientos (Figura 11 B).

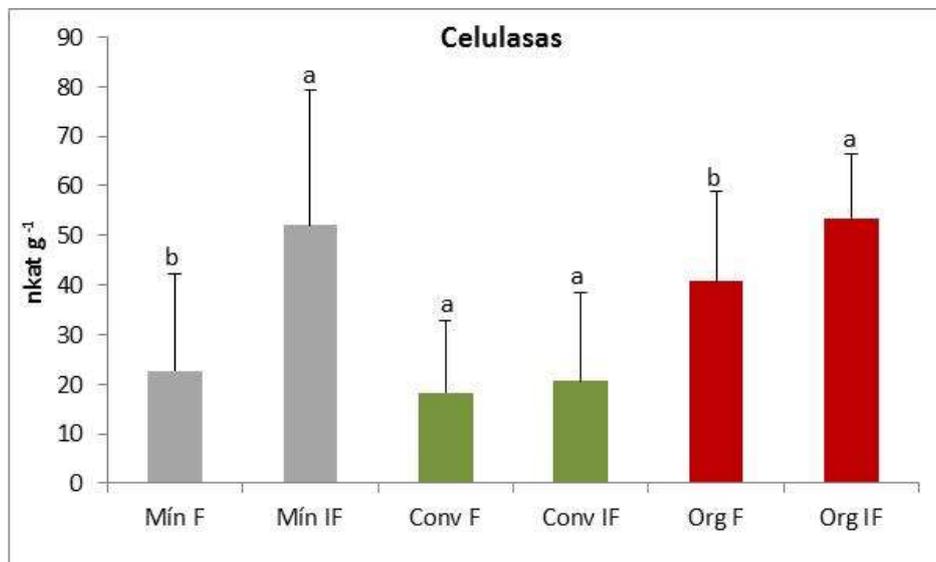


Figura 11 A. Actividad de las enzimas celulasas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

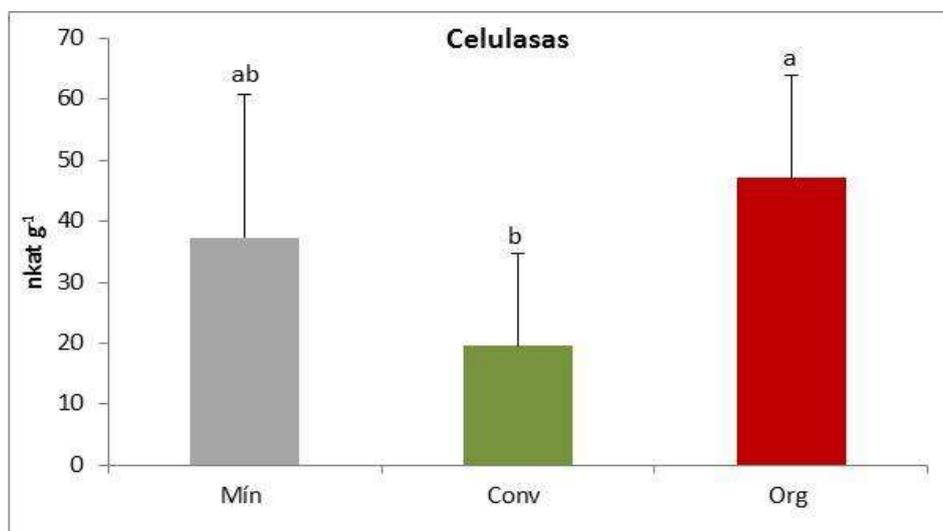


Figura 11 B. Actividad de las enzimas celulasas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.5 Actividad Amilolítica en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

La Figura 12 A muestra que no hubo diferencias significativas en los valores de la actividad amilolítica entre micrositios, dentro de cada uno de los tres tratamientos bajo estudio. Se encontró que los suelos con labranza mínima del viñedo, presentaron diferencias significativas respecto de los otros tratamientos bajo estudio (Figura 12 B).

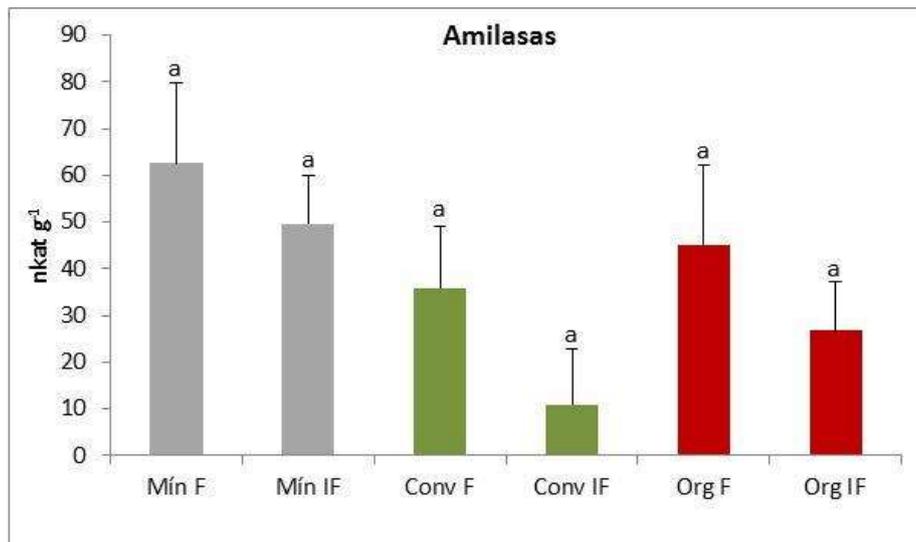


Figura 12 A. Actividad de las enzimas amilasas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

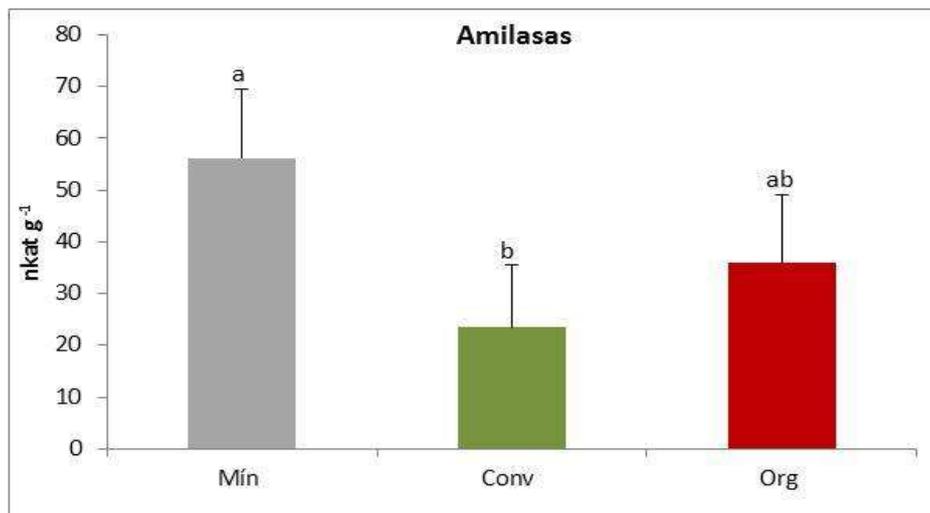


Figura 12 B. Actividad de las enzimas amilasas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.6 Actividad de las enzimas β -Glucosidasas en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

Los resultados muestran que los suelos con labranza convencional no presentaron diferencias significativas en los valores de la enzima β -Glucosidasa entre los micrositios. Mientras que, en los suelos con labranza mínima y orgánica, se encontraron diferencias entre los micrositios. En el tratamiento con labranza mínima, la actividad fue significativamente mayor en las filas; mientras que en los suelos con manejo orgánico, fue significativamente mayor en las interfilas del viñedo (Figura 13 A). Se encontró también, que los suelos con labranza orgánica, presentaron mayores valores de esta actividad, respecto de los otros tratamientos (Figura 13 B).

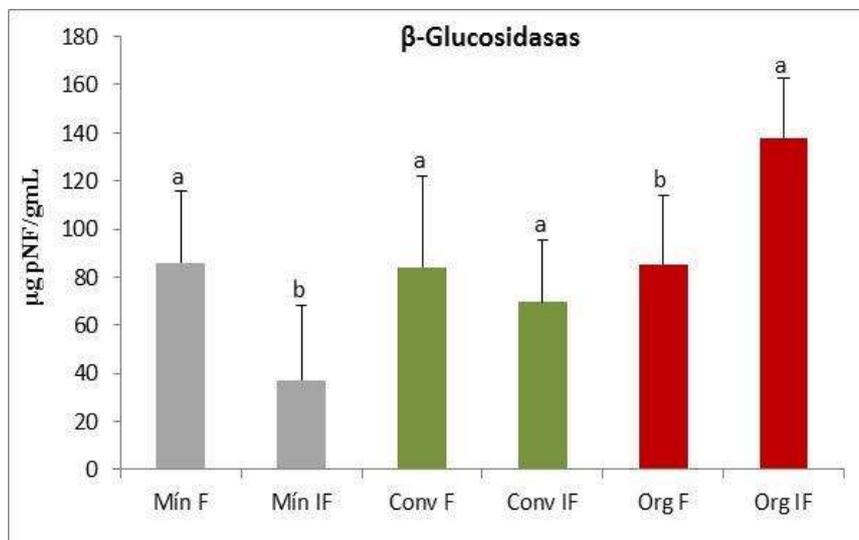


Figura 13 A. Actividad de las enzimas β -Glucosidasas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

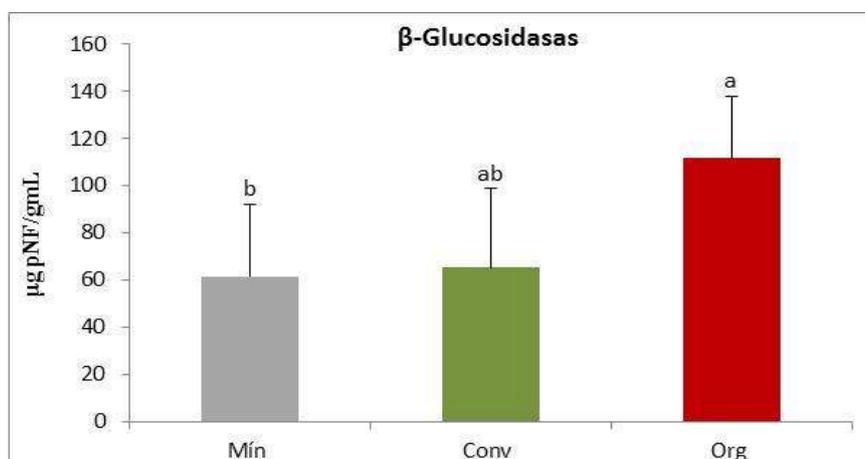


Figura 13 B. Actividad de las enzimas β -Glucosidasas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.7 Actividad de las enzimas Fosfatasas Ácidas en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

La Figura 14 A muestra que en los suelos con labranza mínima y convencional, no hubo diferencias significativas en los valores de la actividad de la enzima fosfatasa ácida entre los micrositios, dentro de cada uno de los dos tratamientos bajo estudio. Mientras que, en los suelos con manejo orgánico del viñedo, la actividad fue significativamente mayor en las interfilas. Además, se encontró que los suelos con labranza orgánica, presentaron mayor actividad de la enzima, respecto de los otros tratamientos (Figura 14 B).

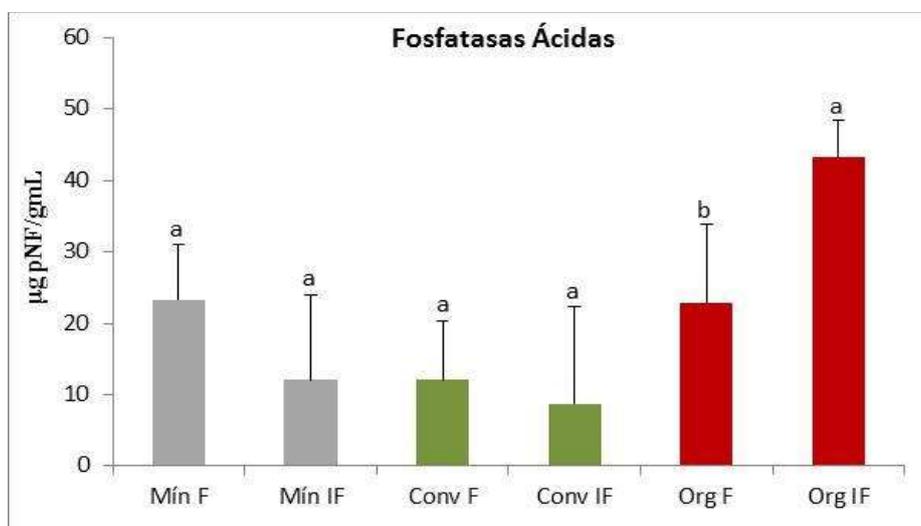


Figura 14 A. Actividad de las enzimas fosfatasas ácidas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

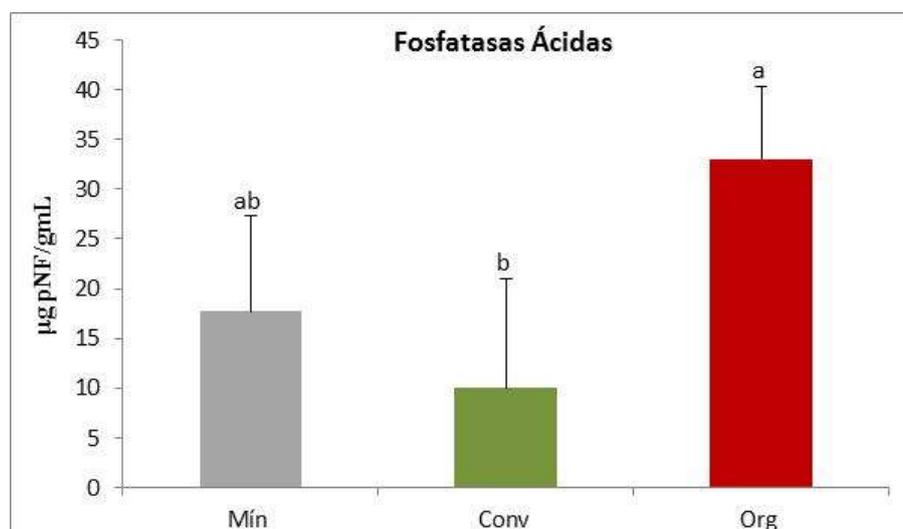


Figura 14 B. Actividad de las enzimas fosfatasas ácidas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.8 Actividad de las enzimas Fosfatasa Alcalinas en suelos de vid bajo tres tratamientos agrícolas diferentes

Los resultados muestran que los suelos con labranza mínima y convencional no hubo diferencias significativas en los valores de la actividad de la enzima fosfatasa alcalina entre los micrositios, dentro de cada uno de estos dos tratamientos. Mientras que, en los suelos con labranza orgánica, la actividad fue significativamente mayor en las interfilas del viñedo (Figura 15 A). Se encontró que los suelos con labranza orgánica, presentaron mayores valores de la actividad, respecto de los otros tratamientos (Figura 15 B).

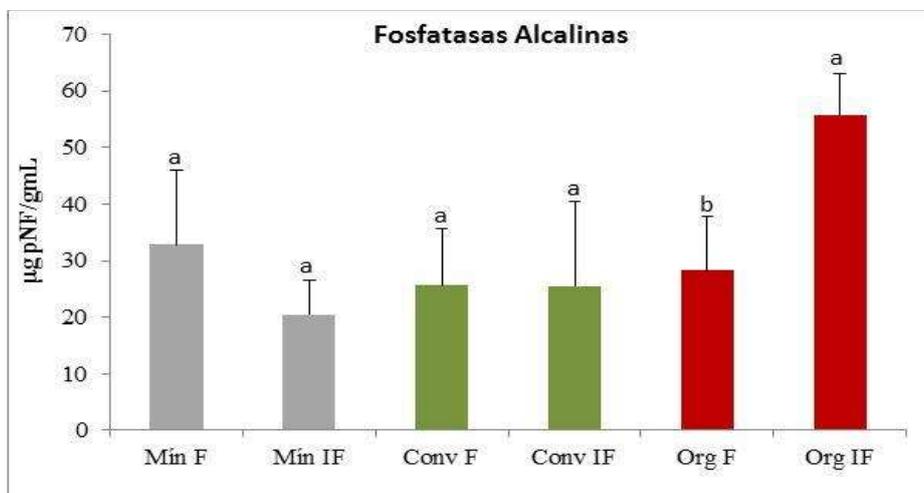


Figura 15 A. Actividad de las enzimas fosfatasa alcalinas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=12) para cada micrositio: F (fila) e IF (interfila) de cada sistema de manejo agrícola. Letras distintas indican diferencias significativas dentro de cada uno de los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

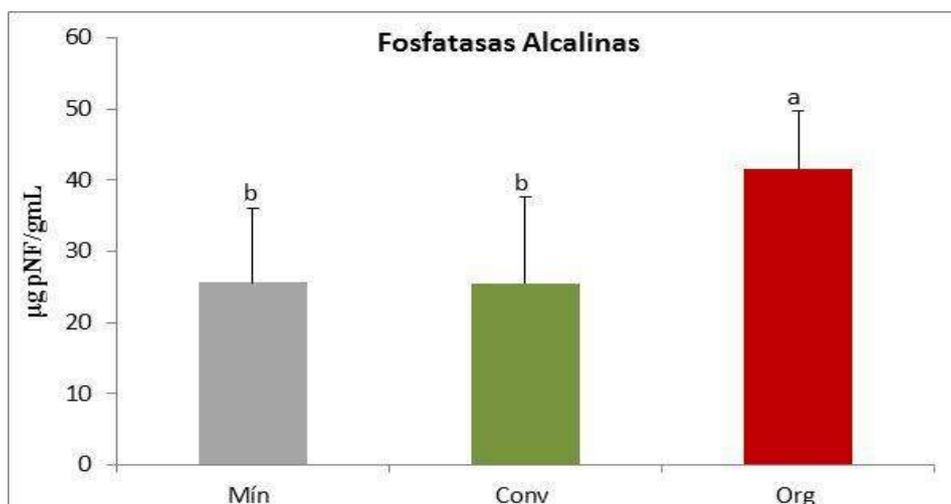


Figura 15 B. Actividad de las enzimas fosfatasa alcalinas de suelos cultivados con vid bajo tres tratamientos: labranza mínima (Mín), convencional (Conv) y orgánica (Org). Se muestra media \pm DS (n=24) para cada tratamiento. Letras distintas indican diferencias significativas entre los tratamientos (Test de Tukey $p < 0,05$).

3.9 Correlación de todos los parámetros microbiológicos de calidad suelos bajo estudio

En la Tabla 10 se observa que todas las correlaciones fueron positivas. La abundancia de bacterias y hongos cultivables correlacionaron significativamente entre sí. La abundancia de hongos, correlacionó significativamente con el CBM y la actividad xilanolítica y celulolítica. El CBM presentó correlación significativa con las enzimas xilanasas y β -Glucosidasas. Las actividades xilanolíticas correlacionaron significativamente con las actividades de las enzimas celulasas, β -Glucosidasas y fosfatasas. La actividad de las enzimas celulasas presentó correlación significativa con la de las β -Glucosidasas y fosfatasas. La actividad de las β -Glucosidasas correlacionó significativamente con las actividades de las enzimas fosfatasas. La actividad ambas enzimas fosfatasas correlacionaron significativamente entre sí.

	Bacterias (UFC g suelo ⁻¹)	Hongos (UFC g suelo ⁻¹)	CBM (ppm)	Xi (mgat g ⁻¹)	Ce (mgat g ⁻¹)	Am (mgat g ⁻¹)	β-Gl (μg PNF g/mL)	FÁc (μg PNF g/mL)	FAI (μg PNF g/mL)
Bacterias (UFC g suelo ⁻¹)		***	0,22	0,60	0,19	0,74	0,73	0,08	0,10
Hongos (UFC g suelo ⁻¹)	0,40		*	*	*	0,38	0,56	0,96	0,99
CBM (ppm)	0,23	0,43		*	0,67	0,26	*	0,83	0,81
Xi (mgat g ⁻¹)	-0,17	-0,25	-0,52		*	0,63	***	*	*
Ce (mgat g ⁻¹)	0,10	0,04	-0,02	0,31		0,34	*	*	*
Am (mgat g ⁻¹)	0,02	0,06	-0,03	0,12	-0,08		0,34	0,94	0,50
β-Gl (μg PNF g/mL)	0,06	-0,12	-0,31	0,55	0,28	0,24		***	*
FÁc (μg PNF g/mL)	0,15	-0,07	-0,11	0,29	0,41	-0,01	0,53		***
FAI (μg PNF g/mL)	0,09	-0,03	0,10	0,10	0,40	-0,18	0,16	0,70	

Tabla 10. Correlación entre los indicadores microbiológicos de calidad de suelos de viñedos con labranza mínima, convencional y orgánica. Por encima de la diagonal se representan los valores de p, y por debajo, los valores del coeficiente de correlación de Pearson. Significancia (*: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001).

3.10 Análisis Multivariado

Con el fin de determinar la relación existente entre las variables microbiológicas, y además, visualizar de qué manera los parámetros bajo estudio se asociaron a los distintos micrositios y tratamientos, se llevó a cabo un Análisis de Componentes Principales (ACP).

En la Tabla 11 se pueden observar los autovalores asociados a cada autovector (existen tantos autovectores como componentes principales se hayan seleccionado para el análisis). Los resultados señalan que las dos primeras componentes permiten explicar el 82 % de la variación total.

Autovalores			
Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	5,54	0,62	0,62
2	1,83	0,2	0,82
3	1,05	0,12	0,94
4	0,52	0,06	0,99
5	0,06	0,01	1
6	0	0	1
7	0	0	1
8	0	0	1
9	0	0	1

Tabla 11. Autovalores que representan la proporción de variabilidad total explicada por cada componente y la proporción de la variabilidad total explicada, en forma acumulada.

En la Tabla 12 se observan los autovectores (e1 y e2) reportados por el programa estadístico. Se muestran los coeficientes con que cada variable original fue ponderada para conformar las CP 1 y CP 2.

Variables	Autovectores	
	e1	e2
Bacterias	0,37	0,23
Hongos	0,32	-0,25
CBM	0,4	-0,21
Xi	0,18	0,61
Ce	0,3	0,02
Am	0,03	0,67
β -Gl	0,38	-0,09
FÁc	0,42	0,03
FAI	0,4	-0,09

Tabla 12. Autovectores resultantes del análisis de Componentes Principales.

Al construir la CP 1 (eje X), se encontró que las variables CBM, actividades de las enzimas fosfatasas y β -Glucosidasas, la abundancia de microorganismos cultivables y las actividades celulolíticas, recibieron los pesos positivos más altos. Las actividades xilanolíticas y amilolíticas también presentaron pesos con coeficientes positivos, aunque inferiores a los mencionados anteriormente (Tabla 12). Este eje (CP 1), explica el 62 % de la variabilidad (Tabla 11).

La construcción de la CP 2 (eje Y), permitió visualizar que las actividades amilolíticas y xilanolíticas recibieron los pesos positivos más altos. La abundancia de bacterias cultivables y las actividades de las enzimas celulasas y fosfatasas ácidas, también presentaron pesos positivos, aunque inferiores a los antes mencionados. La abundancia de los hongos cultivables y el CBM presentaron los pesos negativos más altos, mientras que, las actividades de las β -Glucosidasas y fosfatasas alcalinas también presentaron peso con coeficiente negativo, pero inferiores a los anteriormente mencionados (Tabla 12). Esta componente (CP 2), explica el 20 % de la variabilidad (Tabla 11).

La Figura 17 muestra que la mayoría de las variables microbiológicas y bioquímicas bajo estudio, es decir, la abundancia de microorganismos cultivables, las actividades celulolíticas, el CBM y las actividades de las enzimas fosfatasas y β -Glucosidasas, se asociaron al tratamiento orgánico del cultivo. Puede observarse que el CBM y la actividad de las enzimas fosfatasas se asociaron mayormente a las interfilas del viñedo orgánico, mientras que el resto de los parámetros, se asociaron en mayor medida a las filas de dicho viñedo. Además, se observa que las actividades amilolíticas y xilanolíticas se asociaron mayormente a los suelos de las filas del viñedo con labranza mínima.

Por otra parte, se encontró que las interfilas del sistema con labranza mínima y los dos micrositios con labranza convencional, no presentaron variables asociadas. En general, el gráfico muestra que los indicadores microbiológicos y bioquímicos tienen mayor peso en las filas del viñedo con labranza mínima y en el tratamiento orgánico en general (ambos micrositios).

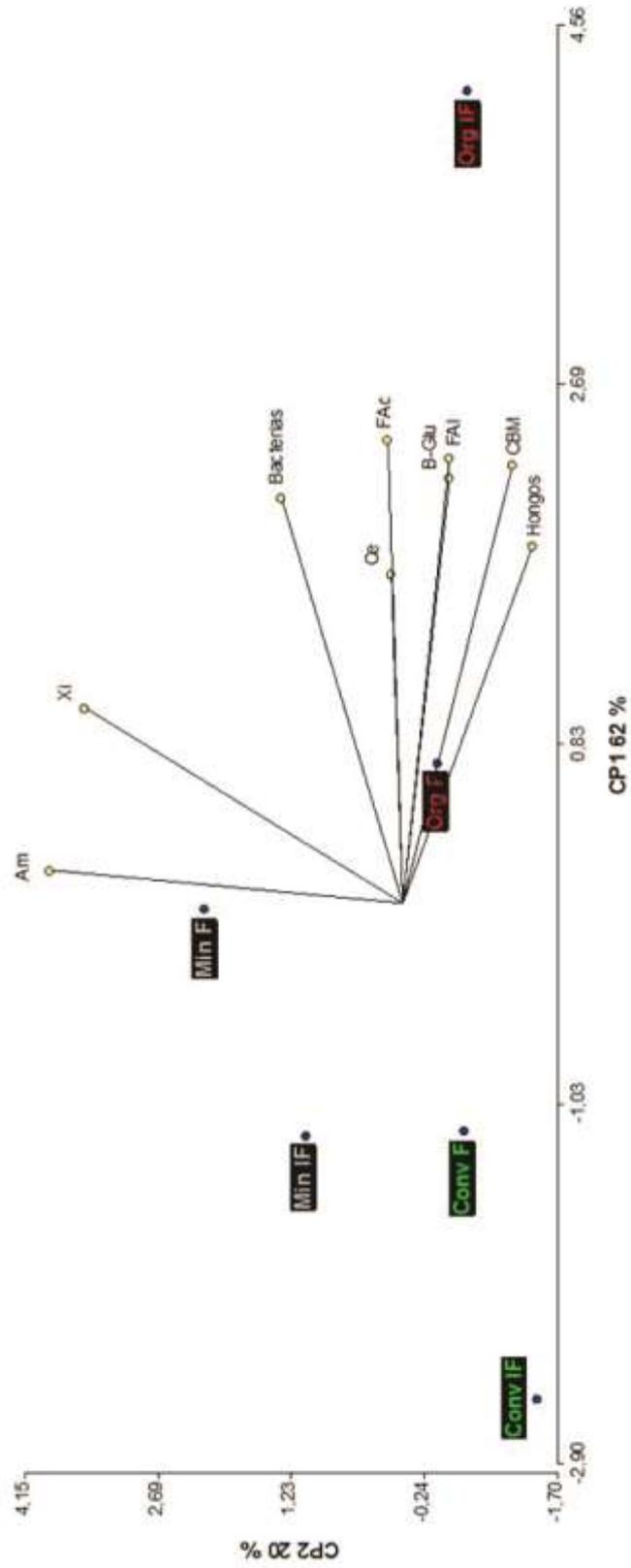


Figura 17. Análisis de componentes principales (ACP). Se representan indicadores bioquímicos y microbiológicos de suelos de *Vitis vinifera* L. de filas (F) e interfilas (IF) correspondientes a los tres tratamientos: labranza mínima (Min), convencional (Conv) y orgánica (Org).

3.11 Estructura de las comunidades bacterianas no cultivables de los suelos bajo estudio

Con el objetivo de evaluar cambios en la estructura de las comunidades bacterianas de los suelos de viñedos, en los tres tratamientos bajo estudio, se llevó a cabo el análisis ARDRA.

En la Figura 16 se observa un dendograma construido a partir de los productos de digestión ARDRA. Se observa un 15% de similaridad de los productos de digestión de la amplificación de genes del ARNr 16S, mediante la enzima de restricción *Hae III*. El análisis de los datos mostró que las muestras de los suelos de viñedos se agruparon en dos grupos según el porcentaje de similaridad de sus patrones de restricción, con un 15% de similaridad. En el I se agruparon, todas las muestras de suelo con tratamiento orgánico del cultivo y únicamente una muestra correspondiente a los suelos del viñedo convencional; y en el grupo II se ubican todas las muestras con tratamiento de labranza mínima y la mayoría de las muestras correspondientes a los suelos con laboreo convencional.

El análisis ARDRA muestra que los grupos bacterianos asociados al manejo orgánico del cultivo son característicos de este tratamiento; mientras que los otros, en general, son comunes a los manejos de labranza convencional y mínima.

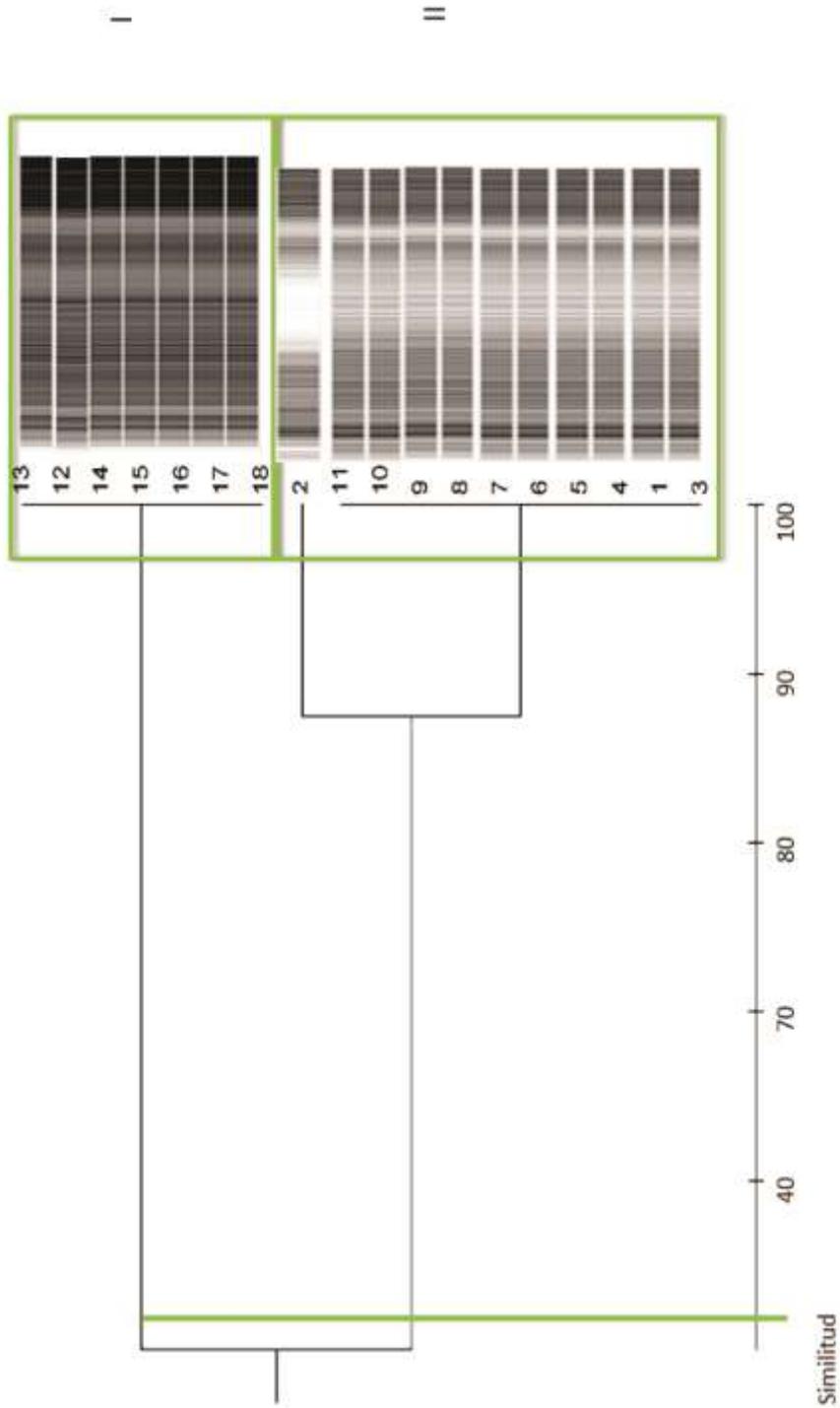


Figura 16. Dendrograma mostrando los perfiles ARDRA de muestras con los diferentes tratamientos: labranza mínima (1-6), labranza convencional (7-12) y labranza orgánica (13-18) del viñedo. El 85% de cut-off fue considerado, según los criterios usados en estudios de diversidad.

IV. DISCUSIÓN

Julca-Otiniano *et al.* (2006) y Paroldi (2017), encontraron una correlación positiva entre la abundancia de bacterias y hongos de suelos cultivados, y determinaron que los sistemas de producción agrícola en los cuales los residuos son dejados sobre la superficie, estimulan el desarrollo y la actividad de dichos microorganismos. Se ha reportado que la biomasa microbiana es mayor bajo condiciones de agricultura de conservación, donde, los cultivos de cobertura, los restos de poda o la aplicación de una enmienda, proveen fuente de carbono en forma continua a la biota del suelo (Murillo *et al.*, 2014). En relación a esto, se encontró que los microorganismos cultivables (bacterias y hongos filamentosos) correlacionaron positivamente entre sí (Tabla 10). El recuento de bacterias cultivables fue significativamente mayor en los suelos con manejo orgánico del cultivo, y los menores niveles de conteo de dichos microorganismos, se registraron en el sistema convencional del viñedo (Figura 8 B). Estos resultados concuerdan con los encontrados en un trabajo realizado en suelos de viñedos de Australia, donde se evaluó el efecto de otro tipo de práctica agroecológica: las cubiertas vegetales (en las interfilas de la vid) sobre la abundancia de bacterias cultivables. Ellos observaron que, luego de 3 años de empleo de cubiertas vegetales, hubo un incremento significativo en casi todos los conteos de bacterias realizados, respecto de los suelos con tratamiento convencional del viñedo (suelo desnudo). Concluyeron que, debido a que el suelo de viñedo recibe poca entrada de materia orgánica, el empleo de éste tratamiento orgánico (cubiertas vegetales) puede mejorar el contenido de C orgánico y de esta manera, la abundancia microbiana del suelo (Whitelaw-Weckert *et al.*, 2007). Existen también, antecedentes de estudios de microbiota asociada a otro cultivo perenne del árido (*Olea europaea* L.) donde se encontró también, que suelos de olivares tratados con enmienda orgánica, presentaron un incremento en la cantidad de microorganismos procariontes cultivables (Proietti *et al.*, 2015). Los sarmientos provenientes de la poda de la vid, incorporados al suelo para su posterior descomposición y humificación, se caracterizan por presentar una relación C/N muy elevada, entre 150 y 250 (Gordillo-Rivero & García-Moreno, 2015). Este tipo de biomasa leñosa, es lignocelulósica, presenta entre 55-65 % de celulosa y un 20-30 % de lignina, lo que equivale aproximadamente a un 10 % más que lo que aporta la biomasa de tipo herbácea (Fernández, 2006). Los microorganismos tienen un papel clave en la formación de humus, actuando sobre estos dos componentes básicos presentes en las paredes de las células vegetales. Por su naturaleza leñosa, los

restos de poda, presentan altos contenidos de estos componentes, lo que promueve una mayor proliferación de microorganismos que los emplean como sustrato para degradar, y se abastecen de la energía proveniente de la ruptura de estas moléculas orgánicas ricas en carbono (Solé Mercadé, 2013).

Dado que los tratamientos con manejo convencional y orgánico presentan el mismo tipo de laboreo, los menores niveles de microorganismos procariontes registrados en el sistema tradicional (Figura 8 B), podrían asociarse a otra característica propia de dicho tratamiento: la aplicación de herbicidas (Tabla 1, Cap. II). Los suelos con laboreo reducido, también reciben el suministro de glifosato (Tabla 1, Cap. II), y, al igual que el sistema convencional, presentaron menor carga bacteriana que los suelos del viñedo orgánico (Figura 8 B). Por otra parte, si bien los hongos cultivables fueron más abundantes en los suelos del tratamiento orgánico del cultivo, no hubo apoyo estadístico para este resultado, es decir, no se encontraron diferencias significativas entre tratamientos (Figura 8 B). En base a estos resultados encontrados, podría decirse que el herbicida no tuvo efectos notables sobre las comunidades fúngicas cultivables. En relación con esto, existen diversos estudios con resultados diferentes respecto del efecto del glifosato en las comunidades bacterianas y fúngicas. En Argentina se ha difundido su utilización en el cultivo de cítricos, olivares y viñedos con el objeto de controlar malezas y aumentar la productividad de los cultivos (González-Torralva *et al.*, 2010). Diversos estudios realizados a campo y en condiciones controladas, han encontrado efectos del glifosato sobre la actividad de distintos microorganismos del suelo. Por ejemplo, en condiciones de laboratorio se han documentado disminuciones del crecimiento micelial de *Fusarium solani*, *Pythium spp.*, y *Trichoderma viride* frente a concentraciones altas del herbicida (Meriles *et al.*, 2006). No obstante, también se han identificado a algunas especies de hongos patógenos (*Pythium spp.* y *Fusarium spp.*) como los principales colonizadores de raíces de plantas anuales y perennes tratadas con glifosato (Lévesque *et al.*, 1993; Kawate *et al.*, 1997; Descalzo *et al.*, 1998). En condiciones de campo, si bien algunos estudios han descrito efectos pequeños o nulos del glifosato sobre la actividad microbiana (Ferreira *et al.*, 2006), otros han encontrado efectos considerables. Así, Wardle & Parkinson (1990) observaron que la presencia de glifosato en suelo se relacionó con incrementos temporales de poblaciones bacterianas con su concomitante aumento de actividad.

Otros estudios han documentado aumentos en la cantidad de hongos y bacterias cultivables (Roslycky, 1982), respiración del suelo (Haney *et al.*, 2000) y actividad enzimática del suelo (Gianfreda *et al.*, 1995) como consecuencia de la aplicación de diferentes concentraciones de glifosato. En un estudio realizado por Bórtoli *et al.* (2012) en suelos asociados a otro tipo de cultivo perenne (Olivo), se estudió el efecto a corto plazo de la aplicación de glifosato en situaciones distintas (suelos con aplicaciones previas de este herbicida y suelos sin aplicación previa) sobre las comunidades microbianas cultivables. En general, encontraron que el impacto del glifosato sobre la microbiota fue mucho más importante en el suelo sin historial de aplicación de herbicida. En ambos tratamientos, reportaron un mayor número de bacterias en los suelos tratados con glifosato respecto del control, mientras que el conteo de hongos, no presentó diferencias significativas. En el caso de los suelos vitícolas bajo estudio, los tratamientos que reciben el aporte de glifosato (labranza mínima y convencional) presentaron una carga bacteriana significativamente menor que los suelos del viñedo orgánico que no recibe aplicación del herbicida (Figura 8 B). Este hecho podría estar influenciado por el largo historial de aplicación del agroquímico. En relación a dichos resultados, otra posible explicación a la presencia de menor carga bacteriana cultivable en los suelos de manejos con labranza convencional y mínima, podría ser el efecto del hidróxido de cobre. Se sabe que esta sal a base de cobre, si bien tiene como función prevenir el ataque fúngico, también se ha determinado que en ocasiones actúa como bactericida (Pino *et al.*, 2013). Además, la acción fungicida/bactericida se incrementa en estos dos sistemas de manejo, ya que, para aumentar la eficiencia del producto, también se adiciona azufre (Tabla 1, Cap. II).

Como se ha mencionado anteriormente, no se encontraron diferencias significativas en el contenido de hongos filamentosos en los tres tratamientos bajo estudio (Figura 8 B). Dadas las características de los tres sistemas agrícolas bajo estudio, y las condiciones óptimas de desarrollo de los hongos, un resultado esperado, habría sido un incremento de estos microorganismos en los suelos asociados al manejo orgánico. Sin embargo, este indicador, únicamente está mostrando la abundancia de microorganismos cultivables, lo que podría sugerir, que en los suelos enmendados con restos vegetales, existe una importante microbiota fúngica no cultivable. En este sentido, si bien no existen trabajos donde se evalúe comunidades de hongos

cultivables en suelos de viñedos, se registran antecedentes en suelos bajo otro cultivo perenne del árido (*Olea europaea* L.) donde se reportan incrementos en la abundancia de hongos cultivables, producto de la incorporación de enmiendas en los suelos (Dermeche *et al.*, 2013; Proietti *et al.*, 2015). Si bien, en el presente trabajo, no se registraron diferencias a nivel de sitios, se encontró mayor abundancia de estos microorganismos en las interfilas del manejo orgánico, respecto de las filas del mismo (Figura 8 A). Este hecho podría explicarse por el efecto de la aplicación de enmienda en dicho micrositio (Tabla 1, Cap. II). Se sabe que los principales factores que influyen en las comunidades edáficas fúngicas son: el nivel y clase de materia orgánica, el pH, la aplicación de fertilizantes orgánicos e inorgánicos y el grado de humedad (Ferrera Cerrato *et al.*, 2001). En el caso particular del presente estudio, si bien se trata de suelos con escasa humedad natural, dadas las características climáticas, esta condición se revierte, dado que los suelos reciben el aporte continuo de agua por medio del sistema de riego. Los resultados parecen indicar que es el aporte de restos de material vegetal producto de la poda, lo que estaría determinando esta diferencia, ya que, en general, la incorporación de enmiendas provoca un aumento de la retención de agua del suelo (García Trujillo & Mudarra Prieto, 2015), y por ende, un incremento de la humedad, característica propicia para el desarrollo de comunidades fúngicas. En relación con esto, existen estudios de calidad de suelos de otro cultivo perenne del árido (Olivo), donde se registró una mayor abundancia significativa de hongos en la capa arable del suelo tratado con orujo. Este hecho, se asoció directamente con la demanda de oxígeno, debido a que en esta capa superficial, es donde se aporta más oxígeno por el movimiento del suelo (Di Serio *et al.*, 2008).

Con respecto al carbono de la biomasa microbiana (CBM), se encontró que fue significativamente mayor en los suelos con manejo orgánico del viñedo (Figura 9 B), donde también, se reportó la mayor abundancia de bacterias cultivables (Figura 8 B). En relación a esto, se sabe que el contenido de carbono procedente de la biomasa microbiana edáfica, está directamente relacionado con la actividad biológica activa del suelo, y aumenta conforme exista desarrollo microbiano (Badalucco *et al.*, 2010). Los resultados encontrados, concuerdan con el incremento de bacterias registrado en este tratamiento (Figura 8 B). En este sentido, Silveira (2005) afirma que, el aumento de la disponibilidad de nutrientes dado por la incorporación de materia

orgánica, promueve la proliferación microbiana, dando como resultado una correlación altamente positiva entre dicha variable físico-química y el CBM. Estos resultados coinciden con los encontrados en un estudio realizado en suelos de viñedos de La Rioja, zona semiárida de España; donde observó que el CBM fue significativamente menor en los suelos con labranza convencional, respecto de suelos con tratamiento de cobertura vegetal (Peregrina *et al.*, 2014).

A nivel de micrositio, se encontró que las interfilas del cultivo orgánico, presentaron mayores niveles de CBM (Figura 9 A), de MOS (Figura 2 A, Cap. III), de N (Figura 3 A, Cap. III) y de P (Figura 4 A, Cap. III), respecto de las filas. Esta variable tuvo el mismo comportamiento que los hongos cultivables (Figura 8 A), y, además, se encontró una correlación positiva entre dichos microorganismos y el CBM (Tabla 10). En este sentido, Nasser *et al.* (2013), reportaron que se especula que entre 3-8 kg de biomasa se desperdician anualmente en la poda estacional de la vid, dependiendo de la variedad, el tipo de suelo y la región. Estos residuos agrícolas, empleados con fines agronómicos (como es el caso del presente trabajo, donde se incorporan en las interfilas del viñedo orgánico) constituyen una fuente rica en carbohidratos, que actúa como sustrato y favorece la proliferación de la microbiota activa del suelo, lo que explicaría las razones por las cuales los valores de las variables microbiológicas y físico-químicas antes descritas, fueron mayores que en el resto de los micrositos bajo estudio.

En contraposición a los resultados encontrados en el tratamiento orgánico del viñedo, se observó que el contenido de CBM fue significativamente menor en los suelos asociados a los manejos con labranza convencional y mínima (Figura 9 B). Estos resultados podrían deberse a dos causas. Una de ellas, podría estar asociada a la aplicación de la enmienda, ya que ambos tratamientos, no reciben el aporte de restos de poda (Tabla 1, Cap. II), y esto podría traducirse en menor cantidad de sustrato para degradar. La otra causa, podría relacionarse con el efecto del tipo de fungicida preventivo aplicado. En los tratamientos con labranza mínima y convencional, se emplea hidróxido de cobre y azufre; mientras que en los suelos del orgánico, se aplica oxiclورو de cobre (Tabla 1, Cap. II). Como se mencionó anteriormente, el efecto fungicida sumado al bactericida que posee el hidróxido de cobre (a diferencia del oxiclورو de cobre) (Gallo Mendoza, 2006), podría traducirse

en una disminución tanto de la abundancia de hongos, como así también, de la carga bacteriana, afectando de esta manera a toda la biomasa microbiana activa de los suelos asociados a dichos manejos.

En plantas leñosas, la hemicelulosa es uno de los tres componentes principales de la pared celular, constituye un 33 % de la biomasa global de la planta; mientras que la celulosa comprende un 40 % y la lignina un 23 %. En herbáceas, el contenido de lignina es menor (entre 15 y 18 %) y contiene una mayor cantidad de ácidos esterificados, lo que la transforma en una molécula de mayor solubilidad. A diferencia de la celulosa, la hemicelulosa es químicamente compleja, agrupa a los heteropolisacáridos que incluyen los polímeros de xilosa (xilanos) (Loera Corral, 2002). Las xilanasas, enzimas hidrolíticas, participan en la ruptura de los enlaces glicosídicos β -1,4 en la hemicelulosa (Ponce & Pérez, 2002). En relación a dichas enzimas, se encontró que no presentaron diferencias significativas entre micrositios y entre tratamientos en general (Figuras 10 A y 10 B). Estos resultados se contraponen a los encontrados en un estudio realizado en suelos de viñedos orgánicos de Alemania, donde se encontró que las actividades de estas enzimas fueron significativamente mayores en los suelos de las interfilas del cultivo, donde los valores de C orgánico fueron mayores. En general, estos autores observaron que donde había bajo contenido de C, la actividad de la enzima xilanasas también era baja. Ellos concluyeron que estos resultados sugieren una limitación debido al sustrato, ya que la xilanasas degrada la hemicelulosa (Mackie *et al.*, 2013). El ACP muestra que la actividad xilanolítica se asoció mayormente a los suelos del tratamiento con labranza mínima (Figura 17), y en la Figura 9 B también puede observarse que, pese a que no hubo apoyo estadístico, los valores de dicha actividad fueron mayores en este sistema de labranza. En este sentido, podría decirse que, pese a que este tipo de manejo emplea herbicida (Tabla 1, Cap. II), el efecto de la labranza reducida, podría permitir el desarrollo de ciertas herbáceas que estarían aportando sustrato para degradar.

La determinación de la actividad celulolítica en suelos, se fundamenta en la valoración de azúcares reductores generados a partir de la hidrólisis de enlaces glucosídicos β -1,4 del interior de las moléculas cristalinas de celulosa (García-Izquierdo *et al.*, 2003). Los resultados muestran que dicha actividad enzimática, fue

significativamente mayor en los suelos con manejo orgánico del viñedo (Figura 11 B); y, a nivel de micrositio, se encontraron mayores valores en las interfilas de dicho sistema agrícola (Figura 11 A). La mayor actividad registrada en estos suelos donde se aplican los restos de poda, podría deberse a que el movimiento del suelo, dado por el proceso de incorporación de la enmienda por medio de la rastra de disco (Tabla 1, Cap. II), incrementa la superficie de contacto entre los complejos enzimáticos y los sustratos disponibles presentes en dicha enmienda (Odum *et al.*, 2003). Estos resultados son comparables con los reportados en un trabajo realizado en suelos asociados a otro cultivo perenne (*Olea europaea* L.), donde se encontró que la aplicación de enmienda orgánica en los suelos, incrementó los niveles de actividad celulolítica. Concluyeron que el empleo de la enmienda, estimula la proliferación microbiana, incrementando las actividades asociadas al sustrato (Mekki *et al.*, 2006). En este sentido, la incorporación de restos de poda a los suelos del viñedo orgánico, estaría promoviendo la producción de enzimas celulolíticas por parte de la microbiota del suelo, debido a que, como se mencionó anteriormente, este tipo de biomasa leñosa, presenta entre 55-65 % de celulosa, lo que se traduce en sustrato degradable para los microorganismos habitantes del suelo (Fernández, 2006). El ACP, muestra una estrecha asociación entre el tratamiento orgánico y la actividad celulolítica, mientras que en los suelos del viñedo con labranza mínima, la asociación es menor, y en el tratamiento convencional, es prácticamente nula (Figura 17). En relación a esto, Bohorquez & Pérez (2007), argumentaron que los suelos agrícolas que reciben el aporte de restos vegetales, estimulan a la microbiota edáfica a la expresión o secreción de mayores niveles de enzima celulasa, incrementando la actividad, ya que la mayor parte del residuo vegetal que pasa a formar parte del suelo es de naturaleza celulósica. Esto explicaría el por qué de los niveles menores de dicha actividad enzimática registrados en los tratamientos con labranza mínima y convencional (Figura 11 B). Sin embargo, la bibliografía indica que son diversos los factores que pueden ocasionar variaciones en los niveles de actividad enzimática en los suelos (Duza & Mastan, 2013). En relación con esto, en el caso de los suelos con laboreo mínimo y convencional, otra causa que podría explicar los niveles menores de actividad celulolítica (Figura 11 B), podría ser el efecto causado por el aporte de agroquímicos (Tabla 1, Cap. II): éstos podrían actuar sobre las moléculas enzimáticas, inactivándolas.

Los microorganismos amilolíticos utilizan enzimas reductoras (comúnmente α y β -amilasas) para degradar el almidón, polímero compuesto por amilosa y amilopectina (de Cary & Angulo 2006). Respecto de dichas enzimas, se encontró que su actividad fue significativamente mayor en los suelos asociados a labranza mínima del viñedo (Figura 12 B). Estos resultados pondrían en evidencia que la actividad de este complejo enzimático, relacionada con la degradación del almidón, se ve favorecida por la no remoción de la capa superficial del suelo. En relación a esto, no existen antecedentes que reporten efectos del laboreo sobre actividades amilolíticas, específicamente en suelos con cultivos perennes. Alvear *et al.* (2006), estudiaron efectos del empleo de la labranza mínima en el tiempo (4, 7 y 20 años) sobre actividades amilolíticas de suelos del árido de Chile sometidos a cultivos anuales. Ellos encontraron que en los suelos con mayor cantidad de años de empleo del sistema de manejo, la actividad enzimática presentó mayores valores. Argumentaron que con el paso del tiempo, se acumula mayor cantidad de MOS en los primeros cm del perfil y que, debido a que las actividades biológicas dependen de las fuentes de C lábil, se traduce en incrementos en dicha actividad enzimática.

El ACP, muestra una asociación entre la actividad celulolítica y las interfilas del tratamiento orgánico del viñedo (Figura 17). Estos resultados podrían compararse con estudios realizados por Vega *et al.* (2010), en el monte nativo de San Juan, donde se evaluaron indicadores de calidad de suelos asociados a parches de vegetación (plantas nativas perennes) e interparches (suelo desnudo). Se encontró que los microorganismos asociados a los suelos de las especies perennes, fueron significativamente más abundantes y presentaron mayor actividad celulasa, respecto de los interparches. Concluyeron que los suelos de los parches, se comportan como *islas de fertilidad* (Aguiar & Sala, 1999) donde la disponibilidad de nutrientes y sustrato para degradar, es mayor que en los suelos desnudos. En este sentido, observando la Figura 7 (Cap. III) donde el ACP muestra una importante asociación entre las interfilas del tratamiento orgánico con la MOS, el N y el P, podría decirse que este micrositio, se comporta como una entidad comparable con una *isla de fertilidad*, donde la incorporación al suelo de los restos de poda, promovería el desarrollo de microorganismos relacionados al ciclaje de nutrientes, con capacidad para degradar compuestos celulósicos.

Las enzimas β -Glucosidasas junto con las endoglucanasas y exoglucanasas, intervienen en la degradación de celulosa en el suelo. Las β -Glucosidasas son las más abundantes y fáciles de detectar (Gutiérrez *et al.*, 2008), y su función es catalizar la hidrólisis de β -D-glucósidos, dando como producto glucosa, que es una fuente importante de energía para los microorganismos del suelo (Tabatabai, 1982). La Figura 13 B muestra que los valores de la actividad de dicha enzima, fueron significativamente mayores en los suelos del manejo orgánico del viñedo. A nivel de micrositio, se encontró que en las interfilas del tratamiento orgánico hubieron diferencias significativas respecto de las filas de dicho manejo (Figura 13 A). Estos resultados son similares a los expuestos anteriormente en relación a la actividad de las celulasas. Esta afirmación se corrobora en la Tabla 10, donde puede observarse una correlación positiva entre la actividad de ambas enzimas (β -Glucosidasas y celulasas). En relación a esto, se sabe que la actividad de las primeras, está directamente relacionada con la de las amilasas y celulasas, dado que los productos de estas dos últimas enzimas, sirven como sustrato para las β -Glucosidasas. En conjunto, estas enzimas participan en el proceso de descomposición de la materia orgánica, por lo que sus actividades están relacionadas, y en algunas ocasiones son sinérgicas entre sí (Alvear *et al.*, 2007).

Otros antecedentes de estudios realizados en viñedos de España, reportaron resultados similares a los encontrados en el presente trabajo. Encontraron que en los suelos con tratamiento orgánico (cubiertas vegetales), las actividades de las enzimas β -Glucosidasas fueron significativamente mayores que en los suelos con tratamiento convencional. Ellos asociaron dicho incremento, al mayor contenido de materiales ricos en celulosa aportados por los restos de la cubierta vegetal (Peregrina *et al.*, 2012). Si bien el tratamiento orgánico estudiado por los autores anteriormente mencionados es diferente al del presente estudio, tanto las cubiertas vegetales como los restos de poda, constituyen una fuente de celulosa para el suelo. En relación a los efectos del empleo de enmiendas en suelos vitícolas, Peregrina *et al.*, (2014), encontraron que en el viñedo con tratamiento orgánico, los valores de CBM y actividades de las β -Glucosidasas, fueron significativamente mayores que los suelos con sistema de labranza tradicional. Además, reportaron una correlación positiva entre dichas variables. Concluyeron que la incorporación de enmienda al viñedo, constituye una fuente de materia orgánica para la proliferación de

microorganismos productores de estas enzimas. Estos resultados son similares a los del presente trabajo, ya que también se encontró una correlación positiva entre la actividad de las β -Glucosidasas y el CBM (Tabla 10). Además, el ACP muestra asociación entre dichas variables y las interfilas del tratamiento orgánico (Figura 17). Las fosfatasas son enzimas que actúan como catalizadores en la reacción de hidrólisis de monoésterfosfatos orgánicos a fósforo inorgánico, quedando así el fósforo disponible para los vegetales (Andrić *et al.*, 2010). Se clasifican, según el medio en el que se encuentran, en alcalinas y ácidas (Alvear *et al.*, 2006). En el presente estudio, las actividades de dichas enzimas fosfomonoesterasas, presentaron un comportamiento similar, fueron significativamente mayores en los suelos del manejo con labranza orgánica del cultivo (Figuras 14 B y 15 B). A nivel de micrositio, se observó que en las interfilas del manejo con labranza orgánica, hubieron diferencias significativas respecto de las filas de dicho manejo (Figuras 14 A y 15 A). Estas actividades enzimáticas presentaron un patrón de comportamiento similar al de la actividad β -Glucosidasa. En relación a esto, Böhme & Böhme (2006) también informaron que la adición de estiércol al suelo sirvió como fuente de C, ocasionando incremento en la biomasa microbiana y en la actividad de las fosfatasas. Resultados similares fueron reportados por Okur *et al.* (2009) en análisis de suelos de Turquía, cultivados con *Vitis vinifera* L., bajo tratamientos convencional y orgánico (con aplicación de estiércol). Encontraron mayores niveles de las enzimas fosfatasas ácidas y alcalinas en los suelos orgánicos del viñedo, y argumentaron que el incremento en la actividad de dichas enzimas, es un indicador del efecto del aumento del C orgánico y su influencia sobre la abundancia y la actividad metabólica de los microorganismos del suelo. Además, a diferencia de los resultados encontrados en el presente trabajo (Tabla 10), ellos reportaron una correlación altamente significativa entre las actividades de dichas enzimas y el CBM. Este resultado, lo atribuyeron al origen de estas enzimas, ya que se sabe que debido a que las plantas superiores están desprovistas de fosfatasa, la fosfatasa alcalina parece derivar totalmente de los microorganismos (Kramer & Green 2002).

Las Figuras 14 B y 15 B muestran también, que dichas actividades relacionadas con el ciclo del P, fueron significativamente menores en los suelos con labranza mínima y convencional del viñedo, lo que pondría en evidencia, el efecto negativo del empleo de herbicidas y/o fertilizantes (característica que tienen en común ambos

manejos agrícolas) (Tabla 1, Cap. II). En este sentido, si bien, no existen antecedentes del efecto de los herbicidas sobre las actividades de las enzimas fosfatasas en suelos vitícolas, la bibliografía pone de manifiesto que el empleo de estos productos químicos, ocasiona perturbaciones en las comunidades microbianas edáficas de los agroecosistemas (Araujo *et al.*, 2003; Conde, 2011). La entrada continua del herbicida en el ecosistema del suelo, puede afectar la abundancia de los microorganismos y su actividad enzimática, ocasionando modificaciones en los procesos ecosistémicos (Alvear *et al.*, 2006; Cycoñ *et al.*, 2010). En relación al efecto del empleo de fertilizantes, Cavani *et al.* (2016), reportaron menores niveles de actividad de las enzimas fosfatasas ácidas y alcalinas en los suelos vitícolas con tratamiento convencional, respecto de suelos de viñedos convertidos en áreas protegidas (“re-naturalizadas”), y lo explicaron como una respuesta negativa a la fertilización inorgánica.

En un estudio realizado en suelos de ambientes áridos, escasos de materia orgánica, se evaluó el efecto de la labranza tradicional en diferentes cultivos del Mediterráneo, sobre propiedades bioquímicas relacionadas con la actividad microbiana. Encontraron, al igual que en el presente trabajo, una disminución en la actividad de diferentes enzimas, entre ellas, de las fosfatasas en los suelos con tratamiento convencional, respecto de los suelos bajo cubierta de hierba. Determinaron que las actividades fosfatasas, representaron uno de los indicadores más sensibles al efecto de labranza. Además, encontraron que en los suelos con laboreo tradicional, la actividad deshidrogenasa y la MOS fueron significativamente menores. En función de estos resultados, los autores manifestaron que las prácticas de manejo convencional de los cultivos, ocasionan una reducción en el metabolismo de los suelos agrícolas (Caravaca *et al.*, 2002).

En la Tabla 10 se observa que todas las actividades enzimáticas, a excepción de las amilolíticas, presentaron al menos una correlación positiva entre sí. Estos resultados concuerdan con lo encontrados en un trabajo realizado en suelos del árido de Chile, sometidos a cultivos anuales tratados con labranza mínima, donde encontraron también correlación positiva entre todas las actividades de las enzimas estudiadas (fosfatasas, β -Glucosidasas, celulasas, proteasas, catalasas, deshidrogenasas, arilsulfatasas, ureasas e invertasas) (Alvear *et al.*, 2006). Estos

resultados son comparables también, a los reportados en otro estudio realizado en suelos cultivados con vid de Navarra, zona semiárida del NE de España, donde se estudiaron actividades enzimáticas de suelos bajo dos tratamientos: con cubiertas vegetales permanentes (PGC) y con manejo tradicional; y suelo desnudo con laboreo convencional. El análisis de correlaciones mostró una correlación positiva entre todas las actividades enzimáticas estudiadas (deshidrogenasa, β -Glucosidasa, ureasa, fosfatasa alcalina y arilsulfatasa). Encontraron que todas las actividades evaluadas (a excepción de la ureasa), fueron significativamente menores en los suelos sometidos a laboreo, respecto de los suelos con tratamiento orgánico. Ellos concluyeron que el manejo convencional del viñedo, aumenta los riesgos de erosión y disminuye la actividad biológica de los suelos (Virto *et al.*, 2012). En contraposición a lo reportado en suelos con sistema tradicional del viñedo, se han observado pérdidas mínimas por erosión en suelos vitícolas donde se emplean técnicas de manejo del suelo asociadas a la reducción de la perturbación del mismo (Shepard, 2006; Ruiz-Colmenero *et al.*, 2011). En cultivos del árido, existen antecedentes donde se asocia a la labranza mínima con una mayor actividad biológica del suelo (Ros *et al.*, 2009), ya que dicha práctica aumenta el contenido de C orgánico, reduce la evaporación y suprime los disturbios inducidos por la labranza. Esto es de suma importancia en tierras áridas, como las del presente trabajo, donde los suelos son pobres en materia orgánica y el clima favorece la rápida mineralización de los residuos de cultivos (Raich & Schlesinger, 1992).

Los resultados muestran que ciertas actividades enzimáticas presentaron los valores más bajos en los suelos de viñedos con labranza convencional y mínima. Las actividades celulolíticas y amilolíticas (Figuras 11 B y 12 B) presentaron valores significativamente menores en los suelos con manejo tradicional. La actividad de las enzimas β -Glucosidasas fue significativamente menor en los suelos del sistema con labranza mínima (Figura 12 B). Las actividades de las enzimas fosfatasas ácidas y alcalinas (Figuras 14 B y 15 B) presentaron niveles significativamente menores en los suelos con laboreo mínimo y labranza tradicional. Dicha tendencia observada (valores menores de actividades enzimáticas en suelos con labranza mínima y convencional) podría responder a los efectos de los agroquímicos, ya que, estos dos manejos, a diferencias del sistema de labranza orgánica, reciben el aporte de herbicidas, fungicidas y fertilizantes (Tabla 1, Cap. II). Diversos estudios sobre la actividad de las enzimas extracelulares en diferentes ecosistemas, han mostrado

que los productos químicos utilizados en agricultura (fertilizantes, pesticidas, herbicidas) tienen una influencia muy marcada sobre las enzimas del suelo (Tabatabai, 1994; Alvear *et al.*, 2006). En relación a esto, existen antecedentes que confirman esta afirmación, es decir que el empleo de fertilizantes inorgánicos, inhibe la síntesis enzimática en el suelo (Dick, 1992; Olander & Vitousek, 2000). Sin embargo, los resultados obtenidos por diferentes investigadores son contradictorios. Hay autores que afirman que el uso de fertilizantes orgánicos aumenta la actividad bioquímica del suelo, debido al aporte de materiales orgánicos y por ende, de biomasa microbiana (Dick *et al.*, 1988; Jenkinson, 1990), mientras que otros afirman que la actividad disminuye, particularmente cuando se utiliza estiércol de mala calidad (Schipper & Sparling, 2000).

En relación al efecto del laboreo sobre la actividad enzimática, también existen contradicciones. Varios autores han señalado que el arado causa un aumento en la actividad bioquímica de los suelos agrícolas, debido a que la aireación de los suelos favorece a los microorganismos aerobios; mientras que otros, han reportado una disminución en las actividades de las enzimas debido a la disminución del contenido de materia orgánica ($p < 0,05$) como resultado de la mezcla de horizontes que ocasiona el arado (Dick, 1996). Algunos autores han indicado que el uso de maquinaria agrícola pesada, provoca compactación edáfica, lo que ocasiona una disminución de la actividad bioquímica del suelo (Nuñez-Regueira *et al.*, 2006; Zinn *et al.*, 2002); mientras que otros han reportado que la actividad enzimática se incrementa debido al contacto más estrecho entre los microorganismos y la materia orgánica como resultado de la compactación (Trasar Cepeda *et al.*, 2008). Estas contradicciones mencionadas anteriormente, en relación a los efectos de los agroquímicos y de la labranza sobre las propiedades bioquímicas y microbiológicas de los suelos agrícolas, podrían estar asociadas a que los estudios se llevan a cabo en diferentes tipos de suelos y/o zonas geográficas, donde las propiedades físico-químicas difieren y pueden influir en los resultados. Además, dentro de lo que se conoce como “prácticas agrícolas sustentables en viñedos”, existen muchas variantes. La mayoría de los antecedentes de estudios de viñedos orgánicos mencionados en este trabajo, representan tratamientos donde además de aplicar la enmienda y reducir el empleo de agroquímicos, también emplean labranza mínima. Ésta última característica difiere del tratamiento orgánico del presente trabajo, donde

si bien, se emplean los restos de poda y sólo se aplica un fungicida preventivo, se lleva a cabo la práctica de labranza tradicional (Tabla I, Cap. II). Por otra parte, cuando se habla de tratamiento con labranza mínima, en general, los antecedentes hablan de suelos donde a demás del laboreo reducido, tampoco se emplean agroquímicos; característica que también difiere en el sistema de labranza mínima estudiado en el presente trabajo (Tabla I, Cap. II). Por todos estos motivos manifestados (diferencias en cuanto a propiedades físico-químicas del suelo, clima, áreas geográficas, características de los manejos agrícolas empleados) podrían diferir los resultados encontrados en los diferentes estudios vinculados a la actividad de la microbiota asociada a suelos vitícolas del mundo.

Existen múltiples estudios de la microbiota no cultivable de suelos, sin embargo, dado que es muy difícil determinar la estructura de las comunidades microbianas edáficas debido a que las mismas responden a factores diversos como los ambientales, antrópicos y relativos a las propiedades físico-químicas del suelo, aún queda mucho por desentrañar en relación a este tema (Frujita *et al.*, 2010).

En el presente trabajo, se realizó una aproximación al estudio de las perturbaciones en las comunidades bacterianas cultivables y no cultivables en los suelos vitícolas del árido de San Juan. La Figura 16 muestra un dendrograma con los perfiles ARDRA, donde se observa la separación de dos grupos: uno representado por las muestras de suelo del viñedo orgánico (Grupo I), y el otro, representado por las muestras de suelo asociadas a los sistemas de manejo agrícola con labranza convencional y mínima (Grupo II). El bajo porcentaje de similaridad (15 %) entre los dos grupos, pone en evidencia la clara diferenciación existente entre la estructura de las comunidades bacterianas que representa cada uno de ellos. Estos resultados arrojados por el análisis ARDRA, indicarían que existen ciertas características similares en los sistemas de manejo con laboreo mínimo y tradicional que permiten agrupar comunidades bacterianas. Si bien estos dos tratamientos difieren en la intensidad del laboreo, son similares en cuanto al tipo de fertilización empleada, característica que podría ser determinante en la estructura de las comunidades bacterianas en dichos suelos. En relación a esto, Fierer *et al.*, 2012 realizaron estudios moleculares de suelo con el fin de determinar cómo responden la comunidades microbianas a la aplicación de NH_4NO_3 por períodos prolongados, en

suelos con características contrastantes (pastizales y monocultivo). Determinaron que si bien la fertilización con N no tuvo efecto sobre la diversidad, sí alteró la composición de las comunidades microbianas en ambos sitios. Este hecho pondría en evidencia que la aplicación de fertilizantes en sistemas agrícolas impacta en la dinámica microbiana del ecosistema suelo (Correa, 2016).

Por otra parte, los resultados del presente estudio sugieren también, que la incorporación de la enmienda y el hecho de no recibir el aporte de agroquímicos, estarían generando cambios en la estructura funcional de las comunidades procariontes del suelo del viñedo orgánico, respecto de los otros tratamientos (Grupo I). En relación con esto, en un estudio realizado en suelos de otro tipo de cultivo (sorgo), se observó que la aplicación de enmienda orgánica (compost de restos vegetales) incrementó la riqueza y abundancia de microorganismos procariontes, respecto del tratamiento de fertilización nitrogenada (urea) (Lavecchia *et al.*, 2015). En relación a lo mencionado anteriormente, Cederlund *et al.* (2014), afirmaron que todas las prácticas agrícolas que impactan sobre la materia orgánica del suelo (en el caso del presente estudio, la incorporación de restos de poda) pueden alterar la estructura de la comunidad microbiana indígena del suelo, afectando más a las bacterias que a los hongos.

En este sentido, Burns *et al.* (2014) estudiaron diferentes propiedades de suelos de viñedos de distintas regiones de California, bajo sistemas de labranza convencional y orgánica (con diferentes tipos de cultivos de cobertura) con un objetivo similar al del presente trabajo, determinar el efecto del manejo sobre las comunidades microbianas. Reportaron que el sistema convencional de *Vitis vinifera* L., afectó a las comunidades microbianas (bacterias y hongos) tanto en términos de diversidad como de estructura (grupos funcionales). Determinaron también, que el impacto de la gestión convencional versus orgánica sobre la composición de la comunidad bacteriana no fue visible a nivel de Phylum, pero en cada nivel taxonómico más fino, encontraron emergencia de nuevos taxones diferentes para cada uno de los dos sistemas vitícolas. Dado que el estudio se llevó a cabo en distintas regiones, determinaron que las diferencias en cuanto a tipo de suelo y clima, y al tipo de cultivo de cobertura empleado, también pudieron influir en los resultados encontrados. Esto sugiere que existe una interacción entre el tipo de enmienda

orgánica aplicada, los recursos del suelo y las comunidades microbianas edáficas. Bevivino *et al.*, 2014, también estudiaron el efecto del manejo agrícola sobre las comunidades bacterianas de suelos del Mediterráneo sometidos a diferentes impactos antropogénicos: viñedos (manejo convencional) en comparación con suelos prístinos. Encontraron que los suelos sin intervención antrópica, mostraron una comunidad bacteriana más estable que aquellos con alto impacto humano. Determinaron que el manejo de los suelos, afecta la composición química y estructural de las fracciones más estabilizadas de materia orgánica del suelo y reduce las reservas de C del suelo y la materia orgánica lábil. El análisis de DGGE mostró una distribución diferente de las poblaciones bacterianas del suelo con subgrupos asociados a los diferentes usos del suelo (con y sin intervención antrópica). Los suelos prístinos mostraron una comunidad bacteriana más estable que aquellos con impacto antropogénico. El análisis filogenético reveló diferencias en la composición de la clase en cada uno de los sitios, lo que sugiere que la composición microbiana cambia en respuesta al manejo del suelo. Estos resultados ponen en evidencia los efectos de la actividad antrópica sobre la microbiota edáfica. En este sentido, según los resultados arrojados por el análisis ARDRA (Figura 16), se podría inferir que la intervención antrópica en los suelos del viñedo orgánico tendría una repercusión diferente a la de los restantes tratamientos. Por un lado, la tarea de labranza, parecería no influir en esta diferenciación, ya que el dendrograma, agrupa los suelos de viñedos con diferentes intensidades de labranza (mínima y convencional), y, por otra parte, separa al tratamiento orgánico, que también recibe laboreo (al igual que el viñedo convencional). En este contexto, el análisis ARDRA indicaría que la actividad antrópica asociada a la no aplicación de agroquímicos y a la incorporación de restos de poda, serían los factores más influyentes en la separación de los tratamientos.

Diversos estudios moleculares en suelos vitícolas, persiguen analizar otras características del manejo agrícola, más allá del impacto del laboreo; como son los efectos de los agroquímicos empleados sobre la microbiota edáfica. En relación a esto, Dell' Amico *et al.* (2008) estudiaron los efectos de la contaminación a largo plazo del Cu en la diversidad de las comunidades bacterianas en suelos de viñedos de Italia, con diferentes niveles de concentración del metal. El índice de similitud de Sorensen calculado sobre los perfiles DGGE del ADNr 16S de comunidades

bacterianas totales indicó una composición de especies diferente en los dos sitios, aunque ambos sitios tuvieron el mismo grado de biodiversidad y dominancia diferente.

En el caso particular del presente trabajo, el dendrograma (Figura 16) agrupó los suelos que reciben aporte de hidróxido de cobre y azufre (viñedos con labranza mínima y convencional) y los separó del orgánico, que recibe únicamente el fungicida preventivo (Oxicloruro de Cu) (Tabla 1, Cap. II).

CAPÍTULO V:

“Interacciones entre indicadores físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos de calidad de suelos de viñedos bajo diferentes manejos agrícolas”

I. INTRODUCCIÓN

La evaluación de la calidad de un suelo involucra los componentes físicos, químicos, biológicos y las interacciones entre las variables mencionadas. Los tres atributos tienen una estrecha relación entre sí y participan de manera activa en la producción y la estabilidad de los agroecosistemas (Turbé *et al.*, 2010). Por ello, con el fin de captar la naturaleza holística de la calidad o salud del suelo, se hace necesario medir y establecer relaciones entre todos estos parámetros. Sin embargo, no todos los parámetros tienen la misma relevancia para todos los tipos de suelos, o situaciones.

Numerosos estudios se enfocan en la selección de un grupo de indicadores para evaluar la calidad agrícola del suelo (Peregrina *et al.*, 2012; Virto *et al.*, 2012; López-Piñeiro *et al.*, 2013; Calleja Cervantes *et al.*, 2015; Paz-Ferreiro *et al.*, 2016; Salomé *et al.*, 2016). Este grupo de parámetros se utiliza como un instrumento de análisis para detectar la tendencia o dirección general de la calidad del suelo, es decir, si los actuales sistemas de manejo apuntan a la conservación, la mejora o la degradación del suelo (Doran, 1999; García *et al.*, 2012).

A partir del siglo XXI, ha habido una tendencia creciente en las publicaciones basadas en el uso de propiedades biológicas y bioquímicas en la evaluación de la calidad del suelo debido a la alta sensibilidad de estas propiedades (Trasar-Cepeda *et al.*, 1998, Caldwell *et al.*, 1999, Badiane *et al.*, 2001, Filip, 2002, Salamanca *et al.*, 2002, Wick *et al.*, 2002; Ruf *et al.*, 2003; Bastida *et al.*, 2008; Morugan-Coronado *et al.*, 2013; Paz-Ferreiro *et al.*, 2016; Conradie, 2017).

Varios autores sostienen que deberían seleccionarse y cuantificarse un número mínimo de características de suelo con el fin de evaluar la calidad (Larson & Pierce, 1994; Govaerts *et al.*, 2006; Calleja Cervantes *et al.*, 2015; Paz-Ferreiro *et al.*, 2016). En este sentido, se han propuesto diferentes características de suelo que incluyen propiedades tales como: MOS, capacidad de infiltración, estabilidad de los agregados, sellado superficial, porosidad, pH, densidad aparente, resistencia a la penetración, salinidad, textura, capacidad de almacenamiento de agua, N, P disponible, CBM y respiración del suelo; que en su conjunto, permiten dar una idea global de la calidad de un suelo (Karlen & Stott, 1994; Doran & Parkin, 1996; Aparicio & Costa, 2007). Dada la multiplicidad de variables que se han considerado

como indicadores de calidad de suelos, se hace imprescindible el uso de metodologías que permitan identificar las que tengan mayor incidencia (Quiroga & Funaro, 2003). Un mejor conocimiento del proceso suelo-ecosistema, necesita de la evaluación de varias propiedades y de herramientas analíticas multivariadas (Sena *et al.*, 2002). Los métodos de estadística multivariada tienen en cuenta las correlaciones entre numerosas variables que se analizan simultáneamente, de tal modo que permiten sintetizar e interpretar la información. La utilización de la técnica estadística multivariada de análisis de componentes principales (ACP), ha hecho posible la resolución de numerosos problemas como por ejemplo la determinación de propiedades discriminantes de manejo en suelos semiáridos (Quiroga *et al.*, 1998), la evaluación de los impactos de la labranza sobre la calidad del suelo (Wander & Bollero, 1999), la relación de la compactabilidad del suelo con las propiedades físicas y biológicas (Ball *et al.*, 2000; Campitelli *et al.*, 2010).

Diversos trabajos realizados en áreas cultivadas con *Vitis vinifera* L. persiguen el estudio de diferentes tipos de indicadores físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos para caracterizar los suelos. En relación a esto, Burns *et al.* (2015), determinaron mediante técnicas moleculares, evaluación de pH, de MOS y de la relación C/N, los factores que determinan la estructura de las comunidades microbianas en los suelos de viñedos. Otros autores, han evaluado valores de pH, CE, MOS, macronutrientes y actividades enzimáticas asociadas a los ciclos del C y del P, con el fin de determinar el efecto a largo plazo de la incorporación de desechos orgánicos en los suelos cultivados con vid (Calleja-Cervantes *et al.*, 2015). Por otra parte, diversos trabajos estudian propiedades bioquímicas, como las actividades enzimáticas y el CBM y propiedades físico-químicas, como el contenido de C orgánico y de N, para determinar los efectos de la contaminación con Cu en la calidad del suelo vitícola (Fernández-Calviño *et al.*, 2010; Komárek *et al.*, 2010; Cavani *et al.*, 2016).

Si bien, como se ha mencionado anteriormente, existen numerosos trabajos donde se estudian diferentes indicadores de calidad de suelos en viñedos, no se registran antecedentes donde se estudien efectos de las distintas variantes de manejo agronómico de *Vitis vinifera* L., sobre parámetros físico-químicos, bioquímicos, microbiológicos y moleculares de calidad del suelo vitícola. Por este motivo, el

presente trabajo persigue dar una visión global del impacto que pueden ejercer las distintas prácticas llevadas a cabo por cada uno de los manejos agrícolas propuestos, sobre la calidad de suelos de viñedos de zonas áridas de San Juan.

II. RESULTADOS

2.1 Análisis de correlación entre los indicadores físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos de suelos de viñedos

La Tabla 13 muestra un análisis de correlación entre todas las variables físico-químicas, bioquímicas y microbiológicas (a excepción del estudio molecular), sin tener en cuenta los factores propuestos (tipos de manejos agrícolas y micrositios); a fin de poder visualizar el comportamiento de las variables en general y sus relaciones entre sí, independientemente del tratamiento y los micrositios muestreados. En general, se encontró que todas las asociaciones lineales fueron positivas.

Los resultados muestran que el pH correlacionó significativamente con las actividades de las enzimas β -Glucosidasas y fosfatasas.

La MOS correlacionó significativamente con la abundancia de hongos cultivables y con las actividades de las enzimas celulasas, amilasas, β -Glucosidasas y fosfatasas. El contenido de N se correlacionó significativamente con la abundancia de hongos y la actividad celulolítica. El P correlacionó significativamente con las variables: abundancia de hongos, CBM y con la actividad de las enzimas fosfatasas. Por otra parte, tanto el K como el Cu, se correlacionaron significativamente con las actividades xilanolíticas y amilolíticas.

	Bacterias (UFC g suelo ⁻¹)	Hongos (UFC g suelo ⁻¹)	CBM (ppm)	XI (mg-at g ⁻¹)	Ce (mg-at g ⁻¹)	Am (mg-at g ⁻¹)	β-GI (μg PNF g/mL)	FÁc (μg PNF g/mL)	FAI (μg PNF g/mL)
pH	0,23	0,81	0,05	0,45	0,64	0,65	**	*	*
MOS (%)	0,26	**	0,79	0,76	**	*	*	*	*
N (ppm)	0,11	*	0,20	0,89	*	0,05	0,71	0,96	0,67
P (ppm)	0,05	*	*	0,63	0,14	0,17	0,51	*	*
K (ppm)	0,32	0,23	0,45	*	0,07	*	0,37	0,71	0,87
Cu (mg Kg ⁻¹)	0,16	0,28	0,67	*	0,16	*	0,37	0,56	0,97

Tabla 13. Correlación entre los indicadores físico-químicos y microbiológicos de calidad de suelos de viñedos con labranza mínima, convencional y orgánica. Se representan los valores de p. Significancia (*: p < 0,05; **: p < 0,01; ***: p < 0,001).

2.2 Análisis Multivariado

Con el fin de determinar la relación existente entre las variables en general, y además, visualizar de qué manera los parámetros bajo estudio se asociaron a los distintos tratamientos, se llevó a cabo un Análisis de Componentes Principales (ACP).

En la Tabla 14 se pueden observar los autovalores asociados a cada autovector (existen tantos autovectores como componentes principales se hayan seleccionado para el análisis). Los resultados señalan que las dos primeras componentes permiten explicar el 100% de la variación total.

Autovalores			
Lambda	Valor	Proporción	Proporción Acumulada
1	8,74	0,58	0,58
2	6,26	0,42	1
3	0	0	1
4	0	0	1
5	0	0	1
6	0	0	1
7	0	0	1
8	0	0	1
9	0	0	1
10	0	0	1
11	0	0	1
12	0	0	1
13	0	0	1
14	0	0	1
15	0	0	1

Tabla 14. Autovalores que representan la proporción de variabilidad total explicada por cada componente y la proporción de la variabilidad total explicada, en forma acumulada.

En la Tabla 15 se observan los autovectores (e1 y e2) reportados por el programa estadístico. Se muestran los coeficientes con que cada variable original fue ponderada para conformar las CP 1 y CP 2.

Variables	Autovectores	
	e1	e2
β-Gl	0,34	-0,03
CBM	0,34	0,01
FAI	0,34	0,03
N	0,34	-0,05
Hongos	0,33	-0,06
FÁc	0,32	0,12
Bacterias	0,29	0,2
MOS	0,28	-0,22
P	0,24	0,28
Ce	0,26	0,25
Xi	-0,01	0,4
Am	-0,04	0,4
Cu	-0,07	0,39
K	-0,09	0,38
pH	-0,14	0,36

Tabla 15. Autovectores resultantes del análisis de Componentes Principales.

Al construir la CP 1 (eje X), se encontró que las variables β-Glucosidasas, CBM, fosfatasas alcalinas, N, abundancia de hongos, fosfatasas ácidas, recibieron los pesos positivos más altos; mientras que, la abundancia de bacterias cultivables, la MOS, el P y las actividades celulolíticas, también presentaron valores positivos, pero inferiores a las variables anteriormente mencionadas. Por otra parte, el pH presentó el peso negativo más alto, mientras que, las variables K, Cu y actividades xilanolíticas y amilolíticas también presentaron pesos con coeficientes negativos, pero inferiores a los mencionados anteriormente (Tabla 15).

Este eje (CP 1), explica el 58 % de la variabilidad (Tabla 14).

La construcción de la CP 2 (eje Y), permitió visualizar que las actividades xilanólíticas y amilolíticas, el pH, el Cu y el K, recibieron los pesos positivos más altos, mientras que, el P, las actividades celulolíticas, la abundancia de bacterias cultivables, las actividades fosfatasas y el CBM también presentaron valores positivos, pero inferiores a las variables anteriormente mencionadas. Por otra parte, la MOS presentó el peso negativo más alto, mientras que, la actividad de la enzima β -Glucosidasa, el N y la abundancia de los hongos, también presentaron pesos con coeficiente negativo, pero inferiores a los anteriores (Tabla 15).

Esta componente (CP 2), explica el 42 % de la variabilidad (Tabla 14).

La Figura 18 muestra que la MOS, el contenido de N y P, la abundancia de microorganismos cultivables (bacterias y hongos), el CBM, y las actividades de las enzimas celulasas, β -Glucosidasas, fosfatasas ácidas y alcalinas, se asociaron a los suelos de viñedo con manejo orgánico del cultivo.

Se encontró también, que las actividades de las enzimas xilanasas y amilasas, y además, los valores de pH y el contenido de K y Cu, se asociaron principalmente a los suelos con labranza mínima del viñedo.

Por otra parte, separado del resto de los tratamientos, se observó que los suelos cultivados con *Vitis vinifera* L. bajo sistema de labranza convencional, no presentaron variables asociadas, es decir que, tanto indicadores físico-químicos como microbiológicos, tienen mayor peso en los otros tratamientos bajo estudio (labranza mínima y orgánica).

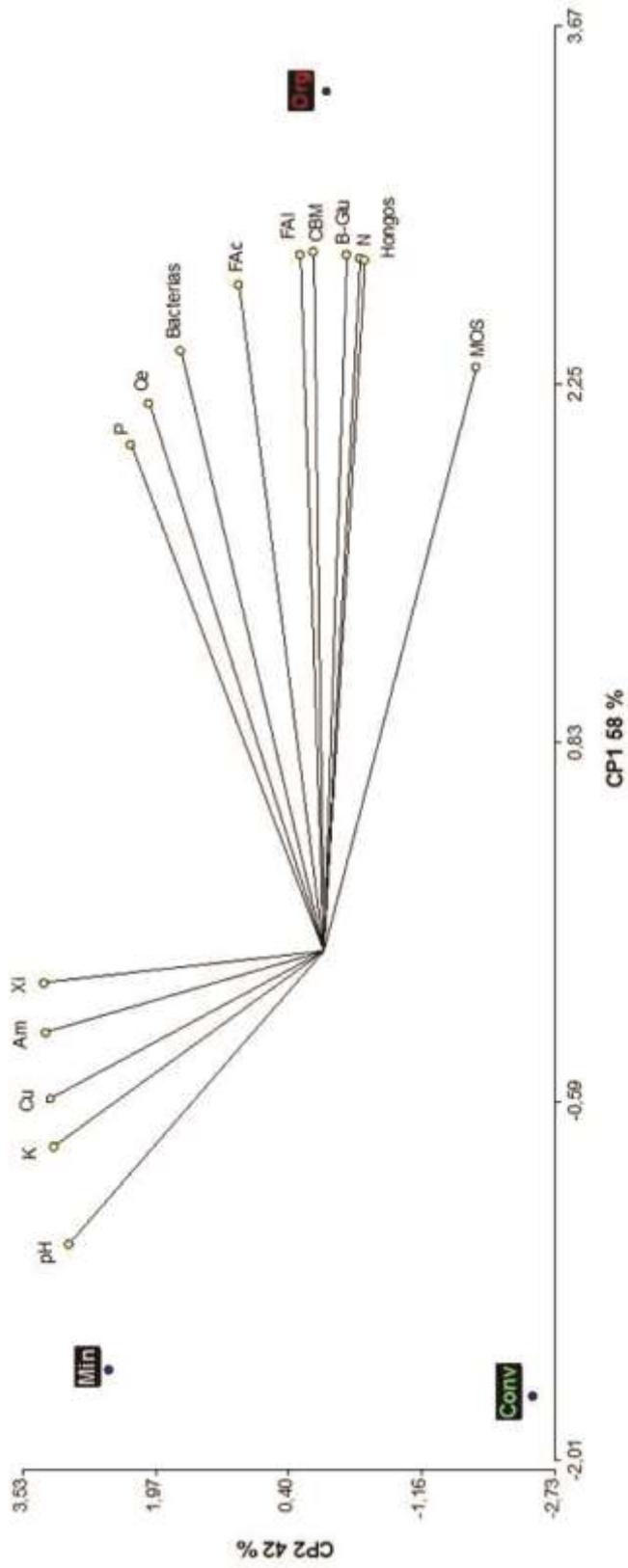


Figura 18. Análisis de componentes principales (ACP). Se representan indicadores microbiológicos y físico-químicos de suelos de *Vitis vinifera* L. bajo tres tratamientos: labranza mínima (Min), convencional (Conv) y orgánica (Org).

III. DISCUSIÓN

Los resultados muestran que, en general, sin tener en cuenta los tratamientos, todas las actividades enzimáticas, a excepción de las xilanasas, correlacionaron positivamente con la MOS (Tabla 13). Por otra parte, el ACP muestra que las actividades amilolíticas y xilanolíticas se asociaron principalmente a los suelos con labranza mínima, mientras que el resto de las actividades enzimáticas, se asociaron, junto con la MOS, al tratamiento orgánico (Figura 18). Estos resultados concuerdan con los encontrados en un estudio realizado en suelos de viñedos de Turquía, bajo sistemas de labranza convencional (con incorporación de pesticidas y fertilizantes) y orgánica (con aplicación de estiércol); donde se reportó una correlación altamente positiva entre las actividades enzimáticas evaluadas (dehidrogenasa, proteasa, ureasa y fosfatasa alcalina) y la MOS (Okur *et al.*, 2009). Dicha correlación se debe, probablemente, a los niveles más altos de C que sostienen una mayor biomasa y actividad microbiana.

Por otra parte, la Figura 18 muestra una asociación entre todas las actividades enzimáticas (a excepción de las amilolíticas y xilanolíticas) y el CBM, con los suelos del viñedo con labranza orgánica. Este hecho indicaría que la mayoría de las actividades enzimáticas bajo estudio, se asociaron con microorganismos activos en el suelo, que son la principal fuente de enzimas del mismo. Además, los mayores niveles de materia orgánica en estos suelos, proporcionan un mejor ambiente para estabilizar y proteger las enzimas extracelulares (Balota *et al.*, 2004).

El ACP muestra que la abundancia de bacterias y hongos cultivables y los contenidos de MOS, de N y de P; se asociaron a los suelos con manejo orgánico del viñedo (Figura 18). Además, se encontró una correlación positiva entre la MOS y la abundancia de hongos cultivables (Tabla 13). En los suelos vitícolas de San Juan, caracterizados por su bajo contenido en MOS, donde la agricultura intensiva se encuentra ampliamente difundida, los productores suelen agregar enmiendas orgánicas con el fin de restaurar el contenido de dicho parámetro físico-químico (Bastida *et al.*, 2009; Tejada *et al.*, 2009). En este sentido, la relación dada entre el N, el P y la MOS, tiene que ver con que la incorporación de la enmienda, se traduce en MO, y a su vez, constituye un fuente de nutrientes principales para el suelo.

En agricultura orgánica, se emplean diferentes tipos de enmiendas, y cada una de ellas, dependiendo de su naturaleza, causa efectos diferentes sobre las propiedades del suelo donde se aplica (Tamayo, 2013). En relación a esto, Abril *et al.*, 2014, realizaron ensayos a campo de aplicación de diferentes tipos de abonos orgánicos (estiércol, compost y vermicompost). Dichos abonos se aplicaron de forma incorporada y superficial (con y sin laboreo), en suelos cultivados de zonas áridas de Mendoza (similares a la del sitio de muestreo bajo estudio). Encontraron que todas las enmiendas aumentaron los niveles de MOS, y además, que la fracción humificada aumentó en el corto plazo con la aplicación superficial sin laboreo, por lo que concluyeron que en suelos del árido, es recomendable la aplicación de enmienda con laboreo mínimo para restaurar el contenido de MOS. A diferencia del tratamiento que consideraron óptimo en el trabajo mencionado anteriormente (incorporación del abono sin labranza), los suelos del viñedo orgánico bajo estudio, si bien reciben el aporte de la enmienda, también se caracterizan por presentar remoción a causa del laboreo (Tabla 1, Cap. II). Las condiciones de dicho manejo, pondrían en evidencia que el efecto dado por la incorporación de restos vegetales en las interfilas del viñedo orgánico, estaría minimizando los efectos negativos que podría ocasionar la labranza.

Valor & Sánchez (2013), estudiaron también, los efectos de la aplicación de diferentes tipos de enmiendas sobre propiedades físico-químicas de suelos de viñedos en Venezuela. De manera similar al tratamiento orgánico del presente trabajo, donde se incorporan restos de poda (Tabla 1, Cap. II), ellos evaluaron el efecto de la aplicación al suelo de dicha enmienda y de cuatro tratamientos más: orujo, sarmientos más orujo, estiércol de conejo y sarmientos más urea. Determinaron que los suelos tratados con restos de sarmientos más orujo, presentaron un % mayor de N, K y MOS. Se reportó también, que los suelos tratados con sarmientos únicamente (similar al tratamiento del viñedo orgánico bajo estudio) presentaron el segundo valor más alto en el % de N y MOS, resultados similares a los encontrados en el presente estudio. En relación a esto, Landi *et al.*, 2017, encontraron resultados similares. Estudiaron el efecto de diferentes tratamientos orgánicos sobre la calidad físico-química y bioquímica de suelos de viñedos de Italia. Encontraron que la adición de compost compuesto por residuos de

poda y estiércol de granja, incrementó los niveles de MOS, de N y de la actividad fúngica.

Los suelos de viñedos con labranza mínima presentaron niveles superiores de Cu (Figura 6 B, Cap. III) y los valores menores de CBM (Figura 8 B, Cap. IV). El ACP muestra asociación entre el Cu y el viñedo con labranza mínima, mientras que el CBM, se asocia a los suelos del manejo orgánico (Figura 18). Estos resultados concuerdan con los encontrados por Khan & Scullion (2000) y Mackie *et al.*, 2013, quienes estudiaron la contaminación del metal en suelos vitícolas, y cómo afecta a las características del suelo. Encontraron que el CBM tendió a disminuir a mayor contaminación, lo que también se observó en el presente trabajo, aunque no se apoyó estadísticamente. En este contexto, Bardgett & Saggiar (1994) sugieren que los microorganismos en suelos contaminados con metales pesados utilizan más energía en el mantenimiento y emplean sustratos de manera ineficiente en la producción de biomasa. Sin embargo, debido a la falta de correlación negativa, no podría hablarse de un efecto negativo del metal pesado sobre la cantidad de CBM. En este sentido, Ippolito *et al.* (2010), plantean que las concentraciones de Cu en el suelo de 100-150 mg Kg⁻¹, se reconocen convencionalmente como el umbral por encima del cual puede influir negativamente en el crecimiento de las plantas y en el funcionamiento del suelo. Esto explicaría las razones por las cuales el contenido de Cu presente en los suelos bajo estudio (alrededor de 5 mg Kg⁻¹) (Figura 5 B, Cap. III), no afectaría a los niveles de biomasa microbiana.

El ACP, refleja que los mayores contenidos de Cu se registraron en el viñedo con labranza mínima y las actividades de las enzimas β-Glucosidasas y fosfatasas no presentaron asociación con este tipo de manejo agrícola, sino que fueron más representativas en el sistema de labranza orgánica (Figura 18). Estos resultados se confirman también en la Tabla 13, donde se observa que el contenido de Cu y las actividades de las enzimas fosfatasas y β-Glucosidasas no correlacionaron entre sí. Los resultados mencionados, concuerdan con un trabajo realizado en Galicia y el NO de Portugal, donde se estudió el efecto de fungicidas con base cúprica sobre algunas actividades enzimáticas. Ellos determinaron un efecto negativo del Cu sobre los parámetros microbiológicos; ya que los suelos con menor contenido de Cu, presentaron mayores valores en las actividades de las enzimas β-Glucosidasas y fosfatasas, respecto de los suelos con mayor contenido de Cu. Encontraron una

correlación negativa entre dicho metal pesado y la actividad fosfatasa; lo que pone en evidencia la alta sensibilidad de dicha enzima al Cu (Fernández-Calviño, 2010). En relación a esto, en un trabajo realizado por Wightwick *et al.* (2013) en suelos de *Vitis vinifera* L. de Australia, se encontró que, en general, los suelos de los viñedos presentaron (sólo para la actividad fosfomonoesterasa) una correlación negativa débil con el contenido de Cu; y para el resto de las actividades estudiadas (ureasas y fenol oxidasas) no se observó este tipo de correlación. En base a estos resultados, determinaron que las propiedades físico-químicas del suelo como el C orgánico y el pH, son las principales determinantes, es decir, las que explican los niveles de la actividad enzimática del suelo, más aún que la concentración de Cu edáfico. Dichas conclusiones podrían explicar los motivos por los cuales en el presente trabajo los microorganismos amilolíticos y xilanolíticos, pese a los mayores niveles de Cu, se asociaron al sistema de manejo con laboreo mínimo (Figura 18).

La tabla 13 muestra una correlación positiva entre las actividades xilanolíticas y el contenido de Cu en los suelos de viñedos, en general. Estos resultados son opuestos a los encontrados en un trabajo realizado en suelos cultivados con *Vitis vinifera* L. en Alemania; donde se encontró una correlación negativa entre estas variables (Mackie *et al.*, 2013). Sin embargo, existen casos de inducción de producción de enzimas asociada a la disponibilidad de metales pesados en los suelos. En este sentido, Lv *et al.*, 2015 reportaron que en *Trichoderma reesei*, la transcripción del gen que codifica para la expresión de enzimas hidrolasas, fue altamente sensible a la disponibilidad de Cu en el suelo. Por otra parte, Elgharbi *et al.*, 2015, encontraron que en presencia de Cu, la actividad relativa del gen que codifica para la expresión de las enzimas xilanasas, incrementó un 54 %. Informaron que dicho metal se comporta como un fuerte activador de estas enzimas.

En la Tabla 13 se observa que el contenido de Cu no correlacionó con la abundancia de hongos cultivables. Estos microorganismos, se asociaron mayormente a los suelos del viñedo orgánico, donde dicho micronutriente no presentó asociación (Figura 18). En este sentido, en un estudio realizado en suelos de tres viñedos (con manejos agrícolas diferentes) en el valle Traisen, Austria, se encontró que la abundancia de hongos fue significativamente mayor en el viñedo que presentó menor cantidad de Cu extractable. Ellos concluyeron que la aplicación de fungicidas

con base de Cu, puede afectar a las comunidades de hongos del suelo (Zehetner *et al.*, 2015).

La Tabla 13 muestra una correlación positiva entre el contenido de N y la abundancia de hongos cultivables. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Yu *et al.* (2015), quienes estudiaron el efecto de la aplicación conjunta de fertilizante nitrogenado y estiércol de gallina en suelos de otro tipo de arbusto perenne (*Rubus ulmifolius*). Encontraron que dicha aplicación conjunta, aumentó la abundancia de bacterias; sin embargo, en los suelos que únicamente recibieron N (sin enmienda), aumentó la abundancia de los hongos. En relación a esto, Correa (2016), sostiene que existe una respuesta diferencial de la microbiota, según el nutriente agregado. Así, la aplicación de N lleva a un aumento en la proporción de hongos del suelo, mientras que el P aumenta la de bacterias.

Los resultados mostraron también una correlación positiva entre el contenido de N y la actividad de las enzimas celulasas (Tabla 13). Además, el ACP mostró que estas dos variables se asociaron a los suelos del viñedo orgánico, caracterizados por no recibir el aporte de fertilizantes nitrogenados (Figura 18). Por otra parte, los suelos fertilizados con N (tratamientos con labranza mínima y convencional), presentaron asociaciones diferentes. El viñedo con manejo convencional, no presentó asociación con las actividades enzimáticas, mientras que los suelos del tratamiento con labranza mínima, se asociaron a las actividades amilolíticas y xilanolíticas (Figura 18).

Si bien no se registran antecedentes en suelos vitícolas donde se relacionen estas variables, existen estudios de suelos cultivados con arroz, donde se reportó que el tratamiento que recibió el aporte de fertilizante (NPK), mostró los valores más altos de actividad de diferentes enzimas, entre ellas, las celulasas, respecto del control sin fertilizar. Ellos, a diferencia del presente trabajo, no sólo fertilizaron con N, sino también, con P y K, y determinaron que cuando se fertiliza con varios nutrientes el efecto sobre las propiedades biológicas del suelo puede ser aún más marcado y podrían acelerarse los procesos relacionados con los ciclos de esos nutrientes (Su *et al.*, 2015).

En general, se encontró que la mayoría de las actividades de las enzimas evaluadas (celulasas, β -Glucosidasas y fosfatasas) se asociaron a los suelos correspondientes al viñedo orgánico, es decir, a aquellos que no reciben fertilización inorgánica

(Figura 18). En relación a esto, se sabe que una de las principales diferencias entre las prácticas de manejo del suelo en sistemas de cultivo convencional y orgánico radica en la fertilización. Mientras que la reposición de nutrientes en la agricultura convencional se realiza con la aplicación directa de nutrientes ya disponibles, en la orgánica, es a través de sustratos origen animal o vegetal (Ochoa, 2007). La liberación de nutrientes disponibles desde los sustratos orgánicos es mediada a través de un abanico de actividades enzimáticas que se activan en presencia de sustrato (Tabatabai, 1994). En relación a esto, García-Orenes *et al.* (2016) estudiaron el efecto de tres sistemas diferentes de fertilización (inorgánica, adición de poda de vid con estiércol de oveja y adición de poda de vid con un cultivo de cobertura de leguminosa) sobre propiedades físico-químicas y bioquímicas de suelos de *Vitis vinifera* L. del Mediterráneo. Reportaron mayores niveles de actividad de las enzimas deshidrogenasas, proteasas, ureasas, β -Glucosidasas y fosfomonoesterasas; como así también, incrementos en la abundancia de hongos y bacterias Gram positivas, y en los niveles de N y P, respecto del tratamiento convencional. Ellos concluyeron que la sostenibilidad y la fertilidad biológica y química del suelo de un agroecosistema en condiciones semiáridas, dependen de la fuente orgánica de N.

En el presente trabajo, los suelos caracterizados por la aplicación de fertilizantes nitrogenados, presentaron asociación únicamente con las actividades xilanolíticas y amilolíticas (en el caso del laboreo mínimo), mientras que los suelos del viñedo convencional, no presentaron ninguna asociación (Figura 18). Estos resultados podrían explicarse mediante las conclusiones obtenidas por González-Prieto & Carballas (1995), quienes se oponen a lo mencionado anteriormente por Su *et al.* (2015); y sostienen que las actividades enzimáticas se inhiben directamente, ya que los microorganismos reducen la tasa de producción de enzimas en presencia de exceso de producto (nutrientes en forma oxidada), aportados por los fertilizantes inorgánicos, utilizados ampliamente en sistemas agrícolas convencionales. En relación al empleo de agroquímicos, Reinecke *et al.* (2002) determinaron que el uso de herbicidas podría inhibir la actividad biológica del suelo.

Las actividades de las enzimas fosfatasas (ácidas y alcalinas), correlacionaron positivamente con el contenido de P en los suelos de viñedos (Tabla 13). Esta

relación es lógica, debido a que dicha enzima es la encargada de catalizar la reacción de hidrólisis de monoésterfosfatos orgánicos a fósforo inorgánico, quedando así el fosforo disponible para los vegetales (Andrić *et al.*, 2010).

Existe una gran controversia en cuanto a la utilidad de las actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo; ya que no siempre valores mayores de actividad están asociados a manejos más respetuosos con el medio ambiente. Esta afirmación respaldaría los resultados obtenidos en el presente trabajo, en relación a la asociación de las actividades de las enzimas amilasas y xilanasas con el manejo del viñedo con labranza mínima (Figura 18), donde si bien, se realiza una práctica agroecológica (laboreo reducido), también se aplican agroquímicos. En este contexto, se han reportado resultados contradictorios en relación al efecto del laboreo; por ejemplo, Kahn (1996) encontró valores elevados de actividades enzimáticas en unidades experimentales con elevada intensidad de laboreo, probablemente debido a la desagregación de las arcillas. Estas conclusiones coinciden con el presente trabajo, ya que el manejo orgánico, además de la incorporación de restos de poda, también recibe labranza (al igual que el sistema convencional del viñedo) (Tabla 1, Cap. II). Sin embargo, Mijangos *et al.* (2006) encontraron, en general, mayor actividad de las enzimas deshidrogenasas, β -Glucosidasas y arilsulfatasas en parcelas con laboreo mínimo frente al convencional, aunque no en todos los casos las diferencias fueron significativas. Otros autores han encontrado un claro descenso en las actividades enzimáticas que explican con la pérdida de la materia orgánica que se mezcla con los horizontes inferiores del suelo (Studdert *et al.*, 2015).

En general, el análisis multivariado (Figura 18) permite visualizar una evidente separación entre los tres tratamientos bajo estudio, lo que indicaría que las técnicas de manejo agronómico empleadas en cada uno de los sistemas vitícolas, impactan de manera diferente sobre los parámetros físico-químicos, bioquímicos y microbiológicos estudiados. Los suelos del viñedo con labranza mínima, se asociaron al pH, al K, al Cu, y a las actividades amilolíticas y xilanolíticas. Los suelos del tratamiento orgánico se asociaron al N, al P, a la MOS, al CBM, a la abundancia de los grupos microbianos cultivables y a las actividades de la mayoría de las enzimas estudiadas: celulasas, β -Glucosidasas y fosfatasas. Por otra parte, los

suelos vitícolas con labranza convencional se separaron completamente de los otros tratamientos, y no presentaron asociación con ninguna de las variables evaluadas. Los parámetros bioquímicos y microbiológicos, considerados como sensibles frente a perturbaciones en el sistema, fueron los que se asociaron en mayor medida al tratamiento orgánico del viñedo. Este hecho, reflejaría que las características representativas de dicho manejo (no utilización de agroquímicos y aplicación de enmienda), serían factores determinantes de la dinámica microbiana del suelo vitícola. Por otra parte, el efecto combinado de la labranza y el empleo de agroquímicos, estarían indicando un impacto negativo sobre la actividad microbiana de los suelos asociados al tratamiento convencional, reflejado en los valores menores de todos los parámetros bioquímicos y microbiológicos estudiados.

CONCLUSIONES

- Las enzimas involucradas en el ciclo del P y la mayor parte de las que intervienen en el ciclo del C (a excepción de las xilanasas) presentaron correlación positiva con la MOS, y ésta última, con la abundancia de hongos cultivables.
- Los suelos con labranza convencional registraron los menores valores en los contenidos de P, K, Cu, abundancia de bacterias cultivables y actividades celulolíticas y amilolíticas.
- Los tres tratamientos bajo estudio representan ambientes distintos entre sí respecto de las variables físico-químicas, bioquímicas y microbiológicas estudiadas. Los suelos con labranza orgánica, se asociaron a la mayoría de los parámetros bajo estudio. Algunos de ellos, se asociaron al tratamiento con laboreo mínimo, mientras que, los suelos del viñedo con labranza convencional no presentaron asociación con ninguno de los indicadores estudiados.
- Los micrositios que presentaron características distintivas fueron las interfilas, tanto del manejo orgánico como del sistema con labranza mínima. Los suelos de las interfilas del viñedo orgánico, se asociaron en mayor medida a los indicadores bioquímicos y microbiológicos.
- El sistema de manejo agrícola con labranza mínima, presentó diferencias significativas respecto de los otros sitios bajo estudio, en los valores de P, K, Cu y en las actividades amilolíticas.
- Los suelos del viñedo con labranza mínima presentaron los menores valores en el contenido de MOS. Esto pondría en evidencia que la perturbación reducida del suelo, no favoreció el retraso de la velocidad de agotamiento de la materia orgánica.
- Los suelos con labranza orgánica presentaron diferencias en cuanto a la estructura de las comunidades bacterianas cultivables y no cultivables, respecto de los otros tratamientos.

- El manejo con labranza orgánica, presentó diferencias significativas en los contenidos de MOS, N, P, abundancia de bacterias cultivables, CBM y en las actividades de las enzimas celulasas, β -Glucosidasas y fosfatasas, respecto de los otros tratamientos bajo estudio. La práctica agroecológica que supone la incorporación de restos de poda en los suelos de dicho tratamiento, permite la reposición de la materia orgánica que se mineraliza de forma natural. La adición de dicha enmienda, contribuye en forma significativa a la inducción de la actividad microbiana; y por ende, a la fertilidad del suelo vitícola.
- El sistema de manejo orgánico del viñedo, caracterizado por no recibir el aporte de fertilizante nitrogenado, presentó mayores valores de N, lo que pondría de manifiesto que, la fertilidad química del suelo vitícola bajo dicho tratamiento, se vería favorecida por la fuente de N aportada por la MO proveniente de la enmienda.
- La asociación entre las interfilas del tratamiento orgánico con la MOS, el N y el P, pondría de manifiesto que dicho micrositio, se comporta como una entidad comparable con una *isla de fertilidad*, donde la incorporación al suelo de los restos de poda, promueve el desarrollo de microorganismos relacionados al ciclaje de nutrientes, con capacidad para degradar compuestos celulósicos.
- La MOS, el N, la abundancia de bacterias cultivables, el CBM y las actividades de las enzimas celulasas, β -Glucosidasas y fosfatasas; fueron los indicadores físicoquímicos, microbiológicos y bioquímicos más sensibles a los agroquímicos, ya que presentaron valores menores en los suelos donde se emplearon fertilizantes y herbicidas (sistemas vitícolas con labranza mínima y convencional) y, por otra parte, los mayores valores en los suelos asociados al viñedo orgánico.
- La aplicación de agroquímicos, y no así, el efecto del laboreo agrícola, es el factor que condicionaría la actividad microbiológica y bioquímica de los suelos de viñedos bajo estudio.

PROYECCIONES

- Debido a que los estudios de calidad de suelo son, a veces, una fuente de debate en torno a las múltiples y simultáneas consideraciones sobre las funciones del suelo, se sugiere el estudio de otras propiedades que reflejen el impacto del manejo agrícola. Por ejemplo, podrían estudiarse propiedades físicas, como la resistencia a la penetración, la densidad aparente, la infiltración del agua y el porcentaje de porosidad; a fin de tener una idea más global del funcionamiento del sistema suelo y determinar cuáles son las prácticas agrícolas que promueven la sustentabilidad del recurso.
- Se podrían evaluar las propiedades físico-químicas y microbiológicas de la enmienda (restos de poda), a fin de conocer cuál es su aporte y cuáles son las cantidades adecuadas para aplicar.
- El estudio de la secuenciación del ADN bacteriano y fúngico brindaría una información más completa sobre las comunidades microbianas del suelo.
- Podría plantearse el estudio de un nuevo tratamiento: reducir el laboreo en los suelos del viñedo orgánico (dejando los restos de poda en la superficie del suelo) y evaluar propiedades físico-químicas, bioquímicas y microbiológicas.
- Se podrían aislar microorganismos de la capa superficial del suelo vitícola, y evaluar propiedades PGPR.
- Se podría considerar el estudio de la planta (*Vitis vinifera* L.), y evaluar ciertas variables como: peso de poda, nutrientes en hoja y fruto, productividad, crecimiento vegetativo, diámetro de tronco, densidad de raíces; a fin de aportar a la comprensión integral del sistema.

BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

Abril, A., Noe, L., & Filippini, M. F. (2014). Manejo de enmiendas para restaurar la materia orgánica del suelo en oasis de regadío de Mendoza, Argentina. *RIA. Revista de investigaciones agropecuarias*, 40(1), 83-91.

Acevedo, E., & Candia, P. D. C. S. (2003). *Agronomía de la cero labranza*. Universidad de Chile, Departamento de Producción Agrícola.

Acosta, Y. & Paolini, J. (2006). Dinámica de la biomasa microbiana (C y N) en el suelo de la península de Paraguaná tratado con residuos orgánicos. *Multiciencias*, vol. 6, número 002, pp. 180-187.

Aguiar MR & Sala OE. (1999). Patch structure, dynamics and implications for the functioning of arid ecosystems. *Tree*, 4:273-277.

Alberton O, Kaschuk G, Hungria M. (2006). Sampling effects on the assessment of genetic diversity of rhizobia associated with soybean and common bean. *Soil Biol Biochem* 38:1298–1307.

Albiach, M. R., Bonmatí, M., Canet, R., García, C., García, A., Gíl, F., Leirós, M. C. (2006). Sobre las enzimas del suelo y sus técnicas de medida. *Edafología*, 13 (3), 117-125.

Alef, K., & Nannipieri, P. (Eds.). (1995). *Methods in applied soil microbiology and biochemistry* (Vol. 576). London: Academic press.

Alejo-Santiago, G., Salazar-Jara, F. I., García-Paredes, J. D., Arrieta-Ramos, B. G., Jiménez-Meza, V. M., & Sánchez-Monteón, A. L. (2012). Degradación físico-química de suelos agrícolas en San Pedro Lagunillas, Nayarit. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 15, 323-328.

Alvear, M., López, R., Rosas, A. & Espinoza, N. (2006). Efecto de la aplicación de herbicidas en condiciones de campo sobre algunas actividades biológicas. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal* 6, 64-76.

BIBLIOGRAFÍA

Alvear, M., Pino, M., Castillo, C., Trasar-Cepeda, C., & Gil-Sotres, F. (2006). Efecto de la cero labranza sobre algunas actividades biológicas en un Alfisol del sur de Chile. *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición vegetal*, 6(2), 38-53.

Andreazza, R., Pieniz, S., Wolf, L., Lee, M. K., Camargo, F. A., Okeke, B. C. (2010). Characterization of copper bioreduction and biosorption by a highly copper resistant bacterium isolated from copper-contaminated vineyard soil. *Science of the Total Environment*, 408(7), 1501-1507.

Andrić, P., Meyer, A. S., Jensen, P. A., & Dam-Johansen, K. (2010). Reactor design for minimizing product inhibition during enzymatic lignocellulose hydrolysis: I. Significance and mechanism of cellobiose and glucose inhibition on cellulolytic enzymes. *Biotechnology advances*, 28 (3), 308-324.

Aon, M. A., Cabello, M. N., Sarena, D. E., Colaneri, A. C., Franco, M. G., Burgos, J. L., & Cortassa, S. (2001). I. Spatio-temporal patterns of soil microbial and enzymatic activities in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 18(3), 239-254.

Aon, M. A., & Colaneri, A. C. (2001). II. Temporal and spatial evolution of enzymatic activities and physico-chemical properties in an agricultural soil. *Applied Soil Ecology*, 18(3), 255-270.

Aparicio V & Torres JL. (2007). Soil quality indicators under continuous cropping systems in the Argentinean Pampas. *Soil and Tillage Research* 96: 155-165.

Arshad, M.A. & Martin, S. (2002). Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. *Agr Ecosyst environ* 88, 153–160.

Apezteguía H. y Sereno R. (2002). Influencia de los sistemas de labranza sobre la cantidad y calidad del carbono orgánico del suelo. *Agric. Téc.* v.62 n.3.

Arias, M.E., González-Pérez, J.A., González-Vila, F.J., Ball, A.S. (2005). Soil health — a new challenge for microbiologists and chemists. *Int. Microbiol.* 8, 13–21.

Arnáez, J., Lasanta, T., Ruiz-Flaño, P., Ortigosa, L. (2007). Factors affecting runoff and erosion under simulated rainfall in Mediterranean vineyards. *Soil & Tillage Research*, 93, 324–334.

Arshad, M. A., & Martin, S. (2002). Identifying critical limits for soil quality indicators in agro-ecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 88(2), 153-160.

Avella, D. J. J. (2007). Caracterización molecular de cepas nativas colombianas de *Azzotobacter* spp. mediante el análisis de restricción del AND ribosomal 16S. Tesis para optar al título de Microbiólogo industrial. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.

Badgley C. & Perfecto I. (2007). Can organic agriculture feed the world? *Renewable Agriculture and Food Systems*. Vol. 22. Issue 02, pp 80-86.

Balesdent, J., C. Chenu, and M. Balabane. (2000). Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage. *Soil Tillage Res.* 53: 215-230.

Balota, E.L., M. Kanashiro, A.C. Filho, D.S. Andrade, and R.P. Dick. (2004). Soil enzyme activities under long-term tillage and crop rotation systems in subtropical agro-ecosystems. *Braz. J. Microbiol.* 35: 300-306.

Balsinde J. (2016). Análisis de lípidos por espectrometría de masas: mediadores inflamatorios y procesos de señalización. Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC), 47003 Valladolid, Spain, April 22, 2016.

Bardgett, R.D., Sagar, S. (1994). Effects of heavy metal contamination on the short term decomposition of labeled [14C] glucose in a pasture soil. *Soil Biology and Biochemistry* 26, 727e733.

Bastida, F., Zsolnay, A., Hernández, T., & García, C. (2008). Past, present and future of soil quality indices: a biological perspective. *Geoderma*, 147(3), 159-171.

Bastida, F.; Pérez-de-Mora, A.; Babic, K.; Hai, B.; Hernandez, T.; García, C.; Schloter, M. (2009). Role of amendments on N cycling in Mediterranean abandoned semiarid soils. *Applied of Soil Ecology* 41, 195-205.

Bauhus, J & PK Khanna. (1999). The significance of microbial biomass in forest soils. Pp. 77-110 en: N Rastin & J Bauhus (eds). *Going underground: ecological studies in forest soils*. Research Signpost. Canberra.

Bevivino A, Paganin P, Bacci G, Florio A, Pellicer MS, Papaleo MC, et al. (2014). Soil Bacterial Community Response to Differences in Agricultural Management along with Seasonal Changes in a Mediterranean Region. *PLoS ONE* 9(8): e105515. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0105515>.

Bending G.D., M. K. Turner, F. Rayns, M.-C. Marx & M. Wood. (2004). Microbial and biochemical soil quality indicators and their potential for differentiating areas under contrasting agricultural management regimes. *Soil Biology & Biochemistry* 36: 1785–1792.

Bloem, J., Schouten, T., Didden, W., Jagers op Akkerhuis, G., Keidel, H., Rutgers, M., & Breure, T. (2003). Measuring soil biodiversity: experiences, impediments and research needs. In *Agricultural Impacts on soil erosion and soil biodiversity: developing indicators for policy analysis*. Proceedings from OECD Expert Meeting, Rome, Italy (Vol. 109).

Blum, WEH & AA Santelises. (1994). A concept of sustainability and resilience based on soil functions. Pp. 535-542. In: DJ Greenland & I Szboles (ed.). *Soil Resilience and Sustainable Land use* CAB Int., Wallingford, Oxon, UK.

Bohn, H. (1993). *Química del suelo*, Limusa, México, 168 p.

Böhme, L. & F. Böhme. (2006). Soil microbiological and biochemical properties affected by plant growth and different long-term fertilisation. *Eur. J. Soil Biol.* 42: 1-12.

BIBLIOGRAFÍA

Bolinder, M. A., Angers, D. A., Gregorich, E. G., & Carter, M. R. (1999). The response of soil quality indicators to conservation management. *Canadian Journal of Soil Science*, 79(1), 37-45.

Bórtoli, P. V., Verdenelli, R. A., Conforto, C., Vargas Gil, S., & Meriles, J. M. (2012). Efectos del herbicida glifosato sobre la estructura y el funcionamiento de comunidades microbianas de dos suelos de plantaciones de olivo. *Ecología austral*, 22(1), 33-42.

Bourne, D. G., Holmes, A. J., Iversen, N., & Murrell, J. C. (2000). Fluorescent oligonucleotide rDNA probes for specific detection of methane oxidising bacteria. *FEMS microbiology ecology*, 31(1), 29-38.

Bremner, J. M., & Mulvaney, C. S. (1982). Nitrogen—total. *Methods of soil analysis. Part 2. Chemical and microbiological properties*, (methodsofsoilan2), 595-624.

Brookes, P. C. (1995). The use of microbial parameters in monitoring soil pollution by heavy metals. *Biology and Fertility of soils*, 19(4), 269-279.

Câmara Ferreira AC; Carvalho Leite LF; Ferreira de Araújo AS; Eisenhauer N. (2016). Land-Use Type Effects on Soil Organic Carbon and Microbial Properties in a Semi-arid Region of Northeast Brazil. *Land degradation & Development*. Volume 27, Issue 2
February 2016, Pages 171–178.

Carter, M. R., Gregorich, E. G., Angers, D. A., Beare, M. H., Sparling, G. P., Wardle, D. A., & Voroney, R. P. (1999). Interpretation of microbial biomass measurements for soil quality assessment in humid temperate regions. *Canadian Journal of Soil Science*, 79(4), 507-520.

Castillo-Díaz. (2016). Repercusión de vermicompost agroindustriales en la biota del suelo y en la biodisponibilidad de plaguicidas. Tesis Doctoral. Universidad de La Rioja, España.

BIBLIOGRAFÍA

Brun LA, Maillet J, Richarte J, Herrmann P, Remy JC. (1998). Relationships between extractable copper, soil properties and copper uptake by wild plants in vineyard soils. *Environ Pollut.* 102:151-161.

Budhu, M. (2007). *Soil mechanics and foundations*. 2da. ed. John Wiley & Sons Inc. New Jersey, USA. 634 p.

Burns R.; De Fores J.; Marxsen J.; Sinsabaugh R.; Stromberger M.; Wallenstein M.; Weintraub M.; Zoppinih A. (2013). Soil enzymes in a changing environment: current knowledge and future directions. *Soil biology & Biochemistry* 58: 216-234.

Burns, K. N. (2014). *Bacterial communities in vineyard soils as revealed by a 16S rDNA sequencing survey* (Doctoral dissertation, University of California, Davis).

Burns, K. N., Bokulich, N. A., Cantu, D., Greenhut, R. F., Kluepfel, D. A., O'Geen, A. T., Steenwerth, K. L. (2016). Vineyard soil bacterial diversity and composition revealed by 16S rRNA genes: Differentiation by vineyard management. *Soil Biology and Biochemistry*, 103, 337-348.

Bustamante, M., Corbeels, M., Scopel, E., & Roscoe, R. (2006). Soil carbon storage and sequestration potential in the Cerrado region of Brazil.

Bustamante, C.; Viñals, R.; Pérez, A.; Rodríguez, M.I.; Araño, L. (2010). Fertilización mineral y uso de abono verde en *Coffea canephora* Pierre ex-Froehner cultivado bajo poda sistemática en los macizos montañosos de la Sierra Maestra y agua-Nipe-Baracoa. Cruce de los Baños: Estación Central de Investigaciones de Café y Cacao de Cuba, 253p. (Informe Final Proyecto Nacional 07.03.087).

Cadenas T. (2016). Estudio comparativo de dos métodos analíticos para la determinación de la actividad enzimática de celulasas en suelos. Tesis de grado: Estudio comparativo de dos métodos analíticos para la determinación de la actividad enzimática de celulasas en suelos para optar al título de Lic. en Química.

Universidad de Carabobo Facultad Experimental de Ciencias y Tecnología
Departamento de Química.

Campbell, C. A. y Souster, W. (1982). Loss of organic matter and potentially mineralizable nitrogen from Saskatchewan soils due to cropping. *CAN J SOIL SCI*, 62(4), 651-656.

Cantú, MP; Becker, A; Bedano, JC; Schiavo, HF. (2007). Evaluación de la calidad de suelos mediante el uso de indicadores e índices. *Ci. Suelo (Argentina)* 25(2): 173-178.

Caravaca, F., Masciandaro, G. y Ceccanti, B. (2002). Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. *Soil Till. Res.* 68, 23–30.

Cavani, L., Manici, L. M., Caputo, F., Peruzzi, E., & Ciavatta, C. (2016). Ecological restoration of a copper polluted vineyard: Long-term impact of farmland abandonment on soil bio-chemical properties and microbial communities. *Journal of environmental management*, 182, 37-47.

Cederlund, H.; E. Wessén; K. Enwall; C.M. Jones; J. Juhanson; M. Pell; L. Philippot and S. Hallin. (2014). Soil carbon quality and nitrogen fertilization structure bacterial communities with predictable responses of major bacterial phyla. *Applied Soil Ecology* 84: 62-68.

Cerdà, A., Hooke, J. Romero-Diaz, A., Montanarella, L., Lavee, H. (2010). Soil erosion on Mediterranean Type-Ecosystems *Land Degradation and Development*. Editors. DOI 10.1002/ldr.968.

Chaignon V, Sánchez-Neira I, Herrmann P, Jaillard B, Hinsinger P. (2003). Copper bioavailability and extractability as related to chemical properties of contaminated soils from a vine-growing area. *Environ Pollut.* 123:229-238.

Chien, M. (2011). Nutrient Properties of Vineyard Soils. USDA National Institute of Food and Agriculture, New Technologies for Ag Extension project.

Coll P., Le Cadre E. Blanchart E., Hinsinger P.& Villenave C. (2011). Organic viticulture and soil quality: A long-term study in Southern France. *Applied Soil Ecology*. 50: 37– 44.

Coleman, D.C., Whitman, W.B. (2005). Linking species richness, biodiversity and ecosystem function in soil systems. *Pedobiologia*. 49, 479-497.

Conradie W. (2017). Timing of Nitrogen Fertilisation and the Effect of Poultry Manure on the Performance of Grapevines on Sandy Soil. IL Leaf Analysis, Juice Analysis and Wine Quality. *South African Journal of Enology and Viticulture*. Vol 22, núm 2.

Costantini, E.A.C., Agnelli, A.E., Fabiani, A., Gagnarli, E., Mocali, S., Priori, S., Simoni, S., Valboa, G. (2015). Short-term recovery of soil physical, chemical, micro and mesobiological functions in a new vineyard under organic farming. *Soil* 1, 443–457.

Corneo, P. E., Pellegrini, A., Cappellin, L., Roncador, M., Chierici, M., Gessler, C., & Pertot, I. (2013). Microbial community structure in vineyard soils across altitudinal gradients and in different seasons. *FEMS microbiology ecology*, 84(3), 588-602.

CORREA, O. S. (2016). La fertilización y las comunidades microbianas indígenas de los suelos.

Costantini, E. A. C., Agnelli, A. E., Fabiani, A., Gagnarli, E., Mocali, S., Priori, S., Valboa, G. (2015). Short-term recovery of soil physical, chemical, micro-and mesobiological functions in a new vineyard under organic farming. *Soil*, 1(1), 443.

Contreras, F., Rivero, C., & Paolini, J. (2011). Efecto de la incorporación de residuos orgánicos y dos tipos de labranza sobre la actividad de la ureasa en un Alfisol. *Venesuelos*, 3(1), 2-6.

Coulouma, G., Boizard, H., Trotoux, G., Lagacherie, P., & Richard, G. (2006). Effect of deep tillage for vineyard establishment on soil structure: A case study in Southern France. *Soil and Tillage Research*, 88(1), 132-143.

Cruz, A. B., Barra, J. E., del Castillo, R. F., & Gutiérrez, C. (2004). La calidad del suelo y sus indicadores. *Revista Ecosistemas*, 13(2).

Calleja-Cervantes, M. E., Fernández-González, A. J., Irigoyen, I., Fernández-López, M., Aparicio-Tejo, P. M., & Menéndez, S. (2015). Thirteen years of continued application of composted organic wastes in a vineyard modify soil quality characteristics. *Soil Biology and Biochemistry*, 90, 241-254.

Caravaca, F., Masciandaro, G., & Ceccanti, B. (2002). Land use in relation to soil chemical and biochemical properties in a semiarid Mediterranean environment. *Soil and Tillage Research*, 68(1), 23-30.

Dal Borgo, F. & Maldaceda, A. (2014). Diseño de plantación y manejo autosustentable de viñedos con alta calidad vitivinícola en Cafayate. Área de Consolidación, Cultivos Intensivos. Asignatura cultivos intensivos. Departamento de Producción Vegetal. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Nacional de Córdoba.

De Cary R. & Angulo W. (2006). Fallow effect on soil microbial population (Patarani – Bolivian central Altiplano). *Ecología en Bolivia*, Vol. 41(3): 103-115.

Dell'Amico, E., Mazzocchi, M., Cavalca, L., Allievi, L., Andreoni, V. (2008). Assessment of bacterial community structure in a long-term copper-polluted ex-vineyard soil. *Microbiological research*, 163(6), 671-683.

Deluisa A, Giandon P, Aichner M, Bortolami P, Bruna L, Lupetti A, Nardelli F, Stringari G. (1996). Copper pollution in Italian vineyard soils. *Commun Soil Sci Plan.* 27:1537- 1548.

BIBLIOGRAFÍA

Dermeche, S., Nadour, M., Larroche, C., Moulti-Mati, F., & Michaud, P. (2013). Olive mill wastes: biochemical characterizations and valorization strategies. *Process Biochemistry*, 48 (10), 1532-1552.

Descalzo, RC; ZK Punja; CA Lévesque & JE Rahe. (1998). Glyphosate treatment of bean seedlings causes shortterm increases in *Pythium* populations and damping off potential in soils. *Appl. Soil Ecol.* 8:25-33.

Diago, M.P. (2010). Estudio y desarrollo del deshojado precoz como técnica para el control del rendimiento productivo de la vid (*Vitis vinifera* L.). Efectos sobre el desarrollo vegetativo, los componentes de la producción, así como sobre la composición y calidad de la uva y del vino. Tesis Doctoral. Universidad de la Rioja, Logroño, España.

Díaz I., Labra E., Mejías P. (2009). Manejo orgánico de viñedos en seco. Informativo Inia Raihuén 30. Instituto de Investigaciones agropecuarias. Ministerio de Agricultura. Gobierno de Chile.

Dick, R. P., Rasmussen, P. E., & Kerle, E. A. (1988). Influence of long-term residue management on soil enzyme activities in relation to soil chemical properties of a wheat-fallow system. *Biology and Fertility of Soils*, 6(2), 159-164.

Dick, R. P. (1992). A review: long-term effects of agricultural systems on soil biochemical and microbial parameters. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 40(1-4), 25-36.

Dick, RP. (1998). Soil enzyme activities as integrative indicators of soil health. Pp. 121-156 en: CE Pnakhurst; BM Doube & VV Gupta (eds). *Biological indicators of soil health*. CABI. Wallingford.

Dilly, O & OH Blume. (1998). Indicators to assess sustainable land use with reference to soil microbiology. Pp: 29-36 en: HP Blume; H Eger; E Fleischhauer; A Hebel; C Reij & KG Steiner (eds). *Towards sustainable land use*. Catena Verlag. Reiskirchen.

Di Serio, M. G., Lanza, B., Mucciarella, M. R., Russi, F., Iannucci, E., Marfisi, P., y Madeo, A. (2008). Effects of olive mill wastewater spreading on the physico-chemical and microbiological characteristics of soil. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 62(4), 403-407.

Doran, JW & TB Parkin. (1996). Quantitative indicators of soil Quality: a minimum data set. Pp. 25-37. In: *Methods for assessing Soil Quality*, SSSA Special Publication N° 49, Wisconsin, USA.

Doran, JW & MR Zeiss. (2000). Soil health and sustainability: managing the biotic component of soil quality. *Appl. Soil Ecol.* 15: 3-11.

Dorigo U., Leboulanger Ch., Bérard A., Bouchez A., Humbert J.-F. & Montuelle B. (2007). Lotic biofilm community structure and pesticide tolerance along a contamination gradient in a vineyard area. *Aquatic Microbial Ecology*. 50: 91–102.

Elgharbi F, Hlima H, Farhat-Khemakhem A, Ayadi-Zouari D, Bejar S, Hmida-Sayari A. (2015). Expression of *A. niger* US368 xylanase in *E. coli*: Purification, characterization and copper activation. *International Journal of Biological Macromolecules*. 74: 263-270.

Elías G. (2017). Manejo de la nutrición en suelos alcalinos y Alcalino sódicos. 2do Seminario Internacional de Nutrición en Maíz.

Espíndola S. & Pugliese F. (2015). Fertilización razonada de la vid. INTA. Agencia de extensión rural Caucete, San Juan.

Farías E, Seguel O, Casanova M, Luzio W, Pino I, Videla X, Parada AM, Nario A. (2012). Cambio en las propiedades físicas de un ultic haploxeralf cultivado con vid (*Vitis vinifera* L). Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. Chile.

Farinelli, F. (2007). The awakening of the sleeping giant: export growth and technological catch-up of the Argentine wine industry. *International Journal of Technology and Globalisation*, 3: 179–196.

FAO. (2014). www.fao.org.

Fassbender, H. (1982). *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina*. 3era reimpresión. IICA San José, Costa Rica. 422 p.

Ferianc, J; B Badalíková; P Burg & J Burgová. (2016). The monitoring of soil properties in the interrow of vineyards. *Acta Univ. Agric. Silvic. Mendelianae Brun.* 64 (2):417–422.

Fernández, J. (2006). Los residuos de las agroindustrias como biocombustibles sólidos. *Revista Vida Rural*. ISSN 1133-8938.

Fernández, J. H., Becerra, L., Puentes, V., & Martínez, J. (2012). ARDRA para la identificación de las bacterias coliformes *Citrobacter sedlakii* y *Citrobacter gilleni*, del humedal “Laguna de Tierra Blanca” Soacha, Cundinamarca. *Revista Mutis*, 2(2), 76-88.

Fernández-Calviño D, Nóvoa-Muñoz JC, Díaz-Raviña M, Arias-Estévez M. (2009). Copper accumulation and fractionation in vineyard soils from temperate humid zone (NW Iberian Peninsula). *Geoderma* 153:119-129.

Fernández-Calviño, D., Soler-Rovira, P., Polo, A., Díaz-Raviña, M., Arias-Estévez, M., & Plaza, C. (2010). Enzyme activities in vineyard soils long-term treated with copper-based fungicides. *Soil Biology and Biochemistry*, 42(12), 2119-2127.

Fernández-Calviño D, Bååth E. (2016). Interaction between pH and Cu toxicity on fungal and bacterial performance in soil. *Soil Biology & Biochemistry* 96, 20-29.

Ferreira, EA; JB Santos; AA Silva; L Vargas & MR Reis. (2006). Glyphosate application for Italian ryegrass biotype control and impact on soil microbiota. *Planta Danina* 24: 573-578.

Ferreras L; Toresani S; Bonel B; Fernández E; Bacigaluppo S; Faggioli V & Beltrán C. (2009). Parámetros químicos y biológicos como indicadores de calidad del suelo en diferentes manejos. *Ci. Suelo (Argentina)* 27(1): 103-114.

Ferraris G., Gutierrez Boem F., Echevarría H. (2010). Proyecto Fertilizar – INTA Pergamino, Argentina.

Fierer, N.; C.L. Lauber; K.S. Ramirez; J. Zaneveld; M.A. Bradford and R. Knight. (2012). Comparative metagenomic, phylogenetic and physiological analyses of soil microbial communities across nitrogen gradients. *ISME Journal* 6: 1007-1017.

Filip, ZK. (2002). International approach to assessing soil quality by ecologically-related biological parameters. *Agr. Ecosyst. Environ.* 88:169-174.

Fincheira-Robles P.; Martínez-Salgado M., Rodrigo Ortega-Blu R., Janssens M. (2016). Compost and humic substance effects on soil parameters of *Vitis vinifera* L cv Thompson seedless. *Scientia Agropecuaria* 7 (3): 291 – 296.

Forlan Amaral H., Alves Sena J. O., Souza Andrade D., Gomes Jácome A., & Granzioli Caldas R. (2012). Carbon and soil microbial respiration in soil from conventional, organic vineyards and comparison with an adjacent forest. *Semina: Ciências Agrárias, Londrina.* 33: 437-448.

Franzluebbers, A.J., and J.A. Stuedemann. (2002). Particulate and non-particulate fractions of soil organic carbon under pastures in the Southern Piedmont USA. *Environ. Pollut.* 116:S53–S62.

Fujita, K., Furuya, S., & Kohno, M. (2010). Analysis of microbial community in Japanese vineyard soils by culture-independent molecular approach. *International Journal of Wine Research*, 2010(1), 75-104.

Gago, P., Cabaleiro, C., & Garcia, J. (2007). Preliminary study of the effect of soil management systems on the adventitious flora of a vineyard in northwestern Spain. *Crop Protection*, 26(4), 584-591.

Gallopín, G. (1997). Indicators and their use: information for decision making. Part 1 Introduction. In: B Moldan & S Billharz (eds.). Sustainability indicators. Wiley, Chichester-N. York.

Gallardo, A., & Merino, J. (1993). Leaf decomposition in two Mediterranean ecosystems of southwest Spain: influence of substrate quality. *Ecology*, 74(1), 152-161.

García, C., Hernández, T., Roldán, A., Martín, A., (2002). Effect of plant cover decline on chemical and microbiological parameters under Mediterranean climate. *Soil Biol. Biochem.* 34, 635–642.

García-Díaz, A., Allas, R. B., Gristina, L., Cerdà, A., Pereira, P., & Novara, A. (2016). Carbon input threshold for soil carbon budget optimization in eroding vineyards. *Geoderma*, 271, 144-149.

García Izquierdo, C. (2003). Técnicas de análisis de parámetros bioquímicos en suelos: medida de actividades enzimáticas y biomasa microbiana (No. 631.417 T4).

García-Ruiz, R., Pattinson, S. N., & Whitton, B. A. (1998). Denitrification and nitrous oxide production in sediments of the Wiske, a lowland eutrophic river. *Science of the Total Environment*, 210, 307-320.

García-Ruiz, R., Ochoa, V., Hinojosa, M. B., & Carreira, J. A. (2008). Suitability of enzyme activities for the monitoring of soil quality improvement in organic agricultural systems. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2137-2145.

García-Trujillo, R & Mudarra-Prieto, I. (2015). Buenas prácticas en producción ecológica: Cultivo de la Vid. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Gobierno de España.

García-Orenes, F., Guerrero, C., Roldán, A., Mataix-Solera, J., Cerdá, A., Campoy, M., Zornoza, R., Barcenas, G. y Caravaca, F. (2010). Soil microbial biomass and

activity under different agricultural management systems in a semiarid Mediterranean agroecosystem. *Soil Till. Res.* 109 (2): 110-115.

García, Y., Ramírez, W., & Sánchez, S. (2012). Indicadores de la calidad de los suelos: una nueva manera de evaluar este recurso. *Pastos y Forrajes*, 35(2), 125-138.

Garland, J. L. (1997). Analysis and interpretation of community-level physiological profiles in microbial ecology. *FEMS microbiology ecology*, 24(4), 289-300.

Gessler C, Pertot I, Perazolli M. (2011). *Plasmopara viticola*: a review of knowledge on downy mildew of grapevine and effective disease management. *Phytopathol Mediterr.* 50:3-44.

Gianfreda, L; F Sannino & A Violane. (1995). Pesticida effects on the activity of free, immobilized and soil invertase. *Soil Biol. Biochem.* 27:1201-1208.

Gil-Albert, F. (1991). *Tratado de arboricultura frutal*. Vol. 1, Aspectos de la morfología y fisiología del árbol frutal.

González-Prieto & Carballas. (1995). *Soil Biolog. Biochem.* 27: 205- 210.

Goh C.; Nicotra A.; Mathesius U. (2016). The presence of nodules on legume root systems can alter phenotypic plasticity in response to internal nitrogen independent of nitrogen fixation. *Plant, Cell & Environment*. Volume 39, Issue 4 April 2016, Pages 883–896.

Gómez-Armesto A., Carballeira-Díaz J., Pérez-Rodríguez P., Fernández-Calviño D., Arias-Estévez M., Nóvoa-Muñoz J.C. (2014). Copper content and distribution in vineyard soils from Betanzos (A Coruña, Spain). DOI: 10.3232/SJSS. V5.N1.06.

Gómez-Merino F. C.; Trejo-Téllez L. I.; Velasco-Velasco J.; Lara-Capistrán L. (2016). Herramientas moleculares para estudios ambientales de actividades agroindustriales. *Agroproductividad*. Aug2016, Vol. 9 Issue 8, p3-9. 7p.

Gordillo-Rivero, A. & García-Moreno, J. (2015). Labores culturales y recolección de los cultivos ecológicos. ISBN 978-84-283-3433-4. Ediciones Paraninfo S.A.

Graetz HA. (1997). Suelos y Fertilización. Traducido por: F. Luna Orozco. Trillas. México.

Grange L, Hungria M. (2004). Genetic diversity of indigenous common bean (*Phaseolus vulgaris*) rhizobia in two Brazilian ecosystems. *Soil Biol Biochem* 36:1389–1398.

Gregorich, E.G., and H.H. Janzen. (1996). Storage of soil carbon in the light fraction and macro-organic matter. p. 167–190. In M.R. Carter and B.A. Steward (ed.) *Structure and soil organic matter storage in agricultural soils*. CRC Press, Boca Raton, FL.

Gros A & Domínguez Vivancos A. (1992). *Abonos, Guía práctica de la fertilización*.

Guerra, B. y Steenwerth, K. (2012) Influence of floor management technique on grapevine growth, disease pressure, and juice and wine composition: a review. *Am. J. Enol. Viticult.*, 63, 149-164.

Gundi V. A.K.B., Viswanath B., Chandra M. S., Kumar V. N., Reddy B. R. (2007). Activities of cellulase and amylase in soils as influenced by insecticide interactions. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 68: 278–285.

Gutierrez-Calle, S. (2016). Comparación de la microbiota bacteriana en suelo prístino y suelo cultivado con vid (*Vitis spp.*) mediante técnicas dependientes e independientes de cultivo microbiano. Tesis de maestría en ciencias con mención en: biotecnología molecular. Universidad Nacional de Tumbes, Perú.

Handelsman, J., Rondon, M.R., Brady, S.F., Clardy, J., Goodman, R.M. (1998). Molecular biological access to the chemistry of unknown soil microbes: a new frontier for natural products. *Chem. Biol.* 5, 245–249.

Haney, RL; SA Senseman; FM Hons & DA Zuberer. (2000). Effect of glyphosate on soil microbial activity and biomass. *Weed Sci.* 48:89-93.

Harter, R. D. (1983). Effect of soil pH on adsorption of lead, copper, zinc, and nickel. *Soil Science Society of America Journal*, 47(1), 47-51.

Haynes, R.J. (2005). Labile organic matter fractions as central components of the quality of agricultural soils: An overview. *Agron. J.* 85:221–268.

Heldrich K. (1990). *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists*. Association of Official Chemists, Arlington.

Hemmat, A., Aghilinategh, N., Rezainejad, Y., y Sadeghi, M. (2010). Long-term impacts of municipal solid waste compost, sewage sludge and farmyard manure application on organic carbon, bulk density and consistency limits of a calcareous soil in central Iran. *Soil Till Res*, 108(1), 43-50.

Henríquez C; Uribe L; Valenciano A; Nogales R. (2014). Actividad enzimática del suelo -deshidrogenasa, β -glucosidasa, fosfatasa y ureasa- bajo diferentes cultivos. *Agronomía Costarricense* 38(1): 43-54. ISSN:0377-9424 / 2014.

Hidalgo, L. H. (2002). *Tratado de viticultura general*. Mundi-Prensa.

Hinojosa, M. B., Carreira, J. A., García-Ruíz, R., & Dick, R. P. (2005). Microbial response to heavy metal-polluted soils. *Journal of Environmental Quality*, 34(5), 1789-1800.

Hol, W.H.G., de Boer, W., Termorshuizen, A.J., Meyer, K.M., Schneider, J.H.M., van Dam, N.M., van Veen, J.A., van der Putten, W.H. (2010). Reduction of rare soil microbes modifies plant-herbivore interactions. *Ecol. Lett.* 13, 292-301.

Ingaremo, O. (2003). *Indicadores físicos de la degradación del suelo*. Departamento de Ciencias. Área de Edafología. Universidad de Coruña.

Insam, H., Feurle, J., & Rangger, A. (2001). Community level physiological profiles (Biolog substrate use tests) of environmental samples. *Molecular Microbial Ecology Manual*: Kluwer Academic Publishers. P, 4(1).

Jaramillo Jaramillo, D. F. (2002). *Introducción a la ciencia del suelo*.

Jiménez Avella, D. J. (2007). *Caracterización molecular de cepas nativas colombianas de Azotobacter spp. mediante el análisis de restricción del DNA ribosomal 16s* (Bachelor's thesis).

Joergensen, R. G. (1996). The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: calibration of the kEC value. *Soil Biology and Biochemistry*. 28(1): 25-31.

Julca-Otiniano A, Meneses-Florián L, Blas-Sevillano R, Bello-Amez S. (2006). La materia orgánica, importancia y experiencias de su uso en la agricultura. *IDESIA* (Chile), volumen 24, N° 1.

Kabata-Pendias, A, Pendias H. (2001). *Trace Elements in Soils and Plants*, 3rd ed. Boca Raton, FL: CRC Press.

Kawate, MK; AG Colwell; AG Ogg & JM Kraft. (1997). Effect of glyphosate-treated henbit (*Lamium amplexicaule*) and downy brome (*Bromus tectorum*) on *Fusarium solani* f. sp. Pisi and *Pythium ultimum*. *Weed Sci*. 45:739-743.

Khan A.R. (1996). *J. Agron. Crop Sci*. 177:253-259.

Kandeler, E., Tschirko, D., & Spiegel, H. (1999). Long-term monitoring of microbial biomass, N mineralisation and enzyme activities of a Chernozem under different tillage management. *Biology and fertility of soils*, 28(4), 343-351.

Karlen, DL; MJ Mausbach; JW Doran; RC Cline; RF Harris & GE Schuman. (1996). *Soil Quality; concept, rationale and Research Needs*. Soil Science Society of America, Committee.

Kaschuk G, Hungria M, Andrade DS, Campo RJ. (2006). Genetic diversity of rhizobia associated with common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) grown under no-tillage and conventional systems in Southern Brazil. *Appl Soil Ecol* 32:210–220.

Kertesz, M. A., Kölbener, P., Stockinger, H., Beil, S., & Cook, A. M. (1994). Desulfonation of linear alkylbenzenesulfonate surfactants and related compounds by bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 60(7), 2296-2303.

Khan, M., Scullion, J. (2000). Effect of soil on microbial responses to metal contamination. *Environmental Pollution* 110, 115e125.

Klose S., Acosta-Martínez V., Ajwa H.A. (2006). Microbial community composition and enzyme activities in a sandy loam soil after fumigation with methyl bromide or alternative biocides. *Soil Biology & Biochemistry* 38: 1243–1254.

Komárek, M., Száková, J., Rohošková, M., Javorská, H., Chrastný, V., & Balík, J. (2008). Copper contamination of vineyard soils from small wine producers: a case study from the Czech Republic. *Geoderma*, 147(1), 16-22.

Komárek M., Čadková E., Chrastný V., Bordas F. & Bollinger J.-C. (2010). Contamination of vineyard soils with fungicides: A review of environmental and toxicological aspects. *Environment International*. 36: 138–151.

Kramer, S. and D.M. Green. (2002). Acid and alkaline phosphatase dynamics and their relationship to soil microclimate in semiarid woodland. *Soil Biol. Biochem.* 32: 179-188.

Landi, S., D'Errico, G., Gagnarli, E., Simoni, S., Goggioli, D., Guidi, S., & Elio Agnelli, A. (2017). Assessment of soil ecosystem in degraded areas of vineyards after organic treatments. In *EGU General Assembly Conference Abstracts* (Vol. 19, p. 7025).

Lau, J.A., Lennon, J.T. (2011). Evolutionary ecology of plant-microbe interactions: soil microbial structure alters selection on plant traits. *New Phytol.* 192, 215-224.

Lavecchia, A.; M. Curci; K. Jangid; W. Whitman; P. Ricciuti; S. Pascazio and C. Crecchio. (2015). Microbial 16S gene-based composition of a sorghum cropped rhizosphere soil under different fertilization managements. *Biology and Fertility of Soils* 51(6): 661-672.

Lévesque, CA; JE Rahe & DM Eaves. (1993). Fungal colonization of glyphosate-treated seedlings using a new root plating technique. *Mycol. Res.* 97:299-306.

Li X.; Sørensen P.; Olesen J.; Petersen SO. (2016). Evidence for denitrification as main source of N₂O emission from residue-amended soil. *Soil Biology and Biochemistry*

Volume 92, January 2016, Pages 153-160.

Lieskovský, J., Kenderessy, P. (2014). Modelling the effect of vegetation cover and different tillage practices on soil erosion in vineyards: a case study en Vrábľe (Slovakia) using WATEM/SEDEM. *Land Degrad. Dev.* 25, 288–296.

Liotta, M. (2001). Los suelos en los Valles de Tulúm y Ullúm-Zonda. EEA INTA San Juan. 7 – 9.

Loera Corral, O. (2002). Las xilanasas microbianas y sus aplicaciones. *Revista Biotecnología* 2002. Vol. 7. No. 2.

López-Piñeiro, A. Muñoz, E. Zamora, M. Ramírez. (2012). Influence of the management regime and phenological state of the vines on the physicochemical properties and the seasonal fluctuations of the microorganisms in a vineyard soil under semi-arid conditions. *Soil & Tillage Research* 126, 119–126.

Lv X, Zheng F, Li C, Zhang W, Chen G, Liu W. (2015). Characterization of a copper responsive promoter and its mediated overexpression of the xylanase regulator 1 results in an induction-independent production of cellulases in *Trichoderma reesei*. *Biotechnology for Biofuels*. 8:67.

Lynch JM, Benedetti A, Insam H, Nuti MP, Smalla K, Torsvik V, Nannipieri P. (2004). Microbial diversity in soil: ecological theories, the contribution of molecular techniques and the impact of transgenic plants and transgenic microorganisms. *Biol Fertil Soils* 40:363–385.

Mackie, K. A., Müller, T., Zikeli, S., & Kandeler, E. (2013). Long-term copper application in an organic vineyard modifies spatial distribution of soil microorganisms. *Soil Biology and Biochemistry*, 65, 245-253.

Mackie, K. A. (2014). Disertation: The Importance of Soil Microorganisms and Cover Crops for Copper Remediation in Vineyards. Submitted in fulfillment of the Requirements for the degree “Doktor der Agrarwissenschaften”. Institute of Soil Science and Land Evaluation University of Hohenheim Soil Biology. Lexington, Kentucky, USA.

Mackie, K. A., Marhan, S., Ditterich, F., Schmidt, H. P., & Kandeler, E. (2015). The effects of biochar and compost amendments on copper immobilization and soil microorganisms in a temperate vineyard. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 201, 58-69.

Magalhães J, Sequeira EM, Lucas MD. (1985). Copper and zinc in vineyards of central Portugal. *Water Air Soil Poll.* 26:1-17.

Malik, S., Beer, M., Megharaj, M., y Naidu, R. (2008). The use of molecular techniques to characterize the microbial communities in contaminated soil and water. *Environment International*, 34, pp. 265-276.

Mangalassery S.; Mooney SJ; Sparkes D.L.; Fraser W.T. Sjögersten S. (2015). Impacts of zero tillage on soil enzyme activities, microbial characteristics and organic matter functional chemistry in temperate soils. *European Journal of Soil Biology*, 68: 9-17.

MAPA. (1994). *Metodos oficiales de análisis*. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentacion, Madrid, Spain.

Martínez-Casasnovas, J. A., & Concepcion Ramos, M. (2009). Soil alteration due to erosion, ploughing and levelling of vineyards in north east Spain. *Soil Use and Management*, 25(2), 183-192.

Martínez-Casasnovas, J. A., Ramos, M. C., & Vallés, D. (2009). Análisis de la relación entre las propiedades del suelo, el índice de vigor del cultivo y el rendimiento en un viñedo de la DO Costers del Segre (Lleida). In XIII Congreso de la Asociación Española de Teledetección, Calatayud.

Martínez M & Blu R. (2015). Estudio de la calidad de suelo a través de análisis microbiológicos y bioquímicos. *Redagráfica*. 74-77 p.

Mazzoncini, M., Sapkota, T. B., Bàrberi, P., Antichi, D., & Risaliti, R. (2011). Long-term effect of tillage, nitrogen fertilization and cover crops on soil organic carbon and total nitrogen content. *Soil and Tillage Research*, 114(2), 165-174.

MAGRAMA. (2012). Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio ambiente.

McCallister, D.L., and W.L. Chien. (2000). Organic carbon and forms as influenced by tillage and cropping sequence. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31:465-479.

MAPA (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación). (1986). Métodos oficiales de análisis (en español). Dirección General de Política Alimentaria. Secretaría General Técnica del M.A.P.A. (Ed.). Madrid. Tomo III, pp. 93-208.

Martín C.; Manzanares P. (1994). Biomasa lignocelulósica. Polímeros constitutivos. Procesos biológicos de degradación de la lignina. Centro de investigaciones energéticas, medioambientales y tecnológicas. Madrid. ISSN 0214-087X.

Martínez, LE. (2011). Tesis. Efecto de la aplicación de abonos orgánicos sobre las características físico-químicas y microbiológicas de suelos bajo cultivo de vid de la provincia de Mendoza. Escuela para Graduados Ing. Agr. Alberto Soriano Facultad de Agronomía – Universidad de Buenos Aires.

Martínez MM; Ortega Blu, R. (2015). Estudio de la calidad de suelo a través de análisis microbiológicos y bioquímicos. *Redagráfica*, diciembre 2015, pág. 74-77.

Mekki, A., Dhouib, A., y Sayadi, S. (2009). Evolution of several soil properties following amendment with olive mill wastewater. *Progress in Natural Science*, 19(11), 1515-1521.

Meriles, JM; S Vargas Gil; RJ Haro; GJ March & CA Guzmán. (2006). Glyphosate and previous crop residue effect on deleterious and beneficial soil-borne fungi from a peanut-corn-soybean rotations. *J. Phytopathol.* 154:309-316.

Messiga, A. J., Sharifi, M., Hammermeister, A., Gallant, K., Fuller, K., & Tango, M. (2015). Soil quality response to cover crops and amendments in a vineyard in Nova Scotia, Canada. *Scientia Horticulturae*, 188, 6-14.

Mijangos, I., Pérez, R., Albizu, I., & Garbisu, C. (2006). Effects of fertilization and tillage on soil biological parameters. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(1), 100-106.

Miranda, O. (2015). El riego en la provincia de San Juan, Argentina: su dinámica institucional en los últimos dos siglos. *Agricultura, sociedad y desarrollo*, 12(3), 385-408.

Mirlean N, Roisenberg A, Chies JO. (2007). Metal contamination of vineyard soils in wet subtropics (southern Brazil). *Environ Pollut.* 149:10-17.

Mocali S, Paffetti D, Emiliani G, Benedetti A, Fani R. (2008). Diversity of heterotrophic aerobic cultivable microbial communities of soils treated with fumigants and dynamics of metabolic, microbial, and mineralization quotients. *Biol Fertil Soils* 44:557–569.

Moreno, F., J.M. Murillo, F. Pelegrín, and I.F. Girón. (2006). Long-term impact of conservation tillage on stratification ratio of soil carbon and loss of total and active CaCO₃. *Soil Tillage Res.* 85:86–93.

BIBLIOGRAFÍA

Morgan RK, Taylor E. (2003). Copper accumulation in vineyard soils in New Zealand. *Environ Sci.*1:139-167.

Morlat, R., & Jacquet, A. (2003). Grapevine root system and soil characteristics in a vineyard maintained long-term with or without interrow sward. *American Journal of Enology and Viticulture*, 54(1), 1-7.

Murillo J.; Rodríguez G.; Roncallo B.; Rojas A.; Bonilla R. (2014). Effect of the application of sustainable practices on the physical, chemical y microbiological characteristics of degraded soils. *Pastos y Forrajes*, 37 (3), 270-278.

Muyzer, G., & Smalla, K. (1998). Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology. *Antonie van Leeuwenhoek*, 73(1), 127-141.

Nachtigall G., Nogueirol R., Ferracciú Alleoni L. (2007). Formas de cobre em solos de vinhedos em função do pH e da adição de cama-de-frango. *Pesq. agropec. bras.*, Brasília, v.42, n.3, p.427-434.

Nannipieri, P. (1994). The potential use of soil enzymes as indicators of productivity, sustainability and pollution. *Soil biota: management in sustainable farming systems*, 238-244.

Navarro J, Moral H, Gómez L, Mataix B. (1995). *Residuos orgánicos y agricultura*. Universidad de Alicante. Servicio de Publicaciones. Alicante, España, 108 pp.

Navel, A., & Martins, J. M. (2014). Effect of long term organic amendments and vegetation of vineyard soils on the microscale distribution and biogeochemistry of copper. *Science of the Total Environment*, 466, 681-689.

Nielsen, M. N., Winding, A., Binnerup, S., Hansen, B. M., Hendriksen, N. B., & Kroer, N. (2002). *Microorganisms as indicators of soil health*. National Environmental Research Institute.

Nijensohn, L., & Olmos, F. S. (1959). Un procedimiento para la determinación de la capacidad de intercambio cationico de raices. *Rev. Facult. Ciencias Agr*, 7, 55-66.

BIBLIOGRAFÍA

Nogueira, M.A., Albino, U.B., Brandaño-Junior, O., Braun, G., Cruz, M.F., Dias, B.A., Duarte, R.T.D., Gioppo, N.M.R., Menna, P., Orlandi, J.M., Raimam, M.P., Rampazzo, L.G.L., Santos, M.A., Silva, M.E.Z., Vieira, F.P., Torezan, J.M.D., Hungria, M., Andrade, G. (2006). Promising indicators for assessment of agroecosystems alteration among natural, reforested and agricultural land use in southern Brazil. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 115, 237–247.

Novara, A., Gristina, L., Guaitoli, F., Santoro, A., & Cerdà, A. (2013). Managing soil nitrate with cover crops and buffer strips in Sicilian vineyards. *Solid Earth*, 4(2), 255.

Novara, A., La Mantia, T., Rühl, J., Badalucco, L., Kuzyakov, Y., Gristina, L., & Laudicina, V. A. (2014). Dynamics of soil organic carbon pools after agricultural abandonment. *Geoderma*, 235, 191-198.

Novara A, Lo Papa G, Dazzi C, Gristina L, Cerdà A. (2014). Soil aggregates, organic matter turnover and carbon balance in a Mediterranean eroded vineyard. *Geophysical Research Abstracts* Vol. 16, EGU2014-10597.

Novozamsky, I., & Houba, V. J. G. (1987). Critical evaluation of soil testing methods for K.

Núñez-Regueira, L., Rodríguez-Añón, J. A., Proupín-Castiñeiras, J., & Núñez-Fernández, O. (2006). Microcalorimetric study of changes in the microbial activity in a humic Cambisol after reforestation with eucalyptus in Galicia (NW Spain). *Soil Biology and Biochemistry*, 38(1), 115-124.

Núñez, J. M., López-Piñeiro, A., Albarrán, A., Muñoz, A., y Coelho, J. (2007). Changes in selected soil properties caused by 30 years of continuous irrigation under Mediterranean conditions. *Geoderma*, 139(3), 321-328.

Ochoa, V., Hinojosa, B., Gómez-Muñoz, B., & García-Ruiz, R. (2007). Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos. *Iniciación a la Investigación*.

Okur N., Altindişli A., Çengel M., Göçmez S. & Kayıkçioğlu H. H. (2009). Microbial biomass and enzyme activity in vineyard soils under organic and conventional farming systems. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*. 33: 413-423.

Okur, N., Kayıkcioglu, H. H., Ates, F., & Yagmur, B. (2016). A comparison of soil quality and yield parameters under organic and conventional vineyard systems in Mediterranean conditions (West Turkey). *Biological Agriculture & Horticulture*, 32(2), 73-84.

Olander, L. P., & Vitousek, P. M. (2000). Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, 49(2), 175-191.

Oliveira Freitas N.; Yano-Melo A. M.; Barbosa da Silva F. S.; Franklin de Melo N. & Costa Maia L. (2011). Soil biochemistry and microbial activity in vineyards under conventional and organic management at Northeast Brazil. *Scientia Agrícola*. 68: 223-229.

Ortiz, V. B. (1979). *Fertilidad de suelos*. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México.

Ovalle, A. R. C., Silva, C. F., Rezende, C. E., Gatts, C. E. N., Suzuki, M. S., & Figueiredo, R. O. (2013). Long-term trends in hydrochemistry in the Paraíba do Sul River, southeastern Brazil. *Journal of hydrology*, 481, 191-203.

Pantaleon, S. (2014). Efecto del portainjerto sobre la producción y calidad de la uva para vinificación en la variedad de merlot (*Vitis vinifera* L.).

Paradelo, R., Cárdenes, V., & Barral, M. T. (2011). Descripción da industria galega da lousa e do seu impacto ambiental. *Revista Real Academia Galega de Ciencias*, 30, 65-90.

Paroldi, HE. (2017). Efectos de la utilización de residuos olivícolas como enmienda orgánica sobre la calidad biológica y físicoquímica de suelos cultivados con *Olea europaea* L. en San Juan. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Cuyo.

Paul, EA & FE Clark. (1996). Soil microbiology and biochemistry. Academic Press. San Diego.

Paz-Ferreiro J.; Fu S. (2016). Biological Indices for Soil Quality Evaluation: Perspectives and Limitations. Land degradation & Development. Volume 27, Issue 1, January 2016
Pages 14–25.

Pedraza RO, Teixeira KRS, Fernández Scavino A, García de Salamone I, Baca BE, Azcón R. (2010). Microorganismos que mejoran el crecimiento de las plantas y la calidad de los suelos. Revista Corpoica - Ciencia y Tecnología Agropecuaria. 2010; 11(2): 155-164.

Peregrina, F., Larrieta, C., Ibáñez, S., & García-Escudero, E. (2010). Labile organic matter, aggregates, and stratification ratios in a semiarid vineyard with cover crops. Soil Science Society of America Journal, 74(6), 2120-2130.

Peregrina. F., Larrieta, C., Colina, Mariscal-Sancho M., Martín I., Martínez-Vidaurre, J. M., García-Escudero, E. (2012). Relación entre la respiración del suelo y propiedades indicadoras de la calidad del suelo en un viñedo de La D.O.Ca. Rioja con manejos alternativos. Instituto de Ciencias de la Vid y el Vino-Servicio de Investigación y Desarrollo Tecnológico Agmalirnentario, Gobierno de la Rioja. Logroño. Departamento de Edafología. ETSI Agrónomos. UPM. Madrid.

Peregrina, F., Pilar Pérez-Álvarez, E., & García-Escudero, E. (2014). Soil microbiological properties and its stratification ratios for soil quality assessment under different cover crop management systems in a semiarid vineyard. Journal of Plant Nutrition and Soil Science, 177(4), 548-559.

Peregrina F. (2016). Surface Soil Properties Influence Carbon Oxide Pulses After Precipitation Events in a Semiarid Vineyard Under Conventional Tillage and Cover Crops. Pedosphere 26(4): 499–509.

Persoh, D., Theuerl, S., Buscot, F., Rambold, G. (2008). Towards a universally method for quantitative extraction of high-purity nucleic acids from soil. *J. Microbiol. Methods* 75, 19–24.

Petric, I., Philippot, L., Abbate, C., Bispo, A., Chesnot, T., Hallin, S., Laval, G., Lebeau, T., Lemanceau, P., Leyval, C., Lindström, K., Pandard, P., Romero, E., Sarr, A., Schloter, M., Simonet, P., Smalla, K., Wilke, M., Martin, L.F. (2011). Inter-laboratory evaluation of the ISO standard 11063 soil quality—method to directly extract DNA from soil samples. *J. Mic. Methods* 84, 454–460.

Pino, C., Donoso, E., & Torres, C. (2013). Evaluación de sulfato de cobre pentahidratado en el control de patologías de frutales y vides y efecto en vinificación.

Pino-Torres, C. (2013). Manual de vitivinicultura orgánica. Trama impresores S.A. Chile.

Ponce, T., & Pérez, O. (2002). Celulasas y xilanasas en la industria. XXX Aniversario de Biotecnología y Bioingeniería, 21, 273.

Porta J, Lopez-Acevedo M y Roquero C. (2014). Edafología para la agricultura y el medio ambiente. Ediciones Mundi-prensa (Ed.) Madrid.

Prieto-Méndez, J; F Prieto-García; OA Acevedo-Sandoval & MA Méndez-Marzo. (2013). Indicadores e índices de calidad de los suelos cebaderos del sur del estado de hidalgo, México. *Agr. mesoamericana* 24(1):83-91. ISSN: 1021-7444.

Problemas medioambientales; Atlas Nacional de España, MOPT. (1992).

Probst B, Schüler C, Georg R. 2008. Joergensen Vineyard soils under organic and conventional management—microbial biomass and activity índices and their relation to soil chemical properties. *Biol Fertil Soils* 44:443–450.

Proietti, P., Federici, E., Fidati, L., Scargetta, S., Massaccesi, L., Nasini, L., & Gigliotti, G. (2015). Effects of amendment with oil mill waste and its derived-compost

on soil chemical and microbiological characteristics and olive (*Olea europaea* L.) productivity. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 207, 51-60.

PROSAP (Programa de Servicios Agrícolas Provinciales). (2005). Bases para el recrecimiento y la adecuación del Canal de Norte en la provincia de San Juan. Programa de Servicios Agrícolas Provinciales (PROSAP). San Juan. 320 p.

Qin S., Hu C., He X., Dong W., Cui J., Wang Y. (2010). Soil organic carbon, nutrients and relevant enzyme activities in particle-size fractions under conservational versus traditional agricultural management. *Applied Soil Ecology* 45: 152–159.

Rahman M, Basaglia M, Vendramin E, Boz B, Fontana F, Gumiero B, Casella S. (2014). Bacterial diversity of a wooded riparian strip soil specifically designed for enhancing the denitrification process. *Biol Fertil Soils* 50:25–35.

Raich JW, Schlesinger WH. (1992). The global carbon dioxide flux in soil respiration and its relationship to vegetation and climate. *Tellus B* 44: 81-99.

Reinecke, A. J., Helling, B., Louw, K., Fourie, J., & Reinecke, S. A. (2002). The impact of different herbicides and cover crops on soil biological activity in vineyards in the Western Cape, South Africa. *Pedobiologia*, 46(5), 475-484.

Rhoades, J. D. (1996). Salinity: Electrical conductivity and total dissolved solids. *Methods of Soil Analysis Part 3—Chemical Methods*, (methodsofsoilan3), 417-435.

Rivera Medina, A. M. (2006). Entre la cordillera y la Pampa: la vitivinicultura en Cuyo, Argentina (s XVIII). San Juan, EFU.

Rodicio, M., & del Carmen Mendoza, M. (2004). Identificación bacteriana mediante secuenciación del ARNr 16S: fundamento, metodología y aplicaciones en microbiología clínica. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*, 22(4), 238-245.

Rodríguez, I. (2016). ¿Cómo se poda la vid? ¿Poda temprana o tardía? www.vitivinicultura.net/sección/trabajos_en_el_viñedo.

Roldán, A., García-Orenes, F. y Lax, A. (1994). An incubation experiment to determinate factors involving aggregation changes in an arid soil receiving urban refuse. *Soil Biol. Biochem.* 26:1699-1707.

Roper, MM & KM Ophel-Keller. (1998). Soil microflora as bioindicators of soil health. Pp. 157-178 en: CE Pnakhurst; BM Doube & VV Gupta (eds). *Biological indicators of soil health*. CABI. Wallingford.

Ros M, Pascual JA, Hernandez MT. (2009). Long-term effects of devegetation on composition and activities (including transcription) of fungal communities of a semi-arid soil. *Biol Fert Soils* 45: 435-441.

Roslycky, EB. (1982). Glyphosate and the response of the soil microbiota. *Soil Biol. Biochem.* 14:87-92.

Rotenberg, D., Wells, A. J., Chapman, E. J., Whitfield, A. E., Goodman, R. M., & Cooperband, L. R. (2007). Soil properties associated with organic matter-mediated suppression of bean root rot in field soil amended with fresh and composted paper mill residuals. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(11), 2936-2948.

Ruiz-Colmenero, M., Bienes, R., Eldridge, D. J., & Marques, M. J. (2013). Vegetation cover reduces erosion and enhances soil organic carbon in a vineyard in the central Spain. *Catena*, 104, 153-160.

Rusjan D, Strlic M, Pucko D, Korosec-Koruza Z. (2007). Copper accumulation regarding the soil characteristics in Sub-Mediterranean vineyards of Slovenia. *Geoderma* 141:111-118.

Salome, C., Coll, P., Lardo, E., Villenave, C., Blanchart, E., Hinsinger, P., Le Cadre, E. (2014). Relevance of use-invariant soil properties to assess soil quality of vulnerable ecosystems: The case of Mediterranean vineyards. *Ecological Indicators*, 43, 83-93.

BIBLIOGRAFÍA

Salomé, C., Coll, P., Lardo, E., Metay, A., Villenave, C., Marsden, C. & Le Cadre, E. (2016). The soil quality concept as a framework to assess management practices in vulnerable agroecosystems: a case study in Mediterranean vineyards. *Ecological Indicators*, 61, 456-465.

Sánchez-Moreno, S., Minoshima, H., Ferris, H., & Jackson, L. E. (2006). Linking soil properties and nematode community composition: effects of soil management on soil food webs. *Nematology*, 8(5), 703-715.

Sánchez Fernández, C. (2015). Efectos de los distintos manejos agrícolas, fertilización tradicional y agricultura ecológica, en las distintas propiedades del suelo. Tesis para acceder al título de Lic. en Ciencias Ambientales. Universidad Miguel Hernández.

Sánchez, M.; Fernández, M.; Folguera, A.; Martínez, M. & Álvarez, O. (2016). Structural interpretation of the northern flatslab zone from magnetic data. *precordillera of San Juan and La Rioja. Geoacta* 40(2): 98-108.

Schreck, E., Foucault, Y., Sarret, G., Sobanska, S., Cécillon, L., Castrec-Rouelle, M. & Dumat, C. (2012). Metal and metalloid foliar uptake by various plant species exposed to atmospheric industrial fallout: mechanisms involved for lead. *Science of the Total Environment*, 427, 253-262.

Shepard HL. (2006). Quantification of erosion rates for various vineyard management practices. *Am J Enol Viticult* 57: 387A.

SIGA (Sistema de información y gestión agrometeorológico). (2016). Datos de precipitación y temperatura INTA Caucete. <http://www.inta.gob.ar>.

SINAVIMO (Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas). (2016). <http://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/vitis-vinifera>.

Schmeisser, C., Steele, H., Streit, W.R. (2007). Metagenomics, biotechnology with nonculturable microbes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 75, 955–962.

SQI-Soil Quality Institute. (1996). Indicators for Soil Quality Evaluation. USDA Natural Resources Conservation Service. Prepared by the National Soil Survey Center in cooperation with The Soil Quality Institute, NRCS, USDA, and the National Soil Tilth Laboratory, Agricultural Research Service. USA.

Sinsabaugh, R. S. (1994). Enzymic analysis of microbial pattern and process. *Biology and Fertility of Soils*, 17(1), 69-74.

Smith, P. (2008). Land use change and soil organic carbon dynamics. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, 81(2), 169-178.

Solé-Mercadé, J. (2013). *El huerto ecológico: un oasis de vida*. NED Ediciones.

Sparling, GP. (1998). Soil microbial biomass, activity and nutrient cycling as indicators of soil health. Pp. 97-119 en: CE Pnakhurst; BM Doube & VV Gupta (eds). *Biological indicators of soil health*. CABI. Wallingford.

Spedding, T. A., Hamel, C., Mehuys, G. R. y Madramootoo, C. A. (2004). Soil microbial dynamics in maize-growing soil under different tillage and residue management systems. *Soil Biol Biochem*, 36(3), 499-512.

Steenwerth, K., & Belina, K. M. (2008). Cover crops enhance soil organic matter, carbon dynamics and microbiological function in a vineyard agroecosystem. *Applied soil ecology*, 40(2), 359-369.

Stenström, J., Stenberg, B., & Johansson, M. (1998). Kinetics of substrate-induced respiration (SIR): theory. *Ambio*, 35-39.

Studdert, G. A., Domínguez, G. F., Zagame, M. C., & Carabaca, J. C. (2015). Variación estacional de carbono orgánico particulado y nitrógeno anaeróbico. Seasonal variation of particulate organic carbon and anaerobic nitrogen. *Ciencia del suelo. Revista de la Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo.*, 33(1).

BIBLIOGRAFÍA

Suvires, G. M. (2004). Distribución de los suelos en función del relieve y de la neotectónica en la región sureste de la provincia de San Juan. *Revista de la Asociación Geológica Argentina*, 59 (3), 376-384.

Tabatabai, M. A., & Bremner, J. M. (1970). Arylsulfatase activity of soils. *Soil Science Society of America Journal*, 34(2), 225-229.

Tabatabai, M. A. (1982). Page A L, Miller R H & Keeney D R (eds) *Soil Enzymes*. En: *Methods of Soil Analysis. Chemical and Microbiological Properties Part 2*: 903-947 2nd Ed. Agronomy 9, ASA-SSSA. Madison.

Tabatabai. (1994). *Soil Enzymes*. En: Page, A.L., Miller, R.H., and Keeney, D.R. (Eds.). *Methods of Soil Analysis. Part 2, Microbiological and Biochemical Properties*, Book Series nº 5. Soil Sci. Soc. Amer., Madison, pp. 903-968).

Taylor J.P., Wilson B., Mills M.S. Burns R.G. (2002). Comparison of microbial numbers and enzymatic activities in surface soils and subsoils using various techniques. *Soil Biology & Biochemistry*. 34: 387-40.

Team, R. C. (2016). *R: A language and environment for statistical computing*. Vienna: R Foundation for Statistical Computing.

Tejada, M.; García-Martínez, A.M.; Parrado, J. (2009). Effects of vermicompost composted with beet vinasse on soil properties, soil losses and soil restoration. *Catena* 77, 238-247

Tilak, K. V. B. R., Ranganayaki, N., Pal, K. K., De, R., Saxena, A. K., Nautiyal, C. S. & Johri, B. N. (2005). Diversity of plant growth and soil health supporting bacteria. *Current science*, 89(1), 136-150.

Tránsito, S., Arturo, J., Palacios Vélez, O., Galvis Spínola, A., Gavi Reyes, F., & Mejía Sáenz, E. (2012). Efecto de la calidad de agua del acuífero Valle de Guadalupe en la salinidad de suelos agrícolas. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 3(1), 79-95.

Trasar-Cepeda, C., Leirós, M. C., & Gil-Sotres, F. (2008). Hydrolytic enzyme activities in agricultural and forest soils. Some implications for their use as indicators of soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(9), 2146-2155.

Tripathi, S., Chakraborty, A., Chakrabarti, K., & Bandyopadhyay, B. K. (2007). Enzyme activities and microbial biomass in coastal soils of India. *Soil Biology and Biochemistry*, 39(11), 2840-2848.

Uliarte, E. M. (2013). Especies herbáceas nativas: aportes para su cultivo como coberturas vegetales en viñedos bajo riego en Mendoza: estudios de intercambio gaseoso, eficiencia hídrica y potencial alelopático de lixiviados. RDU (Repositorio digital de la UNC).

Valor O, Sánchez J. (2013). Compostaje de residuos agroindustriales de uva (*Vitis vinifera* L.) en condiciones tropicales. *Rev. Unell. Cienc. Tec.* 31: 19-25.

Van Bruggen, A. H. C., & Semenov, A. M. (2000). In search of biological indicators for soil health and disease suppression. *Applied Soil Ecology*, 15(1), 13-24.

Vaudour, E., Costantini, E., Jones, G.V., Mocali, S. (2015). An overview of the recent approaches to terroir functional modelling, footprinting and zoning. *Soil* 1, 287–312.

Vavoulidou E, Avramide EJ, Papadopoulos P, Dimirkou A, Charoulis A, Konstantinidou-Doltsinis S. (2005). Copper content in agricultural soils related to cropping systems in different regions of Greece. *Commun Soil Sci Plan.* 36:759-773.

Vazquez, C., Merlo, C., Noe, L. B., Romero, C., Abril, A., & Carranza, C. A. (2013). Sustainability/resilience of soil organic matter components in an Argentinean arid region.

Vega Ávila, Á. D., Toro, M. E., Baigori, M., Fernández, L., & Vázquez, F. (2010). Influencia de la vegetación en la variación espacial de la abundancia de

microorganismos en el desierto del Monte, San Juan, Argentina. *Ecología austral*, 20(3), 247-256.

Violic, A. D. (1998). Labranza convencional y labranza de conservación: definición de conceptos. *Labranza de conservación en maíz*. CIMMYT, México, 5-11.

Virto, I., Barré, P., Burlot, A., & Chenu, C. (2012). Carbon input differences as the main factor explaining the variability in soil organic C storage in no-tilled compared to inversion tilled agrosystems. *Biogeochemistry*, 108(1-3), 17-26.

Virto, I., Imaz, M. J., Fernández-Ugalde, O., Gartzia-Bengoetxea, N., Enrique, A., & Bescansa, P. (2014). Soil degradation and soil quality in Western Europe: current situation and future perspectives. *Sustainability*, 7(1), 313-365.

Visser, S., & Parkinson, D. (1992). Soil biological criteria as indicators of soil quality: soil microorganisms. *American Journal of Alternative Agriculture*, 7(1-2), 33-37.

Voget, S., Leggwie, C., Uesbeck, A., Rasasch, C., Jaeger, K.E., Streit, W. R. (2003). Prospecting for novel biocatalysts in a soil metagenome. *Appl. Environ Microbiol.* 69, 6235–6242.

Wail R. & Brady N. (2016). *The Nature and Properties of Soils*. Fifteenth Edition. ISBN 9780133254488.

Wardle, DA & D Parkinson. (1990). Effects of three herbicides on soil microbial activity and biomass. *Plant Soil* 122:21-28.

Warkentin, BP. (1996). Overview of soil quality indicators. Pp. 1-13. In: GM Cohen & HS Vanderpluym (eds.). *Proc. Soil Quality Assessment for the Prairies*, Agric. Canada, Edmonton.

Watts, C.W, S. Eich, and A.R. Dexter. (2000). Effects of mechanical energy inputs on soil respiration at the aggregate and field scales. *Soil Tillage Res.* 53:231-243.

Whitelaw-Weckert. M. (2004) .The effect of herbicides and permanent swards on soil microbial populations in the vineyard. Super Soil 2004: 3rd Australian New Zealand Soils Conference, 5 – 9 December 2004, University of Sydney, Australia. Published on CDROM. Website ww.regional.org.au/au/asssi/.

Wightwick AM, Mollah MR, Partington DL, Allison G. (2008). Copper fungicides residues in Australian vineyard soils. *J Agr Food Chem.* 56:2457-2464.

Wightwick, A. M., Salzman, S. A., Reichman, S. M., Allinson, G., & Menzies, N. W. (2013). Effects of copper fungicide residues on the microbial function of vineyard soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(3), 1574-1585.

Wightwick, A. M., Salzman, S. A., Reichman, S. M., Allinson, G., & Menzies, N. W. (2013). Effects of copper fungicide residues on the microbial function of vineyard soils. *Environmental Science and Pollution Research*, 20(3), 1574-1585.

Yang X.; Liu J.; Mc Grouther K.; Huang H.; Lu K.; Guo X.; He L.; Lin X.; Che L.; Ye Z.; Wang H. (2016). Effect of biochar on the extractability of heavy metals (Cd, Cu, Pb, and Zn) and enzyme activity in soil. *Environmental Science and Pollution Research*, Volume 23, Issue 2, pp 974–984.

Yu, C.; X.M. Hu; W. Deng; Y. Li; C. Xiong; C.H. Ye; G.M. Han and X. Li. (2015). Changes in soil microbial community structure and functional diversity in the rhizosphere surrounding mulberry subjected to longterm fertilization. *Applied Soil Ecology* 86: 30-40.

Zehetner, F., Djukic, I., Hofmann, R., Kühnen, L., Rampazzo-Todorovic, G., Gerzabek, M. H., & Soja, G. (2015). Soil organic carbon and microbial communities respond to vineyard management. *Soil Use and Management*, 31(4), 528-533.

Zhao, G., Mu, X., Wen, Z., Wang, F. y Gao, P. (2013). Soil erosion, conservation, and Eco-environment changes in the Loess Plateau of China, *Land Degrad. Dev.*, 24, 499-510, DOI 10.1002/ldr.2246.

BIBLIOGRAFÍA

Zhao J.; Ni T., Li J., Lu Q., Fang Z., Huang Q., Zhangd R., Li R., Shen B., Shen Q. (2016). Effects of organic–inorganic compound fertilizer with reduced chemical fertilizer application on crop yields, soil biological activity and bacterial community structure in a rice–wheat cropping system. *Applied Soil Ecology* Volume 99, March 2016, Pages 1-12.

Zinn, Y. L., Resck, D. V., & da Silva, J. E. (2002). Soil organic carbon as affected by afforestation with Eucalyptus and Pinus in the Cerrado region of Brazil. *Forest Ecology and Management*, 166(1), 285-294.

Zúñiga, F., Luna Pabello, V., & DurándeBazúa, C. (1995). El suelo: un reactor químico muy interesante. *Educación Química* 6, 226, 230.

ANEXO

Análisis Estadísticos

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_pH	72	0,07	0,05	7,93

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,14	2	0,07	2,76	0,0706
Manejos	0,14	2	0,07	2,76	0,0706
Error	1,77	69	0,03		
Total	1,91	71			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,11099

Error: 0,0257 gl: 69

Manejos	Medias	n
Conv	1,96	24
Org	2,04	24
Min	2,06	24

Letras distintas indican diferencias significativas(p<= 0,05)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
MOS	72	0,54	0,53	20,99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19,22	2	9,61	40,52	<0,0001
Manejos	19,22	2	9,61	40,52	<0,0001
Error	16,36	69	0,24		
Total	35,58	71			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,33727

Error: 0,2371 gl: 69

Manejos	Medias	n
Min	1,67	24
Conv	2,35	24
Org	2,94	24

Letras distintas indican diferencias significativas (p<= 0,05)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_P	72	0,17	0,15	8,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	2,49	2	1,25	7,18	0,0015
Manejos	2,49	2	1,25	7,18	0,0015
Error	11,98	69	0,17		
Total	14,47	71			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,28854

Error: 0,1736 gl: 69

Manejos	Medias	n
Conv	4,41	24
Min	4,7	24
Org	4,86	24

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_K	72	0,14	0,12	14,55

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	8,84	2	4,42	5,79	0,0047
Manejos	8,84	2	4,42	5,79	0,0047
Error	52,64	69	0,76		
Total	61,48	71			

Test: Tukey Alfa: =0,05 DMS: =0,60493

Error: 0,7629 gl: 69

Manejos	Medias	n
Conv	5,53	24
Org	6,09	24
Min	6,38	24

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_Cu	72	0,93	0,93	6,07

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,06	2	3,03	471,51	<0,0001
Manejos	6,06	2	3,03	471,51	<0,0001
Error	0,44	69	0,01		
Total	6,5	71			

Test: Tukey Alfa: =0,05 DMS: =0,05552

Error: 0,0064 gl: 69

Manejos	Medias	n
Conv	1	24
Org	1,26	24
Min	1,7	24

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
N	72	0,18	0,15	21,99

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1145112,69	2	572556,35	7,39	0,0012
Manejos	1145112,69	2	572556,35	7,39	0,0012

Error 5342377,63 69 77425,76
 Total 6487490,32 71

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=192,71743

Error: 77425,7627 gl: 69

Manejos	Medias	n	
Conv	1136,54	24	A
Min	1222,92	24	A
Org	1436,58	24	B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_CBM	72	0,07	0,05	43,88

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10,85	2	5,43	2,79	0,0681
Manejos	10,85	2	5,43	2,79	0,0681
Error	133,97	69	1,94		
Total	144,82	71			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,96505

Error: 1,9415 gl: 69

Manejos	Medias	n	
Conv	2,78	24	A
Min	3,04	24	A
Org	3,7	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_Xi	72	0,06	0,03	44,42

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	6,35	2	3,17	2,27	0,1105
Manejos	6,35	2	3,17	2,27	0,1105
Error	96,25	69	1,39		
Total	102,59	71			

Test:Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,81798

Error: 1,3949 gl: 69

Manejos	Medias	n	
Conv	2,38	24	A
Org	2,53	24	A
Min	3,07	24	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_Ce	72	0,11	0,08	66,88

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		22,9	2	11,45	4,19	0,0191
Manejos		22,9	2	11,45	4,19	0,0191
Error	188,4	69	2,73			
Total	211,3	71				

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=1,14445

Error: 2,7305 gl: 69

Manejos	Medias	n		
Conv	1,79	24	A	
Min	2,44	24	A	B
Org	3,17	24	B	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_Am	72	0,1	0,07	50,52

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		14,06	2	7,03	3,63	0,0317
Manejos		14,06	2	7,03	3,63	0,0317
Error	133,69	69	1,94			
Total	147,75	71				

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,96406

Error: 1,9375 gl: 69

Manejos	Medias	n		
Conv	2,16	24	A	
Org	2,9	24	A	B
Min	3,21	24	B	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_?Glu	72	0,15	0,12	35,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor	
Modelo		21,12	2	10,56	6,06	0,0037
Manejos		21,12	2	10,56	6,06	0,0037
Error	120,13	69	1,74			
Total	141,25	71				

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,91386

Error: 1,7410 gl: 69

Manejos	Medias	n		
Min	3,08	24	A	
Conv	3,7	24	A	B
Org	4,41	24	B	

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_FAc	72	0,14	0,12	57,36

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19,05	2	9,52	5,72	0,005
Manejos	19,05	2	9,52	5,72	0,005
Error	114,97	69	1,67		
Total	134,02	71			

Test: Tukey Alfa: =0,05 DMS: =0,89401

Error: 1,6662 gl: 69

Manejos	Medias	n
Min	1,85	24
Conv	1,92	24
Org	2,98	24

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_FAI	72	0,07	0,04	55,88

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	12,2	2	6,1	2,67	0,0763
Manejos	12,2	2	6,1	2,67	0,0763
Error	157,63	69	2,28		
Total	169,83	71			

Test: Tukey Alfa: =0,05 DMS: =1,04681

Error: 2,2845 gl: 69

Manejos	Medias	n
Conv	2,26	24
Min	2,6	24
Org	3,25	24

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
LN_Bacterias	72	0,17	0,14	3,65

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	0,07	2	0,03	6,96	0,0018
Manejos	0,07	2	0,03	6,96	0,0018
Error	0,34	69	5,00E-03		
Total	0,41	71			

Test: Tukey Alfa: =0,05 DMS: =0,04881

Error: 0,0050 gl: 69

Manejos	Medias	n		
Conv	1,89	24	A	
Min	1,93	24	A	B
Org	1,97	24		B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hongos	72	0,18	0,15	10,59

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,55	2	1,77	7,43	0,0012
Manejos	3,55	2	1,77	7,43	0,0012
Error	16,47	69	0,24		
Total	20,01	71			

Test: Tukey Alfa: =0,05 DMS: =0,33835

Error: 0,2387 gl: 69

Manejos	Medias	n		
Min	4,42	24	A	
Conv	4,49	24	A	
Org	4,92	24		B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

1.2 ANOVA -Micrositios-

Análisis de la varianza

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Bacterias	72	0,2	0,14	6,86

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,68	5	0,74	3,27	0,0106
Tratamientos	3,68	5	0,74	3,27	0,0106
Error	14,86	66	0,23		
Total	18,55	71			

Test: Tukey Alfa: =0,05 DMS: =0,56932

Error: 0,2252 gl: 66

Tratamientos	Medias	n		
IF (Conv)	6,54	12	A	
F (Conv)	6,77	12	A	B
IF (Mín)	6,81	12	A	B
F (Mín)	7,04	12	A	B
F (Org)	7,15	12		B
IF (Org)	7,17	12		B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Hongos	72	0,2	0,14	10,7

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	3,93	5	0,79	3,23	0,0115
Tratamientos	3,93	5	0,79	3,23	0,0115
Error	16,08	66	0,24		
Total	20,01	71			

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=0,59223

Error: 0,2437 gl: 66

Tratamientos	Medias	n
IF (Conv)	4,37	12
IF (Mín)	4,41	12
F (Mín)	4,43	12
F (Conv)	4,61	12
IF (Org)	4,89	12
F (Org)	4,96	12

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
CBM	72	0,17	0,11	126,69

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	48477,68	5	9695,54	2,74	0,026
Tratamientos	48477,68	5	9695,54	2,74	0,026
Error	233316,86	66	3535,1		
Total	281794,54	71			

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=71,33226

Error: 3535,1039 gl: 66

Tratamientos	Medias	n
IF (Conv)	26,81	12
F (Mín)	27,04	12
F (Conv)	33,28	12
IF (Mín)	38,7	12
F (Org)	54,77	12
IF (Org)	101	12

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Xi	72	0,04	0	95,43

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	1911,37	5	382,27	0,61	0,6891
Tratamientos	1911,37	5	382,27	0,61	0,6891
Error	41053,91	66	622,03		
Total	42965,29	71			

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=29,92197

Error: 622,0290 gl: 66

Tratamientos	Medias	n
IF (Conv)	20,72	12
F (Conv)	21,21	12

F (Org)	21,87	12	A
IF (Mín)	29,1	12	A
IF (Org)	29,65	12	A
F (Mín)	34,28	12	A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Ce	72	0,11	0,04	114,95

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	10599,93	5	2119,99	1,63	0,1637
Tratamientos	10599,93	5	2119,99	1,63	0,1637
Error	85710,96	66	1298,65		
Total	96310,89	71			

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=43,23457

Error: 1298,6509 gl: 66

Tratamientos Medias	n
F (Conv)	18,32 12 A
IF (Conv)	20,7 12 A
F (Mín)	22,66 12 A
IF (Org)	33,54 12 A
F (Org)	40,79 12 A
IF (Mín)	52,1 12 A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
Am	72	0,06	0	172,81

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	19856,65	5	3971,33	0,9	0,4886
Tratamientos	19856,65	5	3971,33	0,9	0,4886
Error	292309,07	66	4428,93		
Total	312165,72	71			

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=79,84249

Error: 4428,9253 gl: 66

Tratamientos Medias	n
IF (Conv)	10,9 12 A
IF (Org)	26,79 12 A
F (Conv)	35,93 12 A
F (Org)	45,21 12 A
IF (Mín)	49,66 12 A
F (Mín)	62,58 12 A

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)

Variable	N	R ²	R ² Aj	CV
----------	---	----------------	-------------------	----

FAI 72 0,16 0,09 93,39

Cuadro de Análisis de la Varianza (SC tipo III)

F.V.	SC	gl	CM	F	p-valor
Modelo	9984,42	5	1996,88	2,46	0,0419
Tratamientos	9984,42	5	1996,88	2,46	0,0419
Error	53592,81	66	812,01		
Total	63577,23	71			

Test: Tukey Alfa:=0,05 DMS:=34,18741

Error: 812,0123 gl: 66

Tratamientos Medias n

IF (Mín) 20,43 12 A

IF (Conv) 22,04 12 A B

F (Conv) 25,65 12 A B

F (Org) 28,25 12 A B

F (Mín) 31,1 12 A B

IF (Org) 55,6 12 B

Letras distintas indican diferencias significativas ($p \leq 0,05$)