

Metodologías microbiológicas de indicadores ambientales de suelo

Instituto Agrotécnico Pedro M. Fuentes Godo



Metodologías microbiológicas de indicadores ambientales de suelo

Instituto Agrotécnico Pedro M. Fuentes Godo

María Elena Castelán · Claudina María Hack
Miriam Porta · Cristina Esther Sotelo

COORDINADORAS

Silvia A. Arzuaga · Karina R. Ávalos Llano
Natalia Banegas · Sebastián Carnicer
Mónica M. Collavino · Stella M. Contreras Leiva
Amilcar Correa · Marcela R. Cossoli
Mario R. Delfino · Mariana Ferrerira
Daniela González · Daniel H. Grasso
María C. Iglesias · Natalia Mansilla
Cecilia Martin · Gernán L. Pérez
José M. Recalde · Amalia M. E. Romero
Julieta Rojas · Matías H. Serafini
Andrea A. Sirio · Cristina E. Sotelo
Marcela Toledo · Emilce Viruel

Metodologías microbiológicas de indicadores ambientales de suelo / Silvia A. Arzuaga ... [et al.]; coordinación general de María Elena Castelán ... [et al.]. - 1a edición para el alumno - Corrientes : Editorial de la Universidad Nacional del Nordeste EUDENE ; Instituto Agrotécnico Pedro M. Fuentes Godo, 2022. Libro digital, PDF - (Ciencia y técnica)

Archivo Digital: descarga

ISBN 978-950-656-211-3

1. Técnicas de Análisis. 2. Microbiología. 3. Suelos. I. Arzuaga, Silvia A. II. Castelán, María Elena, coord.

CDD 577.57

Edición: Irina Wandelow

Corrección: Facundo Alarcón / Irina Wandelow

Diseño y diagramación: Julia Caplan



© EUDENE. Coordinación de Comunicación Institucional, Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina, 2023.

Queda hecho el depósito que marca la ley 11.723.
Reservados todos los derechos.

25 de Mayo 868 (cp 3400) Corrientes, Argentina.
Teléfono: (0379) 4425006
eudene@unne.edu.ar / www.eudene.unne.edu.ar

Capítulo 1. Muestreo de suelo para análisis biológicos

Sebastián Carnicer, Amalia M. E. Romero
y Julieta Rojas

La calidad del suelo es un concepto multidimensional que puede ser evaluado desde diversos enfoques, tanto en agroecosistemas, con énfasis en el servicio ecosistémico de provisión con el foco principal en la productividad, como en ecosistemas naturales donde los principales objetivos son mantener la calidad ambiental y conservar la biodiversidad (Bünemann *et al.*, 2018). Desde el punto de vista netamente productivo, con la finalidad de maximizar la producción, la calidad del suelo se define como su capacidad o aptitud para soportar el crecimiento de las plantas sin que esto provoque la degradación del suelo o un daño ambiental (Wilson y Sasal, 2017).

Cualquiera sea el fin de la evaluación, la calidad o salud del suelo puede evaluarse a través de diversas técnicas de campo o laboratorio que incluyen análisis de las propiedades físicas, químicas y biológicas. Es dentro de estas últimas que se evalúan las poblaciones y propiedades microbianas, jugando los organismos un rol central en el funcionamiento del suelo. Por otra parte, a nivel global y a los fines prácticos de todo sistema de evaluación de calidad del suelo, se han establecido diversos criterios para seleccionar indicadores de calidad de suelos entre los diversos parámetros a ser determinados. Estos criterios son: que se encuentren relacionados a funciones del suelo y procesos ecosistémicos, que permitan la estimación de propiedades y funciones difícilmente mensurables, que sean fáciles de muestrear y medir (simples y prácticos), que sean sensibles temporal y espacialmente, y que sean fáciles de interpretar (Bünemann *et al.*, 2018).

El suelo es considerado un cuerpo de material heterogéneo cuyas características en el paisaje varían en sentido vertical, horizontal y temporal (Álvaro García, 2015; Friedrich, 2017; Chillón Camacho,

2018). El sentido vertical puede ser definido principalmente por sus horizontes pedogenéticos originados por los factores y procesos formadores de suelo. Dentro de las causas de variación horizontal tenemos principalmente al relieve y, por último, las temporales se deben a las condiciones estacionales del clima. Además de estas características genéticas, existen otras causas de alteración o cambio de origen antrópico que están relacionadas con el uso del suelo, las rotaciones de cultivos y especies utilizadas, la fertilización y los sistemas de labranza (Henríquez y Viloria, 1999; Martínez Cruz *et al.*, 2002; Camargo-Ricalde y Esperón-Rodríguez, 2005; Siqueira *et al.*, 2007; Osorio, 2012; Carretero *et al.*, 2016).

La evaluación de propiedades biológicas como una dimensión de la calidad del suelo es una tarea compleja ya que el mismo puede albergar, por unidad de volumen, alta biodiversidad y número de microorganismos en forma muy heterogénea; la muestra que se recolecta debe reflejar esa variabilidad, además de los impactos o las variaciones correspondientes a la situación en estudio. Se ha calculado que un gramo de suelo fértil puede contener entre 17 a 112 células microbianas y miles de especies diferentes.

Así también, la variación temporal y espacial del suelo es determinante para la medición de parámetros microbianos, dado que pueden aumentar en varios órdenes de magnitud a través de superficies menores a una hectárea o de semana a semana. Por lo tanto, cuando mayor variación espacial o temporal presente un determinado parámetro microbiano, mayor será la cantidad de muestras necesarias de ser analizadas para capturar adecuadamente esa variación y tomar decisiones robustas basadas en los resultados analíticos (Fierer *et al.*, 2021).

Nuevos enfoques de investigación centrados en la rizósfera y los *hotspots* (puntos calientes) microbianos complejizan los criterios para un muestreo representativo, ya que ponen en evidencia que no solo la dinámica de la población microbiana es función de múltiples y diversos factores naturales y antrópicos como el ambiente predominante, las prácticas de manejo del suelo y la aplicación de fertilizantes, abonos o enmiendas, entre otros, sino que además se encuentra puntualmente concentrada en regiones que representan una proporción muy pequeña respecto a la masa total del suelo (Kuzyakov y Blagodatskaya, 2015; Bach *et al.*, 2018; Bilyera *et al.*, 2020). Los factores de manejo tienen efecto directo sobre la materia orgánica del suelo, sustrato sobre el que se sustenta la actividad microbiana (Ortíz-Maya *et al.*, 2017; Rosero *et al.*, 2019) y el microbioma de la rizósfera, ambiente puntual donde las plantas generan una asociación estrecha con microorganismos específicos que, influenciada por las secreciones radicales, puede contener

entre 10 y 11 células microbianas por gramo de raíz y más de 30 000 especies procariontas (Berendsen *et al.*, 2012).

En los últimos años se ha determinado que, condiciones homogéneas de suelo no representan similar actividad, dada la existencia de estos *hotspots* microbianos: pequeños volúmenes de suelo con velocidades de procesos mucho más rápidas e interacciones más intensivas, comparadas con las condiciones promedio del suelo.

La actividad microbiana se encuentra limitada en todos los suelos por el carbono lábil y la energía disponible, y se han agrupado los principales *hotspots* según las fuentes de alta entrada de carbono en rizósfera, detritósfera, bioporos y la superficie de los agregados, cuya distribución e importancia depende del ecosistema y la profundidad (Kuziyakov y Blagodatskaya, 2015). El tamaño de dichos *hotspots* oscilaría entre 3 y 4 órdenes de magnitud, desde pocos μm hasta varios mm, reflejando no solo la variación y las incertidumbres en la distribución espacial de los parámetros biológicos, sino también en las tasas de procesos que varían ampliamente con relación a la masa total del suelo, al que se lo ha denominado un «desierto», donde la vida se encuentra discretamente distribuida, habiéndose determinado a partir del procesamiento estadístico de imágenes en las que, para un área determinada de imagen de la rizósfera, los *hotspots* pueden hallarse ocupando entre 0,2 y 23% de la superficie total (Bilyera *et al.*, 2020; Kuziyakov y Blagodatskaya, 2015).

Por otra parte, estudios orientados a demostrar el potencial de información que poseen las fracciones de agregados del suelo demostraron que la diversidad proporcional total del suelo resulta en 65% más de riqueza bacteriana y 100% más de riqueza fúngica que el total del suelo a causa de que los agregados y los poros, dentro de ellos, generan microhábitats, donde la cantidad y el tipo de sustratos orgánicos conducen la actividad microbiana, siendo incluso diferentes las comunidades de hongos y bacterias en macro y microagregados (Bach *et al.*, 2018).

Estos autores establecen que, dada la heterogeneidad de las partículas de suelo y la abundancia relativa de microagregados, los métodos tradicionales de muestreo podrían no capturar la diversidad completa de la comunidad microbiana del suelo. Sin embargo, rescatan la utilidad de los muestreos de la masa del suelo completa para representar respuestas a diferentes manejos y la importancia de sumar nuevos enfoques para probar hipótesis con relación a la estructura de las comunidades y el reciclaje de la materia orgánica.

Por lo tanto, a causa de las diferentes fuentes de variabilidad, el muestreo de suelo se considera una herramienta crucial a la hora de realizar una evaluación apropiada de las condiciones edáficas presentes en un sitio y momento determinado. Un muestreo adecuado debe arrojar información representativa del conjunto total del suelo al que pertenece la muestra y es por este motivo que se encuentran en discusión actualmente la facilidad de interpretación y la credibilidad de las inferencias que se realizan a partir de métricas microbianas respecto del estado de salud de los suelos (Fierer *et al.*, 2021). El muestreo es el primero de una serie de pasos a la hora de evaluar o caracterizar el suelo que antecede a los procesos analíticos de caracterización y su posterior diagnóstico (Álvarez *et al.*, 2008; Carretero *et al.*, 2016).

Actualmente, diversos trabajos orientados al estudio del microbioma del suelo, la diversidad microbiana, organismos o actividades microbianas específicas orientan el muestreo a áreas puntuales de la masa total del suelo, como la rizósfera o diversos tamaños de agregados, donde se considera que la actividad es mayor o se plantea como una hipótesis de investigación (Bach *et al.*, 2018; Maron *et al.*, 2011). Se podría en este caso considerar la masa total del suelo como otra situación de muestreo dentro del mismo estudio.

En ciencias de la tierra, por lo general, la unidad de muestreo es el lote de producción o con características ambientales específicas, pero esto dependerá de la heterogeneidad del mismo, ya que dentro de un mismo lote pueden existir diferentes unidades muestrales delimitadas, según una o varias cualidades: zona alta y baja, existencia de vegetación natural, manejos diferentes o condiciones de fertilidad contrastantes, zonas con manchones salinos, etc. (Álvarez *et al.*, 2008). Dado que la cantidad de muestra a extraer es pequeña (entre 0,5 y 1 kg), en comparación a los 2,500 Mg que pesa una hectárea en promedio, el muestreo es la etapa más crítica en un proceso evaluativo de la fertilidad (Carretero *et al.*, 2016; Conti, 2005). A su vez, a causa de que este compendio de metodologías analíticas abarca diversas formas de estudiar la actividad microbiana del suelo, es necesario considerar cómo atenuar, orientar a regiones específicas y/o tener en cuenta los factores que influyen sobre la presencia y actividad de las comunidades microbianas en el momento de muestreo, ya que de ello también depende que la muestra represente a la población o la función ecosistémica en estudio.

1.1. DELIMITACIÓN DE LA UNIDAD DE MUESTREO

Para delimitar una unidad de muestreo, se deben tener en cuenta la topografía (relieve), la vegetación y la historia del lote, como también las situaciones denominadas no representativas o especiales.

1.1.1. Topografía, vegetación e historia del lote

Como se mencionó anteriormente, las fuentes de variabilidad espaciales del suelo pueden ser de origen natural o antrópico. En esta etapa es muy útil contar previamente con información general de los suelos de la región (topografía). Como primer paso, se debería consultar en gabinete la información existente: cartas de suelo disponibles, series de suelo presentes, imágenes satelitales actualizadas para evaluar zonas homogéneas por vegetación o paisaje, profundidad de horizontes, textura predominante y vegetación original para definir una primera delimitación de posibles unidades muestrales. Esto facilitará las tareas posteriores en el terreno y la optimización de la cantidad de muestras a extraer (Chang *et al.*, 2006; Carretero *et al.*, 2016), lo que es relevante desde el punto de vista económico, puesto que el costo de los análisis es muchas veces un factor limitante en trabajos de investigación y extensión.

Como segundo paso, y con la información recabada, ya se puede realizar *in situ* un relevamiento para dividir el área o lote a muestrear en zonas homogéneas, de acuerdo con diferencias naturales visibles (relieve, vegetación, drenaje, erosión, ver Figura N° 1) y diferencias de manejo (rotaciones, cultivos, tipo de labranza, fertilización), que son determinantes de las propiedades edáficas actuales y de la diversidad y actividad microbiana al generar un mosaico complejo a nivel espacial (Carretero *et al.*, 2016; Ortiz-Maya *et al.*, 2017).

La vegetación presente, por su lado, condiciona la actividad microbiana, a diferencia de un suelo sin vegetación, como se expresó previamente, y su presencia genera una rizósfera determinada que influye activamente en el suelo en esa zona y aumenta la complejidad del ecosistema.

El aumento de la abundancia y la actividad microbiana están dados por la liberación de carbono orgánico y otros rizodepositos a través de los exudados radicales que son sustrato para los microorganismos que, a su vez, asisten a las plantas en la toma de nitrógeno y fósforo, en la degradación de la materia orgánica recalcitrante y en la meteorización de minerales (Berendsen, 2012). En caso de haber cultivos implantados, incluso su estado fenológico



Figura N° 1. Esquema de división en áreas homogéneas de acuerdo a la vegetación presente.

puede influir sobre los grupos microbianos presentes y la actividad de los mismos (Görres y Amador, 2005; Raaijmakers *et al.*, 2009; Bakker *et al.*, 2013; Tkacz *et al.*, 2015; Kaleita *et al.*, 2017).

Considerar la actividad de la rizósfera puede llevar incluso a tomar decisiones como muestrear surcos y/o entresurcos, teniendo en cuenta el objetivo del estudio. Si se realizan otras determinaciones químicas o físicas que se van a correlacionar con estas propiedades, deberían tomarse con el mismo criterio que las muestras para determinar propiedades microbianas.

1.1.2. Situaciones no representativas o especiales

Se deben evitar áreas de la unidad de muestreo cuyas características sean diferentes a la superficie general en consideración: caminos, bajo alambrados, deyecciones, aguadas, sector para la descarga de fertilizantes o todo lugar no representativo, a menos que el objetivo de la evaluación sean dichas zonas. Si existen manchones salinos u otro tipo de situación particular localizada de interés para el estudio o evaluación que se está realizando, se debe considerar cada una individualmente.

1.2. ÉPOCA Y MOMENTO DE MUESTREO

La época de muestreo está relacionada con la estacionalidad del clima predominante. La variación térmica anual y el régimen pluviométrico afectan a la temperatura y el contenido de humedad del suelo. Estos dos factores modifican la actividad microbiana, así como el tipo de especie presente en lotes con cultivos anuales.

Estas cuestiones deben considerarse a la hora de preparar un programa de muestreo, tomándose las muestras siempre en la misma época del año en el caso de monitoreos periódicos o comparaciones espaciales y, en lo posible, registrando la temperatura del suelo en el momento del muestreo (FAO-N° 56, 2006; Gómez y Paolini, 2006; Alvear *et al.*, 2007; Carretero *et al.*, 2016; Ortiz-Maya *et al.*, 2017).

Es necesario que el muestreo no se realice con el suelo excesivamente húmedo ni muy seco o durante un período de sequía. Se recomienda hacerlo en situaciones hídricas próximas a la capacidad de campo, es decir, aproximadamente 48 horas después de una lluvia o de un riego de 20 mm como mínimo. Sin embargo, siempre se debe tener presente el objetivo de la evaluación, pues diferentes épocas del año pueden ser más propicias para determinados grupos, por ejemplo, las ectomicorrizas en el período de otoño-primavera.

Cualquiera sea la época en que se realice el muestreo, es importante tener en cuenta las condiciones locales del lugar al momento de efectuar conclusiones. De ser necesario, se podría plantear más de un momento de muestreo durante el año o ciclo del cultivo, debido a los cambios en la actividad microbiana frente a la variación de la temperatura y humedad en el suelo según la época, como también según el tipo de vegetación, la fenología y el estado del cultivo, como fue mencionado antes (Görres y Amador, 2017; Kaleita *et al.*, 2017).

1.3. FRECUENCIA DE MUESTREO

La frecuencia de muestreo depende mucho del tipo de estudio que se realice, ya que la actividad microbiana, como hemos mencionado, depende de varios factores, entre ellos, los estacionales.

Autores como Gómez y Paolini (2006) encontraron diferencias en ciertos parámetros bioquímicos causados por la interacción de los cambios temporales y las prácticas de manejo. Otros, como Gómez, Kruger y Sagardoy (1996), estudiaron la variación de la actividad microbiana en la secuencia soja-trigo a través de mediciones bioquímicas esporádicamente. Camargo-Ricalde y Esperón-Rodríguez (2005), por su lado, se dedicaron al efecto de la heterogeneidad espacial y estacional del suelo sobre la abundancia de esporas de hongos micorrízicos arbusculares comparando tres estaciones: lluviosa, inicio de sequía y sequía, así como también Arteaga Garibay *et al.* (2016) analizaron muestras de la rizósfera de maíz en diferentes etapas de cultivo.

Aunque la sensibilidad a los cambios es un atributo deseable para un indicador de calidad de suelos, es deseable que exista cierto intercambio entre la robustez y la variación estacional, ya que para la interpretación de los valores obtenidos es deseable la comparabilidad de los datos entre campañas (Bünemann *et al.*, 2018). Estos ejemplos anteriormente mencionados nos demuestran que el muestreo está muy relacionado con el objetivo de la investigación y que no hay un solo criterio para definirlo, más bien, depende del interés del investigador.

1.4. PROFUNDIDAD DE MUESTREO

La evaluación de parámetros biológicos a una profundidad determinada de la masa del suelo, tanto a partir de submuestras tomadas aleatoriamente como de transectas, puede abarcar un

amplio rango de profundidades: desde los 2-3 mm o pocos cm superficiales (Nicolaisen *et al.*, 2004) hasta 30 y 40 cm (Lovaisa *et al.*, 2017; Rodríguez Cerrón y Rivas Yupanqui, 2017) o incluso 100 cm de profundidad (Subbarao y Hubbard, 1999). Para la actividad microbiológica evaluada en la mayoría de los trabajos publicados, la profundidad de muestreo no supera los 30 cm de profundidad, pero, como ya se mencionó previamente, diversos estudios de comunidades y poblaciones microbianas a pequeña y gran escala revelaron sistemáticamente que su distribución es heterogénea y está estructurada espacialmente (Maron, Mougél y Ranjard, 2011).

Es común en estudios de calidad de suelos tomar los primeros 20 cm divididos en dos estratos, 0-10 y 10-20 cm, debido a las diferencias que normalmente se encuentran con relación a la variación de la materia orgánica entre la superficie y la capa que se encuentra debajo, efecto que ha sido llamado estratificación (Gómez y Paolini, 2006; Sánchez de Prager *et al.*, 2006; Durango *et al.*, 2015; Rosero *et al.*, 2019). También se suelen tomar los 30 cm superiores.

Los parámetros microbianos hasta esta profundidad pueden correlacionarse con datos de *stock* de carbono orgánico, cada vez más requeridos por protocolos de estudios ambientales y redes de monitoreo regionales y nacionales en los últimos años. La profundidad de 0-10 cm ha mostrado mayor diferencia para las actividades celulolíticas, actividad biológica global y presencia de fijadores libres de nitrógeno (Martín *et al.*, 2017; Romero *et al.*, 2010).

Cuando se toman muestras de la rizósfera, como es el caso de la evaluación de ectomicorrizas, el muestreo se realiza, cuando son árboles, desde el tronco hacia el límite del área que cubre la copa o extrayendo un bloque de suelo en un radio determinado alrededor de la planta, tomando el suelo rizosférico y buscando las raíces laterales a partir de excavaciones a profundidades de 0 a 50 cm, dependiendo de la distribución de las raíces según la especie vegetal (García *et al.*, 2017). En este caso, luego de extraer el monolito con la planta en el centro, y agitar y desprender todo el suelo posible, se toman cuidadosamente pocos gramos de suelo adheridos a las raíces, lo que conforma el suelo rizosférico tomado a la profundidad de la estructura de raíz que cada especie indique.

1.5. MUESTREO SIMPLE Y COMPUESTO

Simple: consiste en tomar una muestra única que representa a un área, lote o situación. Puede ser útil para superficies pequeñas (menores a 5 ha) y uniformes (relieve y topográfica). También es

utilizado para realizar estudios más detallados de suelo (Roberts y Henry, 2000; Prause, 2006; Sosa, 2012). Álvarez *et al.* (2008) y Guachamin Yar (2019) utilizaron este tipo de muestras para evaluar la variabilidad espacial de algunos parámetros edáficos. En este caso, cada muestra es importante para representar patrones de distribución y heterogeneidad presentes.

Compuesto: consiste en tomar varias muestras simples de tamaño uniforme (submuestras) que luego se unen para obtener a través de la operación de cuarteo una única muestra que represente al conjunto. Este muestreo es útil para saber el nivel medio de fertilidad de un lote, pero no es adecuado para evaluar la variabilidad espacial, ya que es el resultado de la mezcla de varias submuestras (Roberts y Henry, 2000; Prause, 2006; Sosa, 2012). Es el tipo de muestra comúnmente utilizada para evaluar índices de calidad y calidad biológica del suelo (Ojeda-Quintana *et al.*, 2018; Serri *et al.*, 2018; Toledo *et al.*, 2013).

La operación llamada *cuarteo* consiste en una reducción representativa del tamaño de la muestra y se realiza de la siguiente manera:

- a. Toma de submuestras.
- b. Mezcla de submuestras sobre una superficie limpia.
- c. División de la porción de suelo en 4 partes según se observa en la Figura N° 2.
- d. Eliminación de una porción de las 4.
- e. Repetición de esta operación tantas veces como sea necesario hasta obtener la muestra compuesta de 0.5 a 1 kg que es la cantidad necesaria a enviar al laboratorio.
- f. Limpieza del material antes de realizar el cuarteo del siguiente conjunto de submuestras.

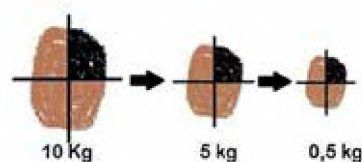


Figura N° 2. Representación gráfica del cuarteo de la muestra (en negro lo que se debe retirar).

1.6. NÚMERO DE SUBMUESTRAS

Uno de los parámetros estadísticos que define la calidad de un análisis es la exactitud del mismo y está definida por la cantidad de submuestras a extraer. Esto nos indica cuán cerca está el valor obtenido respecto del valor verdadero. El número de submuestras a tomar depende de la precisión y exactitud que uno busca obtener en el muestreo (Roberts y Henry, 2000; Conti, 2005; Carretero *et al.*, 2016).

A su vez, también depende de qué tan variable es el parámetro en el suelo y según todo lo expuesto anteriormente, la heterogeneidad de los parámetros biológicos conlleva una necesidad

de mayor cantidad de muestras posibles, lo que significa un costo económico muchas veces difícil de solventar.

Más allá de lo más o menos exactos que sean los resultados de investigaciones microbiológicas, no serían extrapolables a otras regiones edafoclimáticas o fácilmente generalizables (Maron *et al.*, 2011). Si bien la materia orgánica tiene baja variabilidad –al compararlo con el fósforo disponible o el nitrato–, y siendo esta una variable edáfica que se relaciona positivamente con la actividad biológica, es de esperarse que el comportamiento esté correlacionado. Sin embargo, debe tenerse en cuenta la gran dependencia ambiental de los microorganismos, debido a que están estrechamente relacionados con propiedades del suelo como el pH, la textura y los factores como el clima, la humedad del suelo, los regímenes de temperatura del suelo y la vegetación existente e, incluso, los microhábitats que genera la distribución heterogénea de la materia orgánica en macro, meso y microagregados del suelo (Bach *et al.*, 2018).

Su utilidad en la detección de cambios frente a diferentes manejos o situaciones hace que la actividad biológica del suelo sea una determinación importante a incluir dentro de los análisis de suelo tradicionales. Por ello, el número de submuestras se adecúa a las determinaciones físico-químicas, teniendo mayor importancia la estacionalidad, el paisaje (topografía) y vegetación (tipo y estado fenológico del cultivo) al momento de realizar muestreos para la actividad microbiana (Roberts y Henry, 2000; Görres y Amador, 2005; Carretero *et al.*, 2016; Kaleita *et al.*, 2017). Es por esto que, para lograr una muestra compuesta, la bibliografía recomienda un número de submuestras entre 20 y 30 para obtener valores aceptables de precisión (Roberts y Henry, 2000; Carretero *et al.*, 2016).

1.7. METODOLOGÍA DE MUESTREO

Una vez analizada la variabilidad del lote y al evaluarse profundamente el objetivo del muestreo y la cantidad de muestras a sustraer, existen distintas metodologías para hacerlo, relacionadas con la forma en la que se distribuyen las submuestras en la unidad de muestreo, su cantidad y el número de muestras compuestas por lote (Roberts y Henry, 2000; Carretero *et al.*, 2016).

La metodología utilizada puede ser al azar simple o estratificada, con estaciones o zonas de referencia, estaciones estratificadas, gradilla de puntos y/o gradilla de celdas. Dentro de las formas de distribuir espacialmente las submuestras en la unidad de muestreo tenemos gradilla sistematizada, zig-zag y en diagonales, según se

observa en la Figura N° 2 (Roberts y Henry, 2000; Prause, 2006; Sosa, 2012; Carretero *et al.*, 2016).

Aquí solo explicaremos el muestreo al *azar simple* y *estratificado*, que son dos de las formas de encarar esta tarea, más comúnmente difundidas en estudios de fertilidad y de variabilidad de parámetros edáficos (Álvarez *et al.*, 2008; Ojeda-Quintana *et al.*, 2018; Serri *et al.*, 2018; Guachamin Yar, 2019).

El *muestreo al azar simple* consiste en tomar el número de submuestras (puntos rojos en la Figura N° 3) necesarias al azar, en diferentes puntos representativos del lote, que luego se mezclan, homogenizan y cuartean para el envío al laboratorio. Este sistema de muestreo puede utilizarse en situaciones en las que el lote es homogéneo y de superficie inferior a 5 ha, por lo tanto, puede considerarse al mismo como una unidad de muestreo. Si cada muestra obtenida se analiza por separado, se obtendrán entre 20 y 30 muestras simples, pues la cantidad depende de la exactitud buscada (Prause, 2006; Sosa, 2012; Carretero *et al.*, 2016).

El *muestreo al azar estratificado* se caracteriza por individualizar zonas diferentes dentro del lote e identificar cada uno de ellos como unidades de muestreo diferentes (distintos colores en la Figura N° 4), por lo tanto, se obtendrán tantas muestras compuestas como ambientes distintos haya.

Siguiendo el esquema de la Figura N° 3, en el ejemplo de distribución o recorrido en gradillas se observan tres ambientes, por lo que se obtendrán tres muestras compuestas en el lote, mientras que, en las dos formas de distribución restantes, se obtendrán dos muestras compuestas correspondientes a cada ambiente delimitado (Darwich, 2003; Prause, 2006; Sosa, 2012; Carretero *et al.*, 2016).

1.8. CASOS ESPECIALES

En el muestreo de suelo se encuentran los casos especiales de muestreo para lípidos y para actividad microbiana relacionada a especies arbóreas, las que deben realizarse teniendo en cuenta ciertas condiciones.

1.8.1. Muestreo para lípidos

Otra manera de analizar la composición de la comunidad microbiana es a partir del análisis de perfiles de ácidos grasos fosfolípidos. Es una manera eficaz para evaluar tanto la biomasa microbiana como la abundancia relativa de grupos microbianos. Aquí se debe tener en cuenta la manipulación de la muestra, siendo necesaria la utilización de guantes en el muestreo para no contaminar

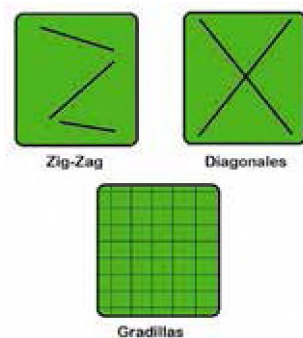


Figura N° 3. Esquema de la distribución espacial de las submuestras en distintos diseños de muestreo.

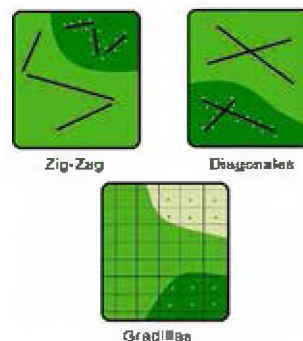


Figura N° 4. Distribución de los puntos en muestreo estratificado: gradilla sistematizada, zig-zag y diagonales.

la muestra, teniendo cuidado además de manipular con guantes todos los elementos a utilizar en el muestreo.

1.8.2. Muestreo para actividad microbiana relacionada a especies arbóreas

En este tipo de muestreo se deben localizar las especies arbóreas más representativas del lugar, como también realizar agrupaciones como, por ejemplo, según el diámetro del tronco, por diámetros mayores y menores según un límite, y al tomar las muestras en la proyección del área de la copa.

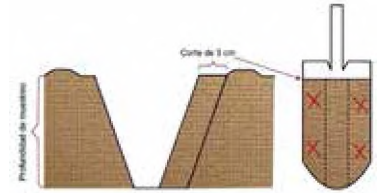


Figura N° 5. Muestras extraídas con pala de punta (porciones laterales eliminadas y marcadas con una «x» roja, Carretero *et al.*, 2016).

1.9. ELEMENTOS Y MATERIALES NECESARIOS PARA EL MUESTREO

El instrumental a utilizar consiste en: pala de punta, cuchillo, escalpelo o bisturí, barrenos, bolsas o frascos estériles, etiquetas y material refrigerante.

Pala de punta. Es un instrumento útil para muestreos no mayores a 30 cm y necesaria para muestreos de suelo rizosférico. Con la pala se obtiene una mayor cantidad de muestra por punto de muestreo, siendo la desventaja el tiempo que se tarda en realizar cada operación. En su uso se recomienda hacer un pozo en «V» y luego retirar de uno de los extremos una porción de 3 cm de espesor (ver Figura N° 5), guardar la parte central y cortar con un cuchillo los extremos y eliminarlos. Si el muestreo es compuesto, las dimensiones a extraer deben ser siempre las mismas para que cada punto de muestreo tenga el mismo peso en la representatividad de la muestra (Prause, 2006; Sosa, 2012; Carretero *et al.*, 2016).

Cuchillo. Es útil para diseccionar la porción de suelo a muestrear cuando el instrumental de muestreo es la pala de punta y ayuda en la limpieza del instrumental. También puede usarse para extraer suelo de un espesor de pocos mm de profundidad, lo que se puede hacer asimismo con una cuchara plana de metal.

Escalpelo o bisturí. Se utiliza para extraer el suelo rizosférico adherido a las raíces.

Barrenos. Estos instrumentos pueden ser adquiridos en empresas agropecuarias o los puede hacer un herrero. Su ventaja es su fácil manejo y uniformidad en el volumen de la muestra recolectada. Para esto último, el barreno debe perforar el suelo de manera vertical y no inclinada, ya que esto afectará la profundidad de suelo explorado y, por lo tanto, el volumen tomado (ver Figura N° 6).



Figura N° 6. Posición correcta del barreno para la toma de muestra.

Según el tipo de suelo, profundidades de muestreo o tipo de cultivo, existen distintas formas de barrenos. En la Figura N° 7 se presentan tres tipos de barreno.

El muestreador de capa arable (ver Figura N° 7A) es utilizado para estudios que no requieren de una profundidad de muestreo mayor a los 20 cm. Estos presentan un recipiente que va almacenando las submuestras a medida que se avanza en la tarea. Para estudios que requieren explorar aún más el perfil del suelo, se utilizan los barrenos tipo tubular (ver Figura N° 7B1), helicoidal (ver Figura N° 7B2) u otros como el Riverside, el espiral y el pedregoso, entre otros, que no se tratan en este capítulo.

Los barrenos tubulares son recomendados para suelos livianos o de baja resistencia mecánica a la penetración. En caso contrario, este implemento requerirá de la ayuda de un mazo (ver Figura N° 7C) o de otro tipo de barreno, como ser el de tipo helicoidal, que es uno de los recomendados para explorar suelos pesados o de una alta resistencia mecánica a la penetración.

Bolsas o frascos estériles. Se deben utilizar bolsas nuevas y limpias, sin contaminantes que alteren las características de la muestra. Es recomendable el uso de doble bolsa con el rótulo entre ambas. También puede utilizarse un marcador indeleble para rotular la bolsa, además de estar acompañada de la etiqueta correspondiente. Algunos autores recomiendan la utilización de frascos para asegurarse que la muestra no se contamine (Ortíz-Maya *et al.*, 2017; Méndez *et al.*, 2020). Solo debe considerarse que la cantidad de muestra que almacenan los frascos podría no ser suficiente.

Etiquetas. La etiqueta es fundamental dentro del proceso de muestreo. Ella debe contar con toda la información necesaria para una correcta identificación y, por lo tanto, sus anotaciones deben ser claras. En la Figura N° 8, a modo de ejemplo, se presenta un modelo de etiqueta con la información necesaria.

La Figura N° 8 presenta un modelo alternativo para la organización de la información que debe incorporarse en las etiquetas. Es importante destacar la conveniencia de escribir con lápiz en el caso de que exista la posibilidad de que las etiquetas sean afectadas por la humedad. Este puede prevenirse con la utilización de doble bolsa y la etiqueta, entre ambas.

Material refrigerante. Dado que los microorganismos, al igual que todos los organismos vivos en general, dependen de los factores climáticos –principalmente de la temperatura y la humedad–, es importante que estos sean controlados, ya que, una vez retirado el suelo del campo, la biomasa microbiana puede cambiar en el



Figura N° 7. Tipos de barrenos. A: para capa arable. B1: tubular. B2: helicoidal. C: mazo o martillo.

Nombre y apellido del solicitante.....	
Dirección:.....	Localidad:..... Provincia:.....
Identificación muestra:.....	Fecha:.....
Profundidad muestreo:.....	Observaciones:.....
Análisis requerido:.....	

Figura N° 8. Modelo de etiqueta para identificación de la muestra.

almacenamiento (Rivero *et al.*, 1999). Por esto, es importante generar un microclima que suspenda la actividad microbiana, pero sin causar cambios en la dinámica de las poblaciones o la muerte de los microorganismos. Es recomendable para la determinación de la biomasa microbiana, como de otras actividades enzimáticas, que las muestras sean refrigeradas a 4 °C.

En el caso de la biomasa microbiana, es preferible que estas muestras no sean secadas, a diferencia de muestras para actividad biológica global (respiración), donde el análisis se realiza a partir de muestras tamizadas y secas (Kaleita *et al.*, 2017; He *et al.*, 2020).

Para la refrigeración, se recomienda utilizar conservadoras y geles refrigerantes congelados, ya que los mismos son de bajo costo. En el caso de los geles, es importante considerar que con ellos no se corra el riesgo de humedecer las muestras al descongelarse.

1.10. OPERACIÓN DE TOMA DE LA MUESTRA

La primera tarea a realizar es retirar el rastrojo u hojarasca que se encuentre sobre la superficie del punto de muestreo. Una vez realizado lo anterior, utilizar un barreno o pala, según se indicó en el apartado correspondiente a instrumental de muestreo. A medida que se vaya recorriendo el lote, se irán guardando las muestras o submuestras en su bolsa con la etiqueta correspondiente e independientemente del número de submuestras a tomar, es importante que el volumen y profundidad de cada una de ellas sea el mismo.

Si se toma una muestra compuesta, se debe hacer el cuarteo una vez finalizado el recorrido del lote. Guardar las muestras siempre al abrigo del sol y si es necesario, mantener las muestras refrigeradas en una conservadora o instrumental similar adecuado. Es importante limpiar el instrumental de toma de muestra en cada operación para evitar su contaminación debido a las diferentes situaciones de los sitios a muestrear.

Una vez finalizado el muestreo, enviar las muestras de inmediato al laboratorio. En el caso de no ser posible, es recomendable guardar las muestras a temperatura cercana a los 4 °C (Alvear *et al.*, 2007; Durango *et al.*, 2015; Ortíz-Maya *et al.*, 2017).

En resumen. Es importante tener en cuenta las consideraciones mencionadas ya que, si la muestra no es representativa, los resultados de los análisis del laboratorio no tendrán valor alguno.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ÁLVAREZ, R., Steinbach, H.S., Bauschen, B. y Enjalbert, J.N. (2008). «¿Cuántas submuestras de suelo hay que tomar para caracterizar la fertilidad de un lote en la Pampa Ondulada?» *Información Agronómica*, 37. Disponible en <https://bit.ly/3Js7fuZ>
- ÁLVARO GARCÍA, O. (2015). «Fundamentos para la búsqueda, evaluación y calibración de nuevas metodologías analíticas para suelos en el trópico» [Actas]. *X Congreso Ecuatoriano de la Ciencia del Suelo*. Disponible en <https://bit.ly/33r4k5S>
- ALVEAR, M., Urrea, C., Huaiquilao, R., Astorga, M. y Reyes, F. (2007). «Actividades biológicas y estabilidad de agregados en un suelo del bosque templado chileno bajo dos etapas sucesionales y cambios estacionales». *Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición vegetal*, 7(3), 38-50. Disponible en <https://bit.ly/3E2JEoN>
- ARTEAGA GARLBAY, R.I., Gómez Estreada, M.M., Martínez Peña, M.D., Cadenza Zamudio, J.D. y Avendaño Arrazate, C.H. (2016). «Diversidad metabólica funcional de comunidades microbianas asociadas a suelos rizosférico de Maíz (*Zea mays* L.) razas amarillo-zamorano y jala». *Agroproductividad*, 9(8), 87-91.
- BACH, E.M., Williams, R.J., Heargraves, S.K., Yang, F. y Hofmockel, K.S. (2018). «Greatest soil microbial diversity found in micro-habitats». *Soil Biology and Biochemistry*, 118, 217-226. Disponible en <https://bit.ly/3oOyPL4>
- BAKKER, P.A.H.M., Berendsen, R.L., Doornbos, R.F., Wintermans, P.C.A. y Pieterse, C.M.J. (2013). «La rizosfera revisada: microbiómica radicular». *Frontiers in Plants Sciences*, 4, 165. Disponible en [10.3389/fpls.2013.00165](https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00165)
- BERENDSEN, R.L., Corné, M.J., Pieterse, C.M.J. y Bakker, P.A.H.M. (2012). «The rhizosphere microbiome and plant health». *Trends in Plant Science*, 17(8), 478-486. Disponible en <https://bit.ly/3s29WxK>
- BILYERA, N., Kuzyakova, I., Guber, A., Razavi, A.G. y Kuzyakov, Y. (2020). «How “hot” are hotspots: Statistically localizing the high-activity areas on soil and rhizosphere images». *Rhizosphere*, 16. Disponible en <https://bit.ly/3EVSiiH>
- BÜNEMANN, E.K., Bongiorno, G., Bai, Z., Creamer, R.E., De Deyn, G., De Goede, R., Fleskens, L., Geissend, V., Kuyper, T.W., Mäder, P., Pulleman, M., Sukkel, W., Van Groenigen, J.W. y Brussaard, L. (2018). «Soil quality-A critical review». *Soil Biology and Biochemistry*, 120, 105-125. Disponible en <https://bit.ly/3ELEh7b>
- CAMARGO-RICALDE, S.L. y Esperón-Rodríguez, M. (2005). «Efecto de la heterogeneidad espacial y estacional del suelo sobre la abundancia de esporas de hongos micorrizógenos arbusculares en el valle semiárido de Tehuacán-Cuicatlán, México». *Revista de Biología Tropical*, 53(3-4), 339-352. Disponible en <https://bit.ly/3s1DI5F>

- CARNICER, S., Porta, M. y Pérez, G. (2020). «Guía para muestreo de suelos agrícolas». *Boletín Técnico*, 43. Resistencia: Instituto Agrotécnico Pedro M. Fuentes Godo.
- CARRETERO, R., Marasas, P.A., Souza, E. y Rocha, A. (2016). «Conceptos de utilidad para lograr un correcto muestreo de suelo». *Archivos Agronómicos*, 15. Canadá: IPNI. Disponible en <https://bit.ly/3pULWdo>
- CHANG, J., Clay, D.E., Carlson, C.G., Clay, S.A., Malo, D., Berg, R., Kleinjan, J. y Wiebold, W. (2003). «Different techniques to identify management zones impact nitrogen and phosphorus sampling variability». *Agronomy Journal*, 95, 1550-1559. DOI: 10.2134/agro2003.1550.
- CHILÓN CAMACHO, E. (2018). «El Paradigma “Suelo Vivo”». *Revista de la Carrera de Ingeniería Agronómica-UMSA. Apthapi*, 4(2), 1148-1172.
- CONTI, M. (2005). «Toma de muestra de suelo». En Marbán, L. y Ratto, S.E. (eds.) *Tecnologías en análisis de suelo: alcance a laboratorios agropecuarios* (pp. 55-63). Buenos Aires: Asociación Argentina de la Ciencia del Suelo.
- DARWICH, N. (2003). «Muestreo de suelos para una fertilización precisa» [Tomo 2]. 2º *Simposio de Fertilidad y Fertilización en Siembra Directa y XI Congreso Nacional de Aapresid*, pp. 281-289.
- DURANGO, W., Uribe, L., Henríquez, C. y Mata, R. (2015). «Respiración, biomasa microbiana y actividad fosfatasa del suelo en dos agroecosistemas y un bosque en Turrialba, Costa Rica». *Agronomía Costarricense*, 39(1), 37-46. Recuperado de <https://bit.ly/31Ngfuq>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura [FAO] (2006). «Evapotranspiración del cultivo. Guía para la determinación de los requerimientos de agua de los cultivos». *Estudio FAO Riego y Drenaje*, 65.
- FIERER, N., Wood, S.A. y Bueno de Mesquita, C.P. (2021). «How microbes can, and cannot, be used to assess soil health». *Soil Biology and Biochemistry*, 153, 108-111. Disponible en <https://bit.ly/3EQ5Ufp>
- FRIEDRICH, T. (2017). «Manejo sostenible de suelo con Agricultura de Conservación. Significado para el cultivo de arroz». *Revista Ingeniería Agrícola*, 7(1), 3-7. Recuperado de <https://bit.ly/3mlHW4D>
- GARCÍA, S., Pezzani, F. y Rodríguez-Blanco, A. (2017). «Long-term phosphorus fertilization effects on arbuscular mycorrhizal fungal diversity in Uruguayan grasses». *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4). Disponible en <https://bit.ly/33fGNoe>
- GÓMEZ, M., Kruger, H. y Sagardoy, M. (1996). «Actividad biológica en un suelo de la zona semiárida bonaerense cultivado con la secuencia soja-trigo bajo tres prácticas culturales». *Ciencia del suelo*, 14, 37-41.
- GÓMEZ, Y. y Paolini, J. (2006). «Actividad microbiana en suelos de sabanas de los Llanos Orientales de Venezuela convertidas en pasturas». *Revista de Biología Tropical*, 54(2), 273-285. Recuperado de <https://bit.ly/3s1gaof>

- GUACHAMIN YAR, J. (2019). *Estudio de variabilidad espacial de propiedades químicas del suelo mediante procedimientos geoestadísticos en la comunidad «Larcapamba»*. Trabajo de titulación previo a la obtención del Título de Ingeniero Agrónomo. Carrera de Ingeniería Agronómica. Quito: UCE.
- HE, H., Liu, Y., Hu, Y., Zhang, M., Wang, G. y Shen, W. (2020). «Soil Microbial Community and Its Interaction with Soil Carbon Dynamics Following a Wetland Drying Process in Mu Us Sandy Land». *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(12), 4199. Disponible en <https://bit.ly/3ykD989>
- HENRÍQUEZ, M. y Viloria, J. (1999). «Número de observaciones para obtener semivariogramas de algunas propiedades de suelo y distancias de muestreo». *Agronomía Tropical*, 49(1), 5-17.
- GÖRRES, J.H. y Amador, J.A. (2005). «Spatial patterns». En Hillel, D. et al. (eds.) *Encyclopedia of Soils in the Environment* (pp. 562-570). Amsterdam: Elsevier. Disponible en <https://bit.ly/3EMvMsu>
- KALEITA, A.L., Schott, L.R., Hargreaves, S.K. y Hofmockel, K.S. (2017). «Diferencias en la actividad biológica del suelo por tipos de terreno a escala de subcampo en el centro de Iowa, EE.UU.» *PLoS One*, 12(7), e0180596. Disponible en <https://bit.ly/3m22cl5>
- KUZYAKOV, Y. y Blagodatskaya, E. (2015). «Microbial hotspots and hot moments in soil: Concept y review». *Soil Biology y Biochemistry*, 83, 184-199. Disponible en <https://bit.ly/3or9qhq>
- LOVAISA, N.C., Guerrero-Molina, M.F., Delaporte-Quintana, P.G., Alderete, M.D., Ragout, A.L., Salazar, S.M. y Pedraza, R.O. (2017). «Strawberry monocropping: Impacts on fruit yield and soil microorganisms». *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 17(4). Disponible en <https://bit.ly/3DQCEnl>
- MARON, P.A. Mougel, C. y Ranjard, L. (2011). «Soil microbial diversity: Methodological strategy, spatial overview and functional interest». *Comptes Rendus Biologies*, 334, 403-411. Doi: 10.1016 / j.crv.2010.12.003
- MARTÍN, L.C., Cossoli, M.R., Romero, A.M.E. y Alconada, M. (2017). «Medición de la actividad respiratoria por volumetría para detectar diferencias en un suelo tratado con distintas enmiendas orgánicas». *Agrotecnia*, 25, 63. XI Reunión Nacional Científico-Técnica de Biología de Suelos-Corrientes.
- MARTÍNEZ CRUZ, A., Carcaño Montiel, M.G. y López Reyes, L. (2002). «Actividad biológica en un transepto altitudinal de suelos de La Malinche, Tlaxcala». *Terra Latinoamericana*, 20(2), 141-146. Chapingo, México: Sociedad Mexicana de la Ciencia del Suelo, AC.
- MÉNDEZ, I., Jaén, Y. y Him, J. (2020). «Calidad microbiológica y físico-química de los suelos aledaños al vertedero de basura de Santiago, Veraguas, Panamá». *Revista Colegiada De Ciencia*, 1(2), 11-21. Recuperado de <https://bit.ly/31KEDgd>

- NICOLAISEN, M.H., Risgardaard-Petersen, N., Revsbech, N.P., Reichardt, W. y Ramsing, N.B. (2004). «Nitrification-denitrification dynamic and community structure of ammonia oxidizing bacteria in a high yield irrigated Philippine rice field». *FEMS Microbiology Ecology*, 49, 359-369.
- OJEDA-QUINTANA, L.J., Machado-Díaz, Y., Bernal-Carrazana, Y., Hernández-Vilches, M.E., Font-Vila, L., Hernández-Rodríguez, C. y Casanovas-Cosío, E. (2018). «Soil quality index in the Animal Husbandry Enterprise El Tablón (Cienfuegos, Cuba)». *Pastos y Forrajes*, 41(1), 13-20. Recuperado de <https://bit.ly/31WXVie>
- ORTÍZ-MAYA, J., Escalante-Espinosa, E., Fócil-Monterrubio, R. L., Ramírez-Saad, H.C. y Díaz Ramírez, I.J. (2017). «Dinámica de poblaciones bacterianas y actividad deshidrogenasa durante la biorremediación de suelo recién contaminado e intemperizado con hidrocarburos». *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 33(2), 237-246. Disponible en <https://bit.ly/3EXXPpa>
- OSORIO, N.W. (2012). «Toma de muestras de suelos para evaluar la fertilidad del suelo». *Manejo Integral del Suelo y Nutrición Vegetal*, 1(1). Disponible en <https://bit.ly/3pUK97M>
- PRAUSE, J. (2006). *Técnicas de muestreo de suelos, aguas y plantas. Bases prácticas para la fertilización*. Corrientes-Resistencia: Librería de la Paz.
- RAAIJMAKERS, J.M., Paulitz, T.C., Steinberg, C., Alabouvette, C. y Moëgne-Loccoz, Y. (2009). «La rizosfera: un patio de recreo y un campo de batalla para los patógenos del suelo y los microorganismos beneficiosos». *Plant Soil*, 321, 341-361. Doi: 10.1007 / s11104-008-9568-6
- ROBERTS, T.L. y Henry, J.L. (2000). «El muestreo de suelo: los beneficios de un buen trabajo». *Informaciones agronómicas del cono sur. Inpofos*, 42. Disponible en <https://bit.ly/3oRLGfP>
- RODRÍGUEZ CERRÓN, M. y Rivas Yupanqui, F.F. (2017). «Dinámica poblacional de *Azotobacter* spp., en relación al contenido de materia orgánica en una plantación de *E. grandis* Hill - Purumayo, Oxapampa-Pasco». *Ambiente*, 1(1-2), 39-47.
- RIVERO, R., Martín, G. y Pérez, R. (1999). «Efecto de la temperatura sobre la mineralización del nitrógeno de dos especies de abono verde en suelos ferralítico rojo». *Cultivos Tropicales*, 20(20), 15-19.
- ROSETO, J., Vélez, J., Burbano, H. y Ordóñez, H. (2019). «Cuantificación de la respiración y biomasa microbiana en Andisoles del sur de Colombia». *Agro Sur*, 47(3), 15-25. Doi:10.4206/agrosur.2019.v47n3-03
- SÁNCHEZ DE PRAGER, M., Rojas, A., Pérez, J., Zúñiga, O. y Gascó, J.M. (2006). «Actividad y biomasa microbianas como indicadores de materia orgánica en sistemas de cultivo de maracuyá (*Passiflora edulis*)

- en Toro, Valle del Cauca, Colombia. Universidad Nacional de Colombia. Palmira, Colombia». *Acta Agronómica*, 55(4), 7-12.
- SERRI, D.L., Boccolini, M., Oberto, R., Chavarrí, A.D., Bustos, N., Vettorello, C., Apezteguía, H., Miranda, J., Álvarez, C., Galarza, C., Chiófalo, S., Manrique, M., Sueldo, R., Fernández Belmonte, M.C., Mattalia, L., Cholaky, C. y Vargas Gil, S. (2018). «Efecto de la agriculturización sobre la calidad biológica del suelo». *Ciencia del Suelo (Argentina)*, 36 (2), 92-104.
- SIQUEIRA, G.M., Vieira, S.R., Souza, Z.M., Dafonte, J. y Paz, A. (2007). «Utilización de herramientas estadísticas y geoestadísticas para optimización del muestreo de propiedades físicas del suelo». En Giráldez Cervera, J.V. y Jiménez Hornero F.J. (eds.) *Estudios de la Zona No Saturada del Suelo*. Vol. 8 (pp. 173-178). Córdoba: Universidad Nacional de Córdoba.
- SOSA, D.A. (2012). *Manejo de Suelo. Técnicas de toma y remisión de muestras de suelos*. EEA Cerro Azul. Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Disponible en <https://bit.ly/3dLLloE>
- SUBBARAO, K.V. y Hubbard, J.C. (1999). «Evaluation of broccoli residue incorporation into field soil for Verticillium Wilt Control in Cauliflower». *Plant Disease*, 83, 2.
- TOLEDO, D.M., Galantini, J.A., Ferreccio, E., Arzuaga, S., Giménez, L. y Vazquez, S. (2013). «Indicadores e índices de calidad en suelos rojos bajo sistemas naturales y cultivados». *Ciencia del Suelo (Argentina)*, 31(2), 201-212
- TKACZ, A., Cheema, J., Chandra, G., Grant, A. y Poole, P.S. (2015). «La estabilidad y sucesión de la microbiota de la rizosfera depende del tipo de planta y la composición del suelo». *ISME J*, 9, 2349-2359. Doi: 10.1038 / ismej.2015.41
- WILSON, M.G. y Sasal, M.C. (2017). *Aplicación de indicadores de calidad de suelo para el monitoreo agroambiental. Manual de indicadores de calidad del suelo para las ecorregiones de Argentina*. Buenos Aires: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria.