



## ANÁLISIS DE LAS COMUNIDADES MICROBIANAS DE SUELOS DE GRAMÍNEAS PERENNES EXPUESTAS A DEFOLIACIÓN

Ambrosino, M.<sup>1,2\*</sup>; Montecchia, M.<sup>3</sup>; Busso, C.<sup>1,4</sup>; Cardillo, D.<sup>1</sup>; Torres, Y.<sup>1,4</sup>; Montenegro, O.<sup>5</sup>; Ithurrart, L.<sup>1,4</sup>; Ponce, D.<sup>5</sup>; Giorgetti, H.<sup>5</sup>; Rodríguez, G.<sup>5</sup>

<sup>1</sup>CERZOS, CONICET (Camino La Carrindanga Km 7 El Bahía Blanca Buenos Aires)

<sup>2</sup>Fac. Cs. Exactas y Naturales, UNLPam (Av. Uruguay 151 Santa Rosa La Pampa)

<sup>3</sup>INBA, CONICET, Fac. Agronomía, UBA (Av. San Martín 4453 CABA)

<sup>4</sup>Dpto. Agronomía, UNS (San Andrés 800 Bahía Blanca Buenos Aires)

<sup>5</sup>Chacra Experimental Patagones, MAA (RN3 Km 942 Patagones Buenos Aires)

\*marielalisambrosino@yahoo.com.ar

### Introducción

*Poa ligularis*, *Nassella tenuis* y *Amelichloa ambigua* son gramíneas perennes otoño-invierno-primaverales abundantes en los pastizales del sudoeste bonaerense, de distintas etapas sucesionales y preferidas o no por el ganado. Con un buen manejo del pastoreo por el ganado doméstico en la Provincia Fitogeográfica del Monte, los cambios en la composición de especies desde especies no preferidas (ej. *A. ambigua*) a preferidas (ej. *P. ligularis*, *N. tenuis*) podrían determinar una mayor productividad primaria neta (entrada de C al sistema) debido a que los tejidos foliares de *P. ligularis* tienen una concentración de N superior a los de *A. ambigua* (Cano, 1988). Las diferencias interespecíficas en la composición de la broza pueden influenciar las comunidades de microorganismos del suelo (Zabed Hossain *et al.*, 2010), las cuales a su vez afectarán los procesos de descomposición y el ciclaje de nutrientes. El objetivo de este trabajo fue caracterizar la estructura de las comunidades bacterianas del suelo asociadas a *P. ligularis*, *N. tenuis* y *A. ambigua*, mediante el análisis por DGGE de los genes ribosomales 16S (PCR-DGGE), y evaluar el efecto de la defoliación sobre las mismas.

### Materiales y métodos

Este estudio se efectuó en una clausura de 14 años al acceso de herbívoros domésticos en la Chacra Experimental de Patagones, en el Sur de la Provincia de Buenos Aires (40° 39'S, 62° 54'O; 40 m snm). En agosto de 2012 se realizó el muestreo inicial del suelo con barreno (0-10 cm) en sitios debajo del follaje de plantas de las tres especies (12 de cada especie). Posteriormente se realizó el tratamiento de defoliación (corte a 5 cm del suelo) a la mitad de las plantas de cada especie, y luego de un mes se tomaron nuevas muestras de suelo en los mismos sitios. Todas las muestras de suelo tamizadas (2 mm) se conservaron a -80°C hasta su análisis. Se extrajo DNA total de 0,25 g de suelo utilizando un kit comercial (PowerSoil DNA kit de MO BIO) y se amplificaron los genes 16S rRNA utilizando los *primers* universales para bacterias F984GC y R1378 (Heuer *et al.*, 1997). Los fragmentos amplificados se separaron en geles de poliacrilamida 6% con gradiente desnaturante (45-65%), a 60°C, y se revelaron con SYBR Green I. El análisis comparativo de los perfiles se realizó con el programa GelCompar II (Applied Maths NV) utilizando el coeficiente de correlación de Pearson (*r*) y UPGMA.

### Resultados y discusión

Para facilitar su visualización, se muestran los resultados de cuatro réplicas por especie del muestreo inicial y tres réplicas por especie y tratamiento cuando se realizó el corte. El análisis de agrupamiento de los perfiles de PCR-DGGE evidenció diferencias en la estructura de las comunidades bacterianas

dominantes de los suelos debajo del follaje de plantas de las tres especies (Figura 1) en el muestreo inicial. A un nivel de similitud del 60% pueden definirse dos grupos; el I agrupa a *P. ligularis* y *N. tenuis*, ambas especies palatables que producen broza de buena calidad, y en el II se encuentra *A. ambigua*, que es una especie no preferida por el ganado y produce broza de calidad inferior. A su vez, los perfiles genéticos de las comunidades bacterianas presentes en los suelos debajo de *A. ambigua* resultaron más homogéneos que los de *P. ligularis* o *N. tenuis*. Es conocido que *P. ligularis* posee altas concentraciones de N y P, baja concentración de lignina y bajas relaciones C:N, lignina:N y lignina:P en su broza radical y foliar (Moretto & Distel, 2003), y esto podría estar relacionado con la formación de un mayor número de nichos ecológicos diferentes en el suelo que dan lugar a comunidades microbianas algo más heterogéneas. El análisis de agrupamiento de los perfiles genéticos de las comunidades bacterianas del suelo luego de un mes del tratamiento de defoliación evidenció diferencias entre plantas defoliadas o no, tanto para *A. ambigua* como para *P. ligularis* (Figura 2). Para *A. ambigua* se pudieron definir dos grupos principales a un nivel de similitud del 55%: el I agrupó a las plantas defoliadas (excepto una), y el II estuvo conformado por las plantas del muestreo inicial y las no defoliadas (Figura 2a). En el caso de *P. ligularis*, todas las plantas defoliadas y una no defoliada conformaron el grupo I, y las plantas del muestreo inicial y las no defoliadas conformaron los grupos II y III (Figura 2b). Para *N. tenuis* no se observó un agrupamiento claro entre tratamientos (datos no presentados).

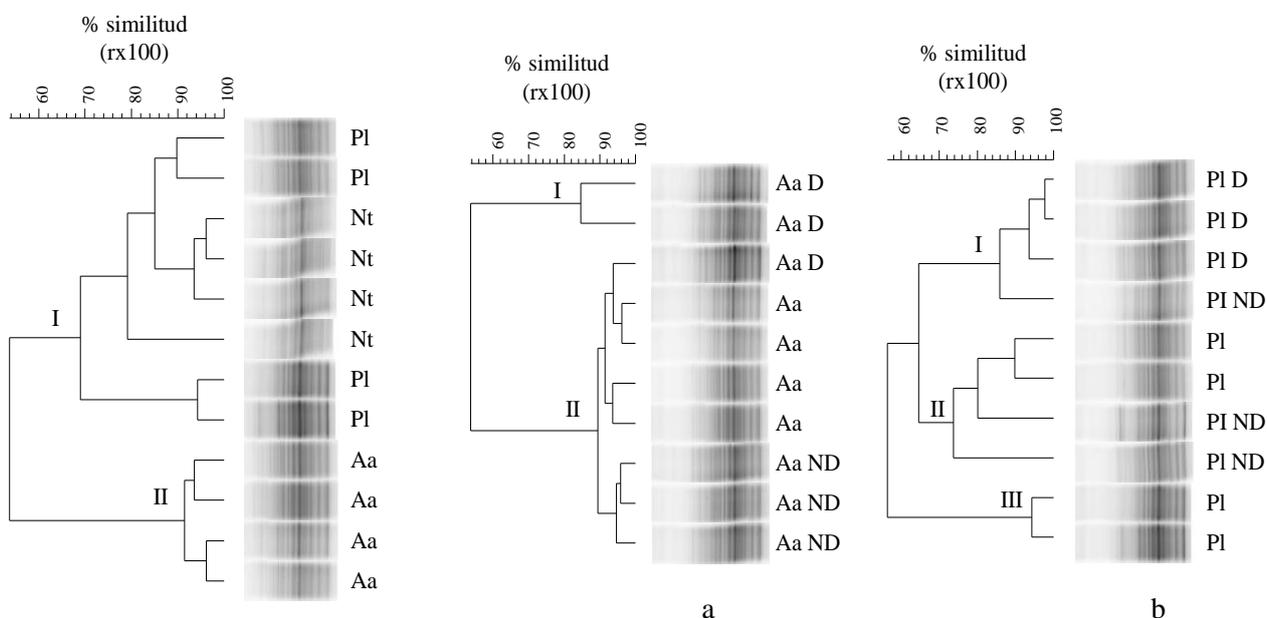


Figura 1. Dendrograma de los perfiles de PCR-DGGE de las comunidades bacterianas presentes en suelos debajo del follaje de *Poa ligularis* (PI), *Nassella tenuis* (Nt) y *Amelichloa ambigua* (Aa) en el muestreo inicial.

Figura 2. Dendrograma de los perfiles de PCR-DGGE de las comunidades bacterianas presentes en suelos debajo de *Amelichloa ambigua* (a) y de *Poa ligularis* (b) en el muestreo inicial y luego de la defoliación. PI: *Poa ligularis*, Aa: *Amelichloa ambigua*, D: plantas defoliadas, ND: plantas no defoliadas

La defoliación de las plantas pudo haber incrementado la concentración de compuestos secundarios en la broza conduciendo a una lenta liberación de N al suelo durante su descomposición (Carrera *et al.*, 2008) y esto haber modulado la estructura de las comunidades bacterianas del suelo, en particular las de *A. ambigua* y *P. ligularis*. Si bien aún falta evaluar el efecto inducido por un segundo corte y comparar los distintos muestreos, al igual que lo reportado por otros autores (Patra *et al.*, 2006; Zabed Hossain *et al.*, 2010), nuestros resultados indican que la defoliación afectó la estructura de las comunidades bacterianas del suelo. Es muy importante realizar un buen manejo de los pastizales naturales porque un cambio florístico producido por un sobrepastoreo no solo afectaría la presencia de especies de gramíneas perennes deseables para el ganado y la calidad de su broza, sino también la

estructura de las comunidades microbianas y su relación con las distintas especies de plantas, con efectos potenciales sobre las tasas de descomposición y ciclado de nutrientes en el suelo.

### **Bibliografía**

Cano, E. 1988. 425 p.

Carrera, AL, M.B. Bertiller, C. Larreguy. 2008. *Plant Soil* 311:39-50.

Heuer, H, M. Krsek, P. Baker, K. Smalla, E. Wellington. 1997. *Appl Environ Microbiol* 63: 3233-3241.

Moretto, A.S., R.A. Diste. 1997. *Plant Ecol* 130:155-161.

Patra, A., L. Abbadie, A. Clays-Josserand, V. Degrange, S. Grayston, N. Guillaumaud, P. Loiseau, F. Louault, S. Mahmood, S. Nazaret, L. Philippot, F. Poly, J. Prosser, X. Le Roux. 2006. *Environ Microbiol* 8:1005-1016.

Zabed Hossain M, Okubo A & Sugiyama S. 2010. *Ecol Res* 25:255-261.