

Efecto del método de terminación del cultivo cubierta en parámetros microbiológicos del suelo bajo dos niveles de riego

Effect of the termination method of cover crops on soil microbiological parameters under two levels of irrigation

N. Centurión^{1,*}, M. Navas², I. Mariscal-Sancho¹, K. Ulcuango¹, A. Moliner², J. Canales¹ & C. Hontoria¹

¹Departamento de Producción Agraria. E.T.S.I. Agronómica, Alimentaria y de Biosistemas. Universidad Politécnica de Madrid, Av. Puerta de Hierro 2, 28040 España

²Instituto Madrileño de Investigación y Desarrollo Rural, Agrario y Alimentario (IMIDRA), Finca El Encín, Ctra. A2, Km 38.200, 28800 Alcalá de Henares, España
(*E-mail: nellysoledad.centurion.gimenez@alumnos.upm.es)

<https://doi.org/10.19084/rca.28496>

RESUMEN

Los cultivos cubierta (CC) mejoran la sostenibilidad de los sistemas agrarios. El método de terminación puede afectar a los beneficios que proporcionan y este efecto puede ser modulado por la disponibilidad de agua. En un experimento en invernadero hemos evaluado la respuesta microbiológica del suelo a cuatro métodos de terminación de CC: Segado e incorporación, Glifosato, *Roller Crimper*, la combinación Glifosato+*Roller Crimper* y a un control sin CC, en combinación con dos niveles de riego, alto y bajo. A los 57 días tras la siembra del maíz se midió la respiración basal, respiración inducida por sustrato, carbono de la biomasa microbiana, cociente metabólico, cociente microbiano, hongos, bacterias y arqueas totales, ratio hongo/bacteria, longitud de micelio y colonización micorrícica. El nivel alto de riego acentuó las diferencias entre los métodos de terminación a nivel microbiológico. La incorporación de residuos fue el método más beneficioso en los dos niveles de riego. Los beneficios del roller crimper fueron mayores en alta disponibilidad de agua que en baja. Aunque la respuesta de los dos métodos con glifosato varió con el nivel de agua, su respuesta se mantuvo similar independientemente del nivel. El nivel de agua moduló la respuesta microbiológica del suelo a los métodos de terminación y debe ser considerado en su elección.

Palabras clave: terminación del cultivo cubierta, incorporación, roller, glifosato, agua.

ABSTRACT

Cover crops (CC) improve the sustainability of agro-ecosystems. The CC termination method impacts the benefits they provide, and this effect could be modulated by water availability. In a greenhouse experiment we evaluated the soil microbiological response to four CC termination methods: Mowing and Incorporation (INC), Glyphosate (GLY), Roller Crimper (ROL), the combination Glyphosate+Roller Crimper (RGL) and a non-CC control (CON), in combination with two irrigation levels, high and low. At 57 days after maize seeding, soil basal respiration, substrate-induced respiration, microbial biomass carbon, metabolic quotient, microbial quotient, together with total fungi, bacteria and archaea, fungus/bacteria ratio, hyphal length, and mycorrhizal colonization were measured. The high level of irrigation enhanced the differences between the termination methods at microbial level. Residue incorporation was the most beneficial method at both irrigation levels. Roller crimper benefits were greater at high water availability than at low water availability. Although the response of the two methods with glyphosate varied with water level, their response remained similar regardless of the level. Water level modulated the soil microbiological response to the termination methods and should be considered in their choice.

Keywords: cover crop termination, incorporation, roller, glyphosate, water.

INTRODUCCIÓN

Los cultivos cubierta (CC) brindan importantes servicios ecosistémicos e influyen sobre las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo (Sharma *et al.*, 2018; Simon *et al.*, 2022). Las distintas formas de manejo de los CC pueden tener efectos a varios niveles (Adetunji *et al.*, 2020), entre ellos, la microbiota del suelo y sus funciones asociadas (Kim *et al.*, 2020). La terminación de los CC puede involucrar medios físicos o químicos, y los residuos pueden ser incorporados o quedar sobre la superficie a modo de mulch (Alonso-Ayuso *et al.*, 2020), con distintos efectos en los microorganismos del suelo (Manici *et al.*, 2019; Rhomdane *et al.*, 2019).

Cuando se persigue el aumento del N en el suelo a través del uso de los CC, su incorporación al suelo mediante el laboreo suele ser más eficaz (Turmel *et al.*, 2015). Sin embargo, la perturbación que genera la labranza en el suelo provoca cambios en la comunidad microbiana, con posibles efectos adversos en ciertos grupos y en los servicios que proporcionan (Mbuthia *et al.*, 2015). En los sistemas sin labranza, el uso de herbicidas como el glifosato para terminar los CC también puede afectar a la microbiota del suelo (Meena *et al.*, 2020). Entre las tecnologías para reducir la labranza sin recurrir a herbicidas ha surgido el *roller crimper*, que troncha y aplanan el CC sobre la superficie sin remover el suelo (Mirsky *et al.*, 2009; Navarro-Miró *et al.*, 2019). Las dificultades para garantizar una buena terminación hacen que se combine el *roller* con el glifosato (Alonso-Ayuso *et al.*, 2020). Dado que la disponibilidad hídrica es un factor clave en el desarrollo de la planta y en la microbiota del suelo, cabe esperar que el nivel de agua module la respuesta microbiológica del suelo a los distintos métodos de terminación de los CC (Drenovsky *et al.*, 2004). Sin embargo, este efecto no es bien conocido. En este trabajo hemos evaluado el efecto de distintos métodos de terminación de los CC sobre parámetros microbiológicos del suelo medidos en el subsiguiente cultivo principal y su interacción con el nivel de riego.

MATERIAL Y MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo bajo condiciones semi-controladas en un invernadero situado en la zona centro de España. El ensayo constó de dos factores

de estudio, el método de terminación del CC con cinco niveles: Control sin cultivo cubierta (CON), Segado e incorporación (INC), Glifosato (GLI), *Roller Crimper* (ROL), y la combinación Glifosato+*Roller Crimper* (RGL); y el factor de riego con dos niveles, dosis alta (A) y dosis baja (B; 75% de la dosis A). Los tratamientos se distribuyeron al azar en 5 bloques. Los microcosmos (30 x 12 x 10 cm) se rellenaron con una mezcla de arena y de suelo procedente del horizonte superficial de un Calcisol háplico con bajo contenido en materia orgánica (1.11%), pH básico (8.8) y textura franco-limosa. El CC utilizado fue una combinación de gramínea y leguminosa (*Hordeum vulgare* L.+ *Vicia sativa* L.), que fue terminado al cabo de tres meses mediante una aplicación de glifosato (4 L /ha) en los tratamientos con herbicida (GLI y RGL). Una semana después se aplicó el resto de los métodos (INC, ROL, RGL). A continuación, se sembró el maíz (*Zea mays* L.) con una densidad de 3 semillas por maceta. La dosis de riego durante el CC y el maíz se aplicó según nivel de riego A o B y todos los tratamientos recibieron la misma fertilización. Las muestras de suelo se tomaron con un muestreador cilíndrico (3 cm Ø y 10 cm de profundidad) 57 días después de la siembra del maíz.

Para este trabajo se han seleccionado los siguientes parámetros microbiológicos: respiración basal (RB) y respiración inducida por sustrato (RIS) medidas con trampa alcalina (Alef & Nannipieri, 1995); C orgánico total por oxidación húmeda; C de la biomasa microbiana (MBC) por el método fumigación-extracción (Vance *et al.*, 1987); cociente metabólico (qCO₂) y cociente microbiano (qMic) se obtuvieron a partir de los anteriores; longitud de micelio y colonización micorrícica por tinción y conteo al microscopio (García-González *et al.*, 2018); abundancia de hongos, bacterias y arqueas totales mediante qPCR con los marcadores específicos para cada grupo, ITS y 16rRNA (Ulcuango *et al.*, 2021). tras extracción del ADN del suelo con PowerSoil® DNA isolation kit (Mo-Bio laboratories, Carlsbad, CA, USA).

Se aplicó un análisis de varianza para un diseño en bloques con dos factores, separando las medias según Tukey (p-valor<0,05). Se realizó un análisis de componentes principales (ACP) con el software R (R Core Team, 2021), utilizando los paquetes factoextra y corrplot. El análisis se realizó por

separado según la dosis de riego. Elipses separadas en el biplot muestran diferencias con un nivel de confianza de 0.95.

RESULTADO Y DISCUSIÓN

El nivel de riego afectó de forma diferente a los parámetros microbiológicos en los cinco niveles de método de terminación de CC estudiados. Para estos parámetros, la dosis alta de riego acentuó más las diferencias entre los métodos de terminación de los CC que la dosis baja (Cuadro 1, Figuras 2 y 3).

Cuadro 1 - Efecto del método de terminación por dosis de riego

D	MT	RB mgkg ⁻¹ h	RIS mgkg ⁻¹ h	CBM mgkg ⁻¹ h	qCO ₂	qMIC
A	CON	0.63ab	1.73a	40.4a	0.022b	8.54 a
A	GLI	0.64ab	1.65a	63.7ab	0.010ab	12.52ab
A	INC	0.94b	1.15a	88.7b	0.010ab	17.46b
A	RGL	0.51a	0.92a	56.8ab	0.009a	10.78ab
A	ROL	0.70ab	1.69a	81.0ab	0.010ab	16.35ab
B	CON	0.64x	1.30x	44.8x	0.015x	9.02x
B	GLI	0.78x	1.69x	66.4x	0.012x	13.44x
B	INC	0.58x	0.70x	48.9x	10.25y	9.48x
B	RGL	0.60x	1.72x	78.1x	0.008x	16.45x
B	ROL	0.82x	1.38x	64.8x	0.013x	13.33x

D: dosis de riego, A: dosis alta, B: dosis baja, MT: métodos de terminación. CON: control, INC: incorporado, ROL: roller crimper, RGL:glifosato+roller, GLI: glifosato; RB: respiración basal, RIS: respiración inducida por sustrato, CBM: carbono de la biomasa microbiana, qCO₂:cociente metabólico, qMIC: cociente microbiano, micelio: longitud de micelio, Col: colonización micorrícica, HT: hongos totales, BT:bacterias totales, AT:arqueas totales; en cada dosis de riego, letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas entre las medias de los tratamientos según el test HSD de Tukey al 95%.

Los dos primeros componentes del ACP explicaron un 63.1% y 58.1% de la variabilidad de los datos en dosis alta y baja de riego, respectivamente. En general, los parámetros con mayor contribución fueron CBM, qMIC, hongos totales y el ratio H:B. En dosis alta destacó qCO₂ y en dosis baja, las arqueas.

Para ambas dosis de riego, y según lo esperado, CON mostró una respuesta microbiológica claramente diferenciada de la de los tratamientos con CC, en especial, de INC. Así, CON presentó en general menos hongos y arqueas que el resto.

Además, en dosis alta, menos colonización y menos bacterias y, en dosis baja, menor ratio H:B. Por el contrario, INC estimuló en mayor medida hongos, bacterias, micelio, CBM y la RB, con valores más altos de qMIC. Los mejores resultados de INC se explican por la pobreza del sustrato empleado ya que una entrada de residuos orgánicos fuente de C y N y el contacto estrecho con los descomponedores, estimula la actividad biológica en el suelo (Turmel *et al.*, 2015).

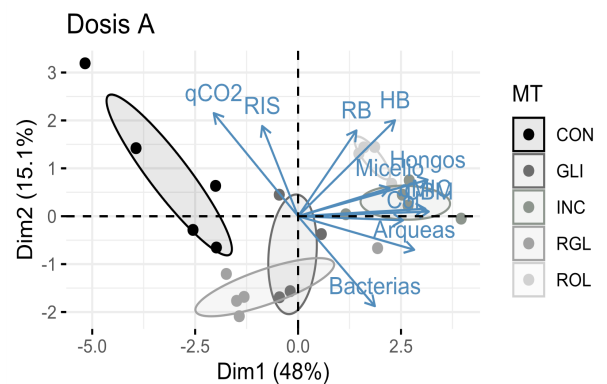


Figura 1 - Análisis de componentes principales de las variables microbiológicas del suelo en dosis alta. RIS:respiración inducida por sustrato, CBM:carbono de la biomasa microbiana, qCO₂:cociente metabólico, qMIC:cociente microbiano, AMF.Col: colonización micorrícica; Micelio: longitud de micelio.HB:relacion hongo/bacteria. CON: control, INC: incorporado, ROL: roller crimper, RGL:Glifosato+Roller, GLI: glifosato.

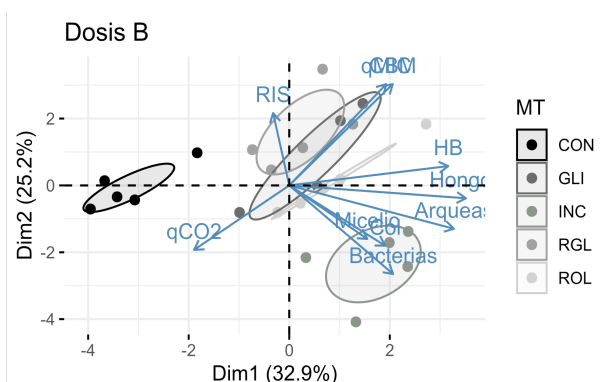


Figura 2 - Análisis de componentes principales de las variables microbiológicas del suelo en dosis baja. RIS:respiración inducida por sustrato, CBM:carbono de la biomasa microbiana, qCO₂:cociente metabólico, qMIC:cociente microbiano, AMF.Col: colonización micorrícica; Micelio: longitud de micelio.HB:relacion hongo/bacteria. CON: control, INC: incorporado, ROL: roller crimper, RGL:Glifosato+Roller, GLI: glifosato.

Los tratamientos GLI y RGL se vieron afectados por el nivel de riego, pero mantuvieron respuestas similares entre sí y diferentes al resto en ambos niveles, lo que sugiere una fuerte influencia del glifosato, por encima de la del roller. En general, estos dos métodos mostraron valores intermedios de las variables entre CON e INC, con RGL más cercano a CON. RGL destaca por su baja RB, qCO₂ y longitud de micelio en dosis alta de riego.

ROL presentó una respuesta propia, que fue cercana a INC en dosis alta, pero con mayor valor de colonización y ratio H:B. Con menor disponibilidad de agua, la respuesta microbiológica de ROL se aproximó a la de GLI y RGL (Figura 2). En contra de lo esperado, la respuesta de RGL no fue intermedia entre ROL y GLI, sino que tendió a diferenciarse más de ROL, lo que sugiere que el roller podría reforzar algunos efectos adversos del glifosato.

CONCLUSIONES

El nivel del agua modificó la respuesta microbiológica del suelo a los métodos de terminación de los CC. Las diferencias entre los métodos aumentaron cuando la disponibilidad de agua fue alta. En el suelo objeto de estudio, la incorporación de los residuos del CC resultó el método más beneficioso con respecto a los parámetros microbiológicos estudiados en los dos niveles de riego. Los beneficios del roller crimper fueron mayores en alta disponibilidad de agua que en baja. Los tratamientos con glifosato mostraron una respuesta similar independientemente del nivel de agua. La elección del método de terminación puede venir condicionado por el nivel de agua en el suelo en el momento de terminación del CC en función de los beneficios esperados, entre otros, a efectos de la salud de suelo.

AGRADECIMIENTOS

Ministerio de Ciencia e Innovación (AGL2017-83283-C2-1-R) y Comunidad de Madrid (AGRI-SOST-CM S2013/ABI-2717, cofinanciado Programa Operativo FSE y FEDER 2014-2020).

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adetunji, A.T.; Ncube, B.; Mulidzi, R. & Lewu, F.B. (2020) - Management impact and benefit of cover crops on soil quality: A review. *Soil and Tillage Research*, vol. 204, art. 104717. <https://doi.org/10.1016/j.still.2020.104717>
- Alef, K. & Nannipieri, P. (1995) - *Methods in applied soil microbiology and biochemistry*. Academic Press.
- Alonso-Ayuso, M.; Gabriel, J.L.; Hontoria, C.; Ibáñez, M.Á. & Quemada, M. (2020) - The cover crop termination choice to designing sustainable cropping systems. *European Journal of Agronomy*, vol. 114, art. 126000. <https://doi.org/10.1016/j.eja.2020.126000>
- Drenovsky, R.E.; Vo, D.; Graham, K.J. & Scow, K.M. (2004) - Soil water content and organic carbon availability are major determinants of soil microbial community composition. *Microbial Ecology*, vol. 48, n. 3, p. 424-430. <https://doi.org/10.1007/s00248-003-1063-2>
- García-González, I.; Quemada, M.; Gabriel, J.L.; Alonso-Ayuso, M. & Hontoria, C. (2018) - Legacy of eight year cover cropping on mycorrhizae, soil, and plants. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, vol. 181, n. 6, p. 818-826. <https://doi.org/10.1002/jpln.201700591>
- Kim, P.; Hensley, D. & Labbé, N. (2014) - Nutrient release from switchgrass-derived biochar pellets embedded with fertilizers. *Geoderma*, vol. 232-234, p. 341-351. <https://doi.org/10.1016/j.geoderma.2014.05.017>
- Manici, L.M.; Castellini, M. & Caputo, F. (2019) - Soil-inhabiting fungi can integrate soil physical indicators in multivariate analysis of Mediterranean agroecosystem dominated by old olive groves. *Ecological Indicators*, vol. 106, art. 105490. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2019.105490>
- Mbuthia, L.W.; Acosta-Martínez, V.; DeBruyn, J.; Schaeffer, S.; Tyler, D.; Odoi, E. & Eash, N. (2015) - Long term tillage, cover crop, and fertilization effects on microbial community structure, activity: Implications for soil quality. *Soil Biology and Biochemistry*, vol. 89, p. 24-34. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2015.06.016>

- Meena, R.S.; Kumar, S.; Datta, R.; Lal, R.; Vijayakumar, V.; Brtnicky, M.; Sharma, M.P.; Yadav, G.S.; Dokulilova, T.; Pecina, V. & Marfo, T.D. (2020) - Impact of agrochemicals on soil microbiota and management: a review. *Land*, vol. 9, n. 2, art. 34. <https://doi.org/10.3390/land9020034>
- Mirsky, S.B.; Curran, W.S.; Mortensen, D.A.; Ryan, M.R. & Shumway, D.L. (2009) - Control of cereal rye with a roller/crimper as influenced by cover crop phenology. *Agronomy Journal*, vol. 101, n. 6, p. 1589-1596. <https://doi.org/10.2134/agronj2009.0130>
- Navarro-Miró, D.; Blanco-Moreno, J.M.; Ciaccia, C.; Chamorro, L.; Testani, E.; Kristensen, H.L.; Hefner, M.; Tamm, K.; Bender, I.; Jakop, M.; Bavec, M.; Védie, H.; Lapse, L.; Canali, S. & Sans, F.X. (2019) - Agroecological service crops managed with roller crimper reduce weed density and weed species richness in organic vegetable systems across Europe. *Agronomy for Sustainable Development*, vol. 39, n. 6, art. 55. <https://doi.org/10.1007/s13593-019-0597-8>
- R Core Team (2021) - *R: A language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>.
- Romdhane, S.; Spor, A.; Busset, H.; Falchetto, L.; Martin, J.; Bizouard, F.; Bru, D.; Breuil, M.C.; Philippot, L. & Cordeau, S. (2019) - Cover Crop Management Practices Rather Than Composition of Cover Crop Mixtures Affect Bacterial Communities in No-Till Agroecosystems. *Frontiers in Microbiology*, vol. 10, art. 1618. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01618>
- Simon, L.M.; Obour, A.K.; Holman, J.D. & Roozeboom, K.L. (2022) - Long-term cover crop management effects on soil properties in dryland cropping systems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, vol. 328, art. 107852. <https://doi.org/10.1016/j.agee.2022.107852>
- Sharma, P.; Singh, A.; Kahlon, C.S.; Brar, A.S.; Grover, K.K.; Dia, M. & Steiner, R.L. (2018) - The role of cover crops towards sustainable soil health and agriculture. A review paper. *American Journal of Plant Sciences*, vol. 9, n. 9, p. 1935-1951. <https://doi.org/10.4236/ajps.2018.99140>
- Turmel, M.S.; Speratti, A.; Baudron, F.; Verhulst, N. & Govaerts, B. (2015) - Crop residue management and soil health: A systems analysis. *Agricultural Systems*, vol. 134, p. 6-16. <https://doi.org/10.1016/j.agsy.2014.05.009>
- Ulcuango, K.; Navas, M.; Centurión, N.; Ibañez, M.Á.; Hontoria, C. & Mariscal-Sancho, I. (2021) - Interaction of Inherited Microbiota from Cover Crops with Cash Crops. *Agronomy*, vol. 11, n. 11, art. 2199. <https://doi.org/10.3390/agronomy11112199>
- Vance, E.D.; Brookes, P.C. & Jenkinson, D.S. (1987) - An extraction method for measuring soil microbial biomass C. *Soil biology and Biochemistry*, vol. 19, n. 6, p. 703-707. [https://doi.org/10.1016/0038-0717\(87\)90052-6](https://doi.org/10.1016/0038-0717(87)90052-6)