

## ACTIVIDAD BIOLÓGICA EN HORIZONTES SUPERFICIALES DE SUELOS IMPLANTADOS CON PERA CV. WILLIAMS EN ALTO VALLE DE RÍO NEGRO, ARGENTINA

### BIOLOGICAL ACTIVITY IN SURFACE HORIZONS OF SOILS IMPLANTED WITH PEAR CV. WILLIAMS IN UPPER RÍO NEGRO VALLEY, ARGENTINA

María Cristina Aruani<sup>1\*</sup>, Perla Gili<sup>1</sup>, Claudia Azpilicueta<sup>2</sup>, y Pablo Reeb<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional del Comahue, CC 85 Cinco Saltos, Río Negro, Argentina.

\* Autor para correspondencia E-mail: mcaruani@gmail.com

<sup>2</sup> Laboratorio de Servicios Agrarios y Forestales, Ministerio de Desarrollo Territorial, Provincia Neuquén, Argentina.

#### RESUMEN

El objetivo del estudio fue evaluar el comportamiento estacional de las propiedades físico-químicas, actividad biológica y enzimática en horizontes superficiales de suelos, implantados con pera (*Pyrus communis*) cv. Williams. Se realizó durante tres ciclos productivos, en tres huertos comerciales, y se seleccionaron diez sitios experimentales en cada uno. Se extrajeron muestras de suelo en primavera y otoño. Se determinó textura, pH, conductividad eléctrica (CE), porcentaje de sodio de intercambio (PSI), carbono orgánico total (COT), potasio de intercambio, carbono de la biomasa (C-BM), respiración (RE), deshidrogenasa (Dh-asa), índice de mineralización (IM) y la relación nematodos fungívoros a bacteriófagos (F/B). El análisis factorial múltiple se utilizó para ordenar los sitios en grupos de suelos de acuerdo a las mediciones de primavera y otoño. CE y PSI disminuyeron 25% en otoño en suelos salinos. C-BM y RE variaron entre 113 y 179 mg C 100 g<sup>-1</sup> ss y entre 5,5 y 8,7 mg CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> ss en primavera, mientras que en otoño fue entre 57 y 110 mg C 100 g<sup>-1</sup> ss y 2,8 y 5,3 mg CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> ss, respectivamente. La actividad de la Dh-asa en ambas estaciones fue más baja en suelos poco profundos (1 µg TPF g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>) y en los salinos más alta (1,7 µg TPF g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>). El IM en primavera mostró pérdida de (COT) debido a la alta mineralización en todos los grupos de suelos. F/B fue más bajo en suelos salinos (0,24) que en suelos poco profundos (0,80) y profundos no salinos (0,66) indicando que las bacterias mediaron la descomposición. En los dos últimos grupos de suelo, los nemátodos fungívoros tuvieron una mayor contribución en los procesos de descomposición. La relación F/B mantuvo el mismo comportamiento temporal en cada grupo de suelo.

**Palabras clave:** variables edáficas, carbono de la biomasa, respiración, deshidrogenasa, nematodos.

#### ABSTRACT

The objective of the study was to evaluate the seasonal patterns of physical-chemical properties, biological and enzymatic activities in soil surface horizons implanted with pear (*Pyrus communis*) trees cv. Williams. The study was conducted during three growing seasons, in three commercial orchards with ten experimental sites in each location. Soil samples were collected in spring and autumn. Soil texture, pH, electrical conductivity (EC), exchanging sodium percentage (PSI) total organic carbon, potassium exchange, biomass carbon (C-BM), respiration (RE), dehydrogenase (DH-ase), mineralization index (MI) and ratio of fungivores to bacterivores nematodes (F/B) were determined. Multiple factorial analyses were used to group the sites according to spring or autumn measurements. CE and PSI decreased 25% in autumn in saline soils. The levels of C-BM and RE varied between 113 and 179 mg C 100 g<sup>-1</sup> ss and between 5.5 and 8.7 mg CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> ss in spring, while in autumn

they varied between 57 and 110 mg C 100 g<sup>-1</sup> ss and 2.8 and 5.3 mg CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup> ss, respectively. Dh-ase levels were lower in shallow soils and higher in saline soils (1.7 µg TPF g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>). MI showed loss of COT in spring due to high mineralization in all soil groups. F/B was lower in saline soils (0.24) than in shallow soils (0.80) and deep and non-saline soils (0.66), indicating that bacteria mediated decomposition. In the last two groups of soils, fungivores had more contribution to the decomposition processes. Value of F/B did not change between seasons in each soil group.

**Key words:** soil variables, biomass carbon, respiration, dehydrogenase, nematodes

## INTRODUCCION

Los organismos del suelo, como bacterias, hongos, algas, protozoos y algunos nematodos, están involucrados en todos los procesos bioquímicos que ocurren en el suelo, incluyendo la descomposición de la materia orgánica, formación de humus y en el ciclado de los nutrientes, y juegan un rol importante en la mantención de la productividad de los suelos (Wu et al., 2002; Lin et al., 2004). La biomasa microbiana del suelo representa 5,1% del carbono orgánico total del suelo (Nsabimana et al., 2004), y es definida como la parte viva de la materia orgánica, y regula las transformaciones de la materia orgánica y almacenamiento de nutrientes a través de los procesos conjuntos de mineralización e inmovilización.

La respiración del suelo es un parámetro controlador de la descomposición de la materia orgánica, y puede mostrar fluctuación natural dependiendo de la disponibilidad de sustrato, la humedad y la temperatura. En suelos del Alto Valle de Río Negro, Gili et al. (2009) mostraron que el carbono de la biomasa y la respiración son mayores en primavera que en otoño, asociado a una mayor actividad radical y a los aportes de la biota. Las enzimas del suelo están involucradas en las transformaciones de nutrientes y se consideran como un contribuyente importante en la calidad del suelo (Masto et al., 2006).

Por otro lado, los nematodos poseen atributos que les confieren ventajas como bioindicadores ecológicos, se encuentran en cualquier ambiente que provea una fuente de carbono, en diferentes tipos de suelo y bajo todas las condiciones climáticas; viven en el agua capilar y están en contacto directo con el microambiente debido a que tienen una cutícula permeable (Néher, 2001). Los nematodos bacteriófagos y fungívoros contribuyen a la mineralización del nitrógeno en el suelo, y además aceleran la descomposición y liberación de nutrientes para el crecimiento de las plantas (Liang et al., 2009). La relación nematodos fungívoros/bacteriófagos (F/B) proporciona información sobre la ruta de descomposición de la materia orgánica del suelo en la red trófica de detritos. Valores bajos informan tasas altas de descomposición y recambio de nutrientes, porque las rutas basadas en bacterias tienen mayores tasas de descomposi-

ción que las basadas en hongos (Porazinska and Coleman, 1995; Wasilewska, 1997). Azpilicueta et al. (2008) encontraron que la red trófica de detritos estuvo regulada por nematodos bacteriófagos en suelos fertilizados implantados con manzanos en el Alto Valle de Río de Negro.

El objetivo del estudio fue evaluar el comportamiento estacional de las propiedades físico-químicas, actividad biológica y enzimática en horizontes superficiales de suelos del Alto Valle de Río Negro, implantados con pera cv. Williams.

## MATERIALES Y METODOS

### Área de estudio

El estudio se realizó en tres huertos comerciales (H1, H2 y H3) pertenecientes a una misma empresa frutícola, ubicados en el Alto Valle de Río Negro, entre las coordenadas 38°54' y 38°44' lat. Sur, y 68°02' y 68°08' Long. Oeste, implantados con pera (*Pyrus communis* L.) cv. Williams. En cada huerto se seleccionaron 10 plantas de edad y tamaño similar, conformando un total de 30 sitios; el sitio experimental estuvo representado por una planta y el suelo circundante.

Taxonómicamente los suelos en H1 corresponden al orden Entisol. Cinco sitios se ubicaron dentro del suborden Orthentes con textura del horizonte superficial franco arenosa (57% A, 27,7% l, y 15,1% a) (A: Arena; l: limo; a: arcilla) y 10% de fragmentos gruesos. Los otros cinco sitios pertenecen al suborden Fluventes con horizonte superficial franco (34,9% A, 47,7% l y 19,4% a). En H2, los sitios corresponden al orden Aridisoles, suborden Cambides y la textura del horizonte superficial es franco arcilloso (30,0% A, 41,7% l y 28,3% a), y en H3 son Entisoles, comprendidos en el suborden Fluventes y la textura en superficie es franco limosa (23,2% A, 49,8% l y 27,3% a) (Aruani, 2010).

El material originario de los suelos es aluvial. El clima de la región es árido, la precipitación media anual es de 224 mm (período 1972-2010; datos suministrados por la estación meteorológica de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Comahue), por lo cual las condiciones de déficit hídrico se presentan durante todo el año. La temperatura media del mes más cálido (enero) es de 21,9°C y la más fría (julio) es de 5,7°C.

Los perales están conducidos en espaldera, en un marco de plantación de 4 x 2 m y el sistema de riego es por melga sin pendiente y con desagüe al pie. El manejo del cultivo en todos los sitios se realizó según las prácticas culturales habituales en la región; a continuación se detallan las relacionadas al manejo del suelo. En H1 se fertilizó con 100 unidades  $\text{ha}^{-1}$  de nitrógeno, aplicadas el 30 de octubre y 50 unidades el 10 de diciembre (fertilizaciones de primavera). En H2 y H3 se fertilizó con 100 unidades  $\text{ha}^{-1}$  de nitrógeno el 23 de noviembre (fertilización de primavera) y 50 unidades  $\text{ha}^{-1}$  de nitrógeno el 15 de abril (fertilización de otoño). Además, en H2, H3 y cinco sitios de H1 (correspondientes al suborden Orthentes) se aplicó durante 3 años estiércol de pollo en invierno a razón de 8 kg  $\text{pl}^{-1}$ , con una composición química de 3,0% N; 1% P; 2,2% K; 45% COT (carbono orgánico total) y relación C/N: 15. Para controlar malezas se aplicó en todos los huertos el herbicida dicloruro de 1,1'-dimetil-4,4'-bipiridilo a 3-4 L  $\text{ha}^{-1}$ , 276 g  $\text{L}^{-1}$  de índice activo (3-4 L  $\text{ha}^{-1}$ ) en primavera, y glifosato, 1,92 g  $\text{L}^{-1}$  de índice activo en verano (4 L  $\text{ha}^{-1}$ ), 5 veces por ciclo productivo.

### Muestreo de los suelos

Los muestreos de suelos se llevaron a cabo durante tres ciclos productivos consecutivos (2008-2009, 2009-2010 y 2010-2011) en cada sitio y en dos estaciones: primavera (p) (17 de octubre) y otoño (o) (5 de mayo), en una franja de 30 cm de ancho y a 1 m hacia un lado y otro del tronco. Se extrajeron 15 submuestras de suelo, para formar una muestra compuesta, con un barreno de 5  $\text{cm}^2$  de área a 0-20 cm de profundidad.

### Variables edáficas y biológicas

Las variables edáficas analizadas fueron: textura (Bouyoucos, 1927), pH en pasta (Bates, 1954); conductividad eléctrica (CE) (U.S. Salinity Laboratory, 1954), porcentaje de saturación de sodio (PSI), materia orgánica (MO), carbono orgánico total (COT) (Walkey and Black, 1934), y potasio de intercambio (K) (Novozamsky and Houba, 1987).

Las mediciones biológicas fueron: respiración microbiana (RE) ( $\text{mg CO}_2 \text{g}^{-1}$ ) por incubación de 10 g de suelo a 28°C durante 10 días determinando el  $\text{CO}_2$  capturado en NaOH 0,1 M, titulando con HCl 0,1 M (Weaver and Bottomley, 1994); contenido de carbono de la biomasa microbiana (C-BM), utilizando el método de la respiración inducida por sustrato (SIR) (Anderson y Domsch, 1978; Öhlinger, 1996); actividad de la enzima deshidrogenasa (Dh-asa) por reducción de 2,3,5 cloruro de trifeníl tetrazolio (TTC) a trifeníl formazan (TPF) ( $\mu\text{g TPF g}^{-1} \text{h}^{-1}$ ) y detectada por espectrofotometría (Casida et al., 1964); índice de mineralización del carbono (IM) (cociente entre

RE y materia orgánica) (Abril y Bucher, 2001); proporción de C de la biomasa microbiana en la MO del suelo (cociente entre C-BM y COT) (Armiada-Alcudia et al., 2005). Los análisis biológicos de cada muestra se realizaron por triplicado.

Para la extracción de los nematodos bacteriófagos (B) y fungívoros (F) se separó una alícuota de 100 g de suelo de cada muestra homogeneizada y se la procesó mediante la técnica de flotación-centrifugación (Caveness y Jensen, 1955). Se determinó la relación F/B como el cociente entre la abundancia de ambos grupos tróficos de nematodos.

### Análisis estadístico

Los datos fueron evaluados utilizando Análisis Factorial Múltiple (AFM) según la definición de Escofier y Pagès (1994), donde las tres vías de análisis multivariado estuvieron constituidas por: sitios, variables y ciclos productivos. El AFM resultó de interés para obtener una configuración consenso de los sitios, establecer relaciones entre las variables y analizar la evolución en el tiempo.

El análisis se ejecutó por separado para cada estación de muestreo (primavera y otoño). La similaridad entre ciclos se evaluó mediante el cálculo del coeficiente RV (Escofier, 1973), y la representación de los grupos en el plano principal. Este coeficiente mide la relación entre dos conjuntos de variables. Si las variables de un conjunto no tienen correlación con las del otro conjunto, su valor será 0, mientras que si las configuraciones de los individuos inducidas por los conjuntos de variables son homotéticas, su valor será 1.

El análisis de las variables se basó en la interpretación de las dos primeras dimensiones del plano principal consenso (Dim1 y Dim2), considerándose las variables con una calidad de representación, expresada por el coseno cuadrado, superior a 0,36 (equivalente a un valor absoluto de correlación mayor a 0,6 entre cada dimensión y variable original). La textura del suelo no cambia en el tiempo, por ello, en el análisis a tres vías se tomó en forma independiente de las restantes variables.

Para describir las componentes principales consideramos aquellas variables ordenadas de mayor a menor según sus coeficientes de correlación (en valor absoluto) y delimitamos un punto de corte para aquellas variables cuyo coseno cuadrado fuera inferior a 0,36. De esta forma aseguramos que las variables que quedan en el análisis tienen una correlación superior al 60%. Si bien es posible evaluar los valores de correlaciones según su significancia, seguimos el principio estadístico por el cual es totalmente sesgado calcular un test de hipótesis entre una variable y una combinación lineal donde esta participa (componente principal). Este concepto es remarcado por varios

autores, como Husson et al., 2011.

Los individuos (sitios experimentales) se agruparon según su distancia en el plano principal consenso en función de las variables edáficas y biológicas. En todos los análisis se construyeron elipses de confianza del 95% para la media de cada grupo de suelo formado. El AFM se ejecutó con el paquete FactoMineR v.1.19 (Lê et al., 2008) del Software R 2.15.1.0 (R Core Team, 2010). Se ejecutaron análisis de la varianza con el procedimiento GLIMMIX del paquete estadístico SAS v.9.3, considerando los efectos fijos ciclo, estación y grupo de suelo. También se tuvieron en cuenta los efectos aleatorios huertos y sitio, y el ajuste por medidas repetidas en el tiempo. Los supuestos de homocedasticidad y normalidad se verificaron mediante la evaluación de los residuales del modelo lineal mixto. Las interacciones se analizaron con pruebas F estratificadas, y cuando resultaron significativas, las medias se compararon median-

te una prueba de diferencia mínima significativa (LSD) con nivel de significancia del 5%.

**RESULTADOS**

En el análisis a tres vías los coeficientes de correlación de la arena, limo y arcilla con la Dim 1 fueron de -0,99, 0,90 y 0,86, mientras con la Dim 2 fueron 0,06, -0,42 y 0,52, respectivamente.

**Primavera**

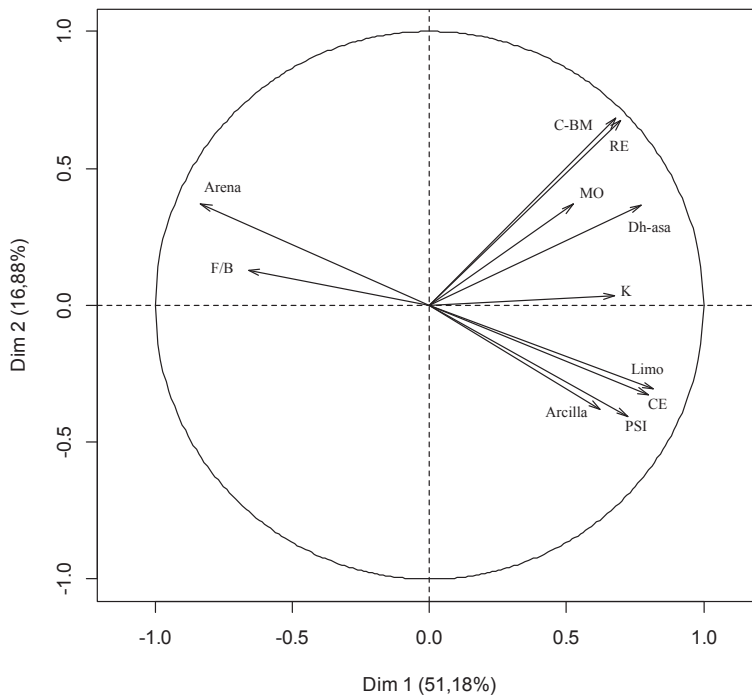
Las variables presentaron un patrón de correlación muy homogéneo entre los tres ciclos productivos. En la Tabla 1 se presentan los coeficientes RV que miden la similitud del patrón de las variables entre ciclos productivos.

Un detalle de los patrones de correlación entre variables de primavera se presenta en la Fig. 1 (se representa el promedio de las variables por presentar un comportamiento similar durante los tres ciclos).

**Tabla 1. Coeficientes RV entre primaveras de cada ciclo de cultivo de cultivo.**

**Table 1. RV coefficients between spring seasons of each growing season.**

	Primavera ciclo 1	Primavera ciclo 2	Primavera ciclo 3
Primavera ciclo 1	1	0,63	0,60
Primavera ciclo 2		1	0,55
Primavera ciclo 3			1



**Fig. 1. Representación de las variables de primavera; promedio de tres ciclos.**

**Fig. 1. Representation of variables in spring; average of three seasons.**

C-BM: carbono de la biomasa microbiana; RE: respiración; Dh-asa: deshidrogenasa; F/B: relación nematodos fungívoros/bacteriófago; MO: materia orgánica; K: potasio de intercambio; CE: conductividad eléctrica; PSI: porcentaje de saturación de sodio.

En la Tabla 2 se consigna la correlación de las variables analizadas con las Dim 1 y 2 según los ciclos estudiados.

En la Fig. 2 se presenta la distribución de los sitios de muestreo en función de las variables edáficas y biológicas según las dimensiones Dim1 y Dim2 de la configuración consenso del AFM. El

porcentaje de la variabilidad total explicada por ambas dimensiones acumuló el 54,8% de la inercia total. Según la distancia en el plano principal consenso se formaron 5 grupos.

En la Tabla 3 se consignan las variables edáficas y biológicas de primavera en los tres ciclos productivos.

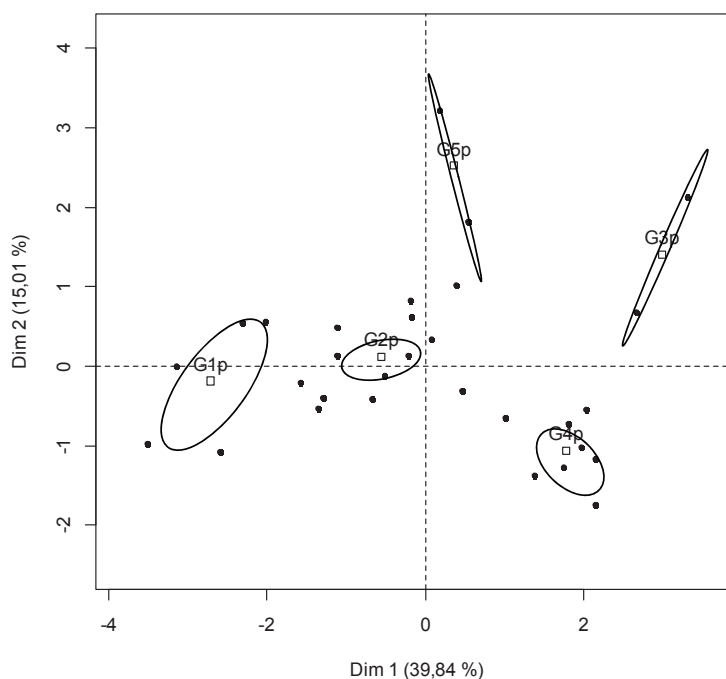
**Tabla 2. Coeficientes de correlación (r) entre las dimensiones principales y las variables edáficas y biológicas en primavera en los tres ciclos de cultivo.**

**Table 2. Correlation coefficients (r) between the principal dimensions, and soil and biological variables in spring for the three growing seasons.**

Variables	Unidades	2008-2009		2009-2010		2010-2011	
		Dim1	Dim2	Dim1	Dim2	Dim1	Dim2
C-BM	mg C 100 g <sup>-1</sup> ss	0,56	0,78*	0,77*	0,57	0,85*	0,41
RE	mg CO <sub>2</sub> 100 g <sup>-1</sup> ss	0,62	0,75*	0,77*	0,57	0,85*	0,41
Dh-asa	μg TPF g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	0,68*	0,05	0,69*	0,55	0,76*	0,26
F/B		-0,46	0,43	-0,55*	0,47	-0,76*	0,35
MO	g kg <sup>-1</sup>	0,65*	-0,05	0,62*	-0,08	0,56*	0,39
K <sup>+</sup>	cmol <sub>c</sub> kg <sup>-1</sup>	0,57*	0,01	0,74*	-0,07	0,02	0,41
CE	dS m <sup>-1</sup>	0,77*	-0,42	0,69*	-0,67	0,79*	-0,50
PSI	%	0,72*	-0,54	0,62	-0,71*	0,70*	-0,67

C-BM: carbono de la biomasa microbiana; RE: respiración; Dh-asa: deshidrogenasa; F/B: relación nematodos fungívoros/bacteriófagos; MO: materia orgánica; K: potasio de intercambio; CE: conductividad eléctrica; PSI: porcentaje de saturación de sodio.

Los valores con asterisco representan correlación mayor a 0,60.



**Fig. 2. Configuración consenso de los sitios de suelos en función a las variables edáficas y biológicas en primavera en cada ciclo de cultivo según el análisis factorial múltiple.**

**Fig. 2. Consensus configuration of experimental sites according to factorial multiple analysis considering soil and biological variables in spring for each growing season.**

Tabla 3. Variables edáficas y biológicas de primavera por grupo de suelos.  
Table 3. Edaphic and biological variables in spring by soil group.

Variables edáficas	G1p (5)			G2p (13)			G3p (2)			G4p (8)			G5p (2)		
	2008-2009	2010-2011		2008-2009	2010-2011		2008-2009	2010-2011		2008-2009	2010-2011		2008-2009	2010-2011	
MO, g kg <sup>-1</sup>	33,0	34,3	34,8	30,0	28,0	31,4	49,5	46,9	42,5	37,4	37,6	37,3	37,4	31,6	32,4
COT, g kg <sup>-1</sup>	19,0	19,9	20,2	17,0	16,0	18,3	28,8	27,3	24,7	21,7	21,9	21,7	21,7	18,4	18,9
pH	7,08	6,9	7,0	7,5	7,5	7,3	7,7	7,9	7,8	7,7	7,9	7,7	7,7	7,5	7,8
K, mg kg <sup>-1</sup>	323,7	323,7	292,5	604,5 ab	483,6 b	690,0 a	737,1	639,6	631,8	635,7 a	585,0 ab	538,2 b	706,0	908,7	842,4
CE, dS m <sup>-1</sup>	0,7	0,9	0,7	2,3 a	2,8 a	2,0 b	5,7	6,1	6,8	6,4 ab	7,1 a	6,2 b	3,0	2,8	1,9
PSI, %	1,8	1,9	2,6	4,3 b	6,4 a	5,2 a	11,0	13,3	10,5	15,5 b	18,1 a	13,2 c	3,0	3,7	2,5
F/B	0,7	0,6	1,0	0,6	0,6	0,6	0,09	0,05	0,16	0,12	0,08	0,18	0,12 b	0,47 a	0,8 a
C-BM, mg C 100 g <sup>-1</sup> ss	113,2	110,7	117,3	144,7 a	110,8 b	129,6 c	179,0	162,4	196,7	131,3 ab	117,8 b	140,2 a	187,4 a	162,1 a	130,9 b
RE, mg CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> ss	5,5	5,3	5,7	7,1 a	5,42 c	6,3 b	8,7	7,9	9,5	6,6	5,7	6,8	9,1	7,8	6,3
Dh-asa, µg TPF g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	1,1	1,0	1,0	1,5 a	1,3 b	1,9 a	1,8 a	1,7 b	3,2 a	1,7 b	1,15 c	2,1 a	1,6 ab	2,3 a	1,3 b
IM	1,7	1,6	1,6	2,4 a	1,9 b	2,1 b	1,7 b	1,7 bc	2,3 a	1,8 b	1,5 c	1,8 a	2,4 a	2,5 a	2,0 b
C-BM/COT	60,1	55,1	58,6	84,8 a	69,2 b	71,3 b	62,1 b	60,5 b	82,3 a	61,7 ab	54,2 b	65,6 a	86,2 a	87,8 a	69,5 b

( ): N<sup>o</sup> de sitios.

MO: materia orgánica; COT: carbono orgánico total; K: potasio de intercambio; CE: conductividad eléctrica; PSI: porcentaje de saturación de sodio; F/B: relación nematodos fungívoros/bacteriófagos; C-BM: carbono de la biomasa microbiana; RE: respiración; Dh-asa: deshidrogenasa.

Letras distintas indican diferencias (p < 0,05) entre los valores medios de una misma fila en cada grupo de suelo de acuerdo a la prueba LSD.

Los suelos del G1p representan el 16% de los sitios muestreados y corresponden a los sitios de H1 clasificados como Torriorthente típico, familia esquelética franco gruesa. Los suelos del G2p están representados por el 43% de los sitios y constituidos por 10 sitios del H2 clasificado como Aquicambid típico, familia limosa-fina, y tres sitios del H1 clasificados como Torrifluvente oxyacuico, familia franco gruesa. Los suelos del G3p y G4p representan el 7% y 27%, respectivamente, de los sitios y corresponden al H3 clasificados como Fluvacuentes típico familia limosa. Los suelos del G5p representan el 7% de los sitios y corresponden al huerto H1 clasificado como Torrifluvente oxyacuico, familia franco gruesa.

En el G1p las variables edáficas y biológicas no presentaron diferencias en la primavera de los tres ciclos (Tabla 3). En los grupos restantes se observaron diferencias en la mayoría de las variables biológicas y en algunas químicas (CE y PSI). En el G4p la CE disminuyó en el tercer ciclo respecto al segundo, no obstante continuó sien-

do salino, y el PSI también fue menor en el tercer ciclo respecto a los anteriores, cambiando la condición del suelo sódico a no sódico (Tabla 3).

Los valores medios de la relación F/B en los grupos formados fluctuaron entre 0,12 a 0,77. En G1p, G2p, G3p y G4p, la relación fue similar en cada grupo de suelo entre los tres ciclos ( $p < 0,05$ ), en cambio, en G5p en el primer ciclo la relación fue más baja respecto a los otros dos (Tabla 3).

### Otoño

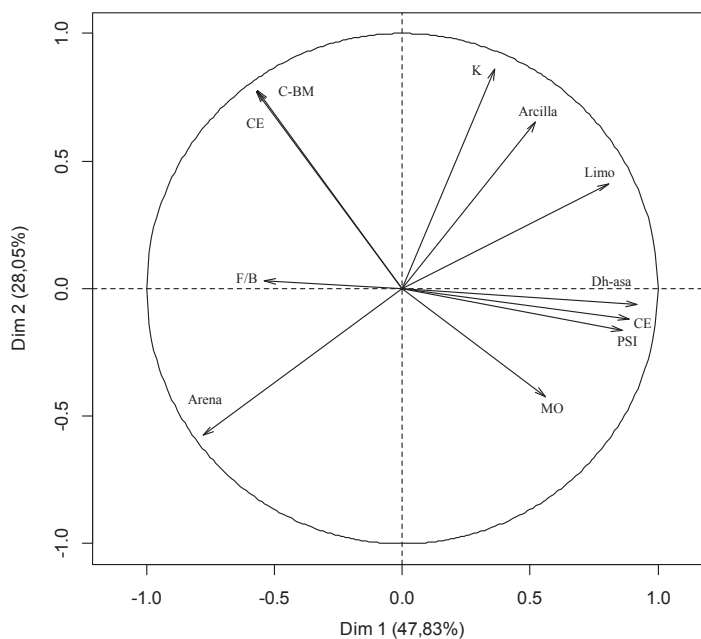
Las variables presentaron patrones de correlación aun más homogéneas que las observadas entre las primaveras. En la Tabla 4 se presentan los coeficientes RV que miden la similitud del patrón de las variables en cada ciclo.

Los patrones de correlación entre las variables de otoño de cada ciclo se presentan en la Fig. 3 (se representa el promedio de las variables por presentar un comportamiento similar durante los tres ciclos).

**Tabla 4. Coeficientes RV entre otoños de cada ciclo de cultivo**

**Table 4. RV coefficients between autumn seasons of each growing season**

	Otoño ciclo 1	Otoño ciclo 2	Otoño ciclo 3
Otoño ciclo 1	1	0,74	0,68
Otoño ciclo 2		1	0,60
Otoño ciclo 3			1



**Fig. 3. Representación consenso de las variables de otoño, promedio de tres ciclos.**

**Fig. 3. Consensus representation of variables in autumn, average of three seasons.**

C-BM: carbono de la biomasa microbiana; RE: respiración; Dh-asa: deshidrogenada; F/B: relación nematodos fungívoros bacteriófago; MO: materia orgánica; K: potasio de intercambio; CE: conductividad eléctrica; PSI: porcentaje de saturación de sodio.

En la Tabla 5 se consignan las correlaciones entre las dimensiones principales y las variables analizadas en los muestreos de otoño.

En otoño la variabilidad total explicada por ambas dimensiones acumuló el 63,6% de la inercia total, y según la distancia en el plano principal consenso se formaron 4 grupos (Fig. 4): G6o, G7o, G8o y G9o. Hay sitios que se agruparon de

igual manera en primavera y otoño, como es el caso del G6o y G1p, correspondientes al H1, y el G2p y G8o, correspondientes a los sitios de H2. Tres sitios del G2p pertenecientes al H1 formaron el G7o. El G9o se formó por los grupos 3 y 4 de primavera, pertenecientes a H3.

En la Tabla 6 se asignan las variables edáficas y biológicas de otoño en los tres ciclos productivos.

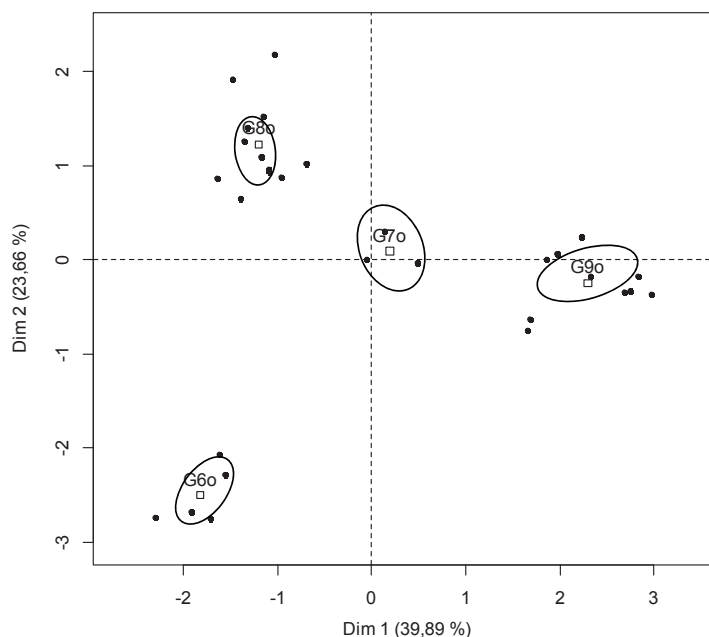
**Tabla 5. Coeficientes de correlación (r) entre las dimensiones principales y las variables edáficas y biológicas de otoño en los tres ciclos analizados.**

**Table 5. Correlation coefficients (r) between the principal dimensions, and soil and biological variables in fall of the three growing seasons.**

Variables	Unidades	2008-2009		2009-2010		2010-2011	
		Dim1	Dim2	Dim1	Dim2	Dim1	Dim2
C-BM	mg C 100 g <sup>-1</sup> ss	-0,80*	0,53	-0,69*	0,62	-0,88*	0,35
RE	mg CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> ss	-0,80*	0,53	-0,69*	0,63	-0,88*	0,33
Dh-asa	μg TPF g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	0,91*	0,26	0,56*	0,46	0,81*	0,46
F/B		-0,24	-0,41	-0,59*	-0,59*	-0,45	0,08
MO	g kg <sup>-1</sup>	0,65*	0,01	0,42	-0,45	0,35	0,38
K+	cmol <sub>c+</sub> kg <sup>-1</sup>	-0,09	0,81*	-0,08	0,79*	-0,16	0,87*
CE	dS m <sup>-1</sup>	0,80*	0,39	0,90*	0,22	0,84*	0,22
PSI	%	0,84*	0,30	0,88*	0,21	0,90*	0,08

C-BM: carbono de la biomasa microbiana; RE: respiración; Dh-asa: deshidrogenada; F/B: relación nematodos fungívoros/bacteriófagos; MO: materia orgánica; K: potasio de intercambio; CE: conductividad eléctrica; PSI: porcentaje de saturación de sodio.

Los valores con asterisco representan correlación mayor a 0,60



**Fig. 4. Configuración consenso de los sitios de suelos en función a las variables edáficas y biológicas en otoño de cada ciclo según el análisis factorial múltiple.**

**Fig. 4. Consensus configuration of experimental sites according to factorial multiple analysis considering soil and biological variables in autumn for each growing season.**



Tabla 6. Variables edáficas y biológicas de otoño por grupo de suelos y ciclos productivos.  
Table 6. Edaphic and biological variables measured in autumn by soil group and growing season.

Variables edáficas	G6o (5)			G7o (3)			G8o (12)			G9o (10)		
	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2008-2009	2009-2010	2010-2011	2008-2009	2009-2010	2010-2011
MO, g kg <sup>-1</sup>	35,0	36,0	32,7	28,2	27,8	27,7	30,6	30,1	32,0	39,7	37,9	38,7
COT, g kg <sup>-1</sup>	20,3	21,0	19,0	16,4	16,2	16,1	17,8	17,5	18,6	23,1	22,0	22,5
pH	7,1	7,1	7,2	7,7 b	8,1 a	7,2 b	7,4	7,5	7,39	7,7	7,7	7,4
K, mg kg <sup>-1</sup>	308,1	315,9	273,0	530,4	561,6	483,6	690,3	627,9	674,7	620,1	600,6	557,7
CE, dS m <sup>-1</sup>	0,7	1,4	1,5	3,4 b	6,0 a	4,5 ab	1,5	1,8	2,2	4,9	4,7	5,2
PSI, %	1,9	2,4	2,8	6,6 a	12,6 b	11,4 b	3,0	3,7	3,8	10,8 b	10,5 b	12,7 a
F/B	0,53	1,0	0,85	0,55	0,36	0,95	0,59 b	0,51 b	1,0 a	0,32 b	0,24 b	0,45 a
C-BM, mg C.100 g <sup>-1</sup> ss	78,3 a	47,0 b	82,1 a	101,7	72,5	89,4	125,9 a	97,0 c	108,0 b	71,6 a	47,1 b	54,2 b
RE, mg CO <sub>2</sub> g <sup>-1</sup> ss	3,8 a	2,3 b	4,1 a	4,9	3,5	4,3	6,1 a	4,7 b	5,22 a	3,5 a	2,3 b	2,6 a
Dh-asa, µg TPF g <sup>-1</sup> h <sup>-1</sup>	0,3 c	0,7 a	1,0 a	0,3 b	1,4 a	1,4 a	0,3 b	1,3 a	1,3 a	1,5 b	1,9 a	1,9 a
IM	1,1 a	0,6 b	1,2 a	0,8 a	1,2 b	1,6 ab	2,0 a	1,6 b	1,6 b	1,7 a	0,6 b	0,7 b
C-BM/COT	38,5 a	22,1 b	43,5 a	62,7	44,7	55,5	71,3 a	55,8 b	58,2 b	31,7 a	22,0 b	23,7 ab

( ): N° de sitios.

MO: materia orgánica; COT: carbono orgánico total; K: potasio de intercambio; CE: conductividad eléctrica; PSI: porcentaje de saturación de sodio; F/B: relación nematodos fungívoros/bacteriofagos; C-BM: carbono de la biomasa microbiana; RE: respiración; Dh-asa: deshidrogenada

Letras distintas indican diferencias (p < 0,05) entre los valores medios de una misma fila en cada grupo de suelo de acuerdo a la prueba LSD.

En todos los grupos la mayoría de las variables biológicas de los suelos fueron distintas entre los ciclos productivos. Los valores medios de la relación F/B en los grupos formados, fluctuaron entre 0,34 - 0,79. Respecto a las variables edáficas la CE y PSI fueron diferentes en G7o y el PSI fue diferente en G9o (Tabla 6).

## DISCUSION

Los contenidos de MO y K, en ambas estaciones, que presentaron los grupos de suelos son considerados altos para la zona (Aruani et al., 2001), el pH de los suelos fue neutro a ligeramente alcalino.

Los suelos del G3p fueron clasificados como ligeramente salinos y los del G4p ligeramente salinos y ligeramente sódicos (Soil Survey Manual, 1995). Estos grupos corresponden a sitios del mismo huerto (H3), donde el G3p posee mayor contenido de MO y menor PSI (Tabla 3). De la comparación de estos dos grupos, los valores más altos de C-BM, se observaron en el G3p donde contenidos mayores de MO podrían favorecer el proceso de mineralización, efecto observado por Gili et al. (2009) en suelos cultivados con manzanos en la región del Valle de Río Negro. De igual manera se manifestó la respiración del suelo, donde porcentajes más elevados de MO permitieron una mayor producción de CO<sub>2</sub>, esto se condice con una mayor disponibilidad de carbono para el mantenimiento microbiano (Masto et al., 2006). Los valores de la deshidrogenasa, cuya actividad representa la transferencia de energía en la cadena respiratoria y el rango total de las actividades oxidativas (Quilchano y Marañon 2002) también fueron mayores.

Por otro lado, en correspondencia con lo expresado por Frioni (1999) respecto que la concentración de las sustancias químicas pueden detener los procesos microbianos, los valores más bajos del C-BM, RE y Dh-asa se relacionaron con valores mayores de PSI en el G4p. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Gili et al. (2004), quienes encontraron que el incremento en la salinidad y el tipo de sales presentes disminuyen las poblaciones microbianas, atribuidas a los cambios en la presión osmótica del protoplasma de las células microbianas.

En el ciclo 2009-2010 se observó una disminución en el C-BM y RE en los grupos G1p y G4p siendo significativa en el G2p. En la actividad de la deshidrogenasa también se observó una disminución significativa en G2p, G3p y G4p respecto a los restantes ciclos. Estas variables son sensibles a los cambios de humedad y temperatura (García et al., 2000). La primavera de ese año fue más fría ( $\pm 3^{\circ}\text{C}$ ) y húmeda respecto a los ciclos anteriores;

estas diferencias climáticas podrían afectar negativamente estos parámetros biológicos. Estos resultados coinciden con trabajos realizados en la zona, donde la temperatura, los exudados radicales y la fertilización en primavera, ejercieron un efecto pronunciado sobre la liberación de CO<sub>2</sub> del suelo proveniente de la respiración microbiana (Gili et al., 2009).

Los suelos del G1p son poco profundos, con altos porcentajes de arena y fragmentos gruesos a partir de los 35 cm, características que limitan el crecimiento radical de los perales (Aruani, 2010). En relación a esta particularidad, los valores de C-BM, RE y actividad Dh-asa, fueron los más bajos de todos los grupos de suelos estudiados en primavera, posiblemente asociados a una menor cantidad de carbono lábil aportado por los exudados radicales y a la clase textural del suelo. Los restantes grupos presentaron granulometría con mayor tenor de arcilla y mejores condiciones de humedad y nutrientes que juegan un rol estimulante sobre la biomasa microbiana, y por ende sobre la producción de enzimas (Lavahun et al., 1996).

En otoño, el C-BM y la RE fueron menores en todos los grupos respecto a los de primavera. La actividad de la Dh-asa fue mayor en el G9o. Este grupo se corresponde con el G4p ya que los sitios pertenecen al mismo huerto (H3), y en promedio la actividad de esta enzima fue mayor en esta estación. Este incremento podría atribuirse a una disminución de la CE y el PSI, producto de la dinámica que presentan las sales en el perfil del suelo al momento de ser efectuados los riegos durante el ciclo de cultivo o después de una lluvia. Estas condiciones no afectaron positivamente al C-BM.

Durante los tres ciclos de cultivo, el C-BM y RE mostraron un comportamiento diferencial asociado a los estados fenológicos de las plantas de pera. Las diferencias estacionales observadas en los grupos de suelos (Tabla 3 y 6) son esperables puesto que en otoño el cultivo comienza el estado de reposo vegetativo debido a la acción de inhibidores internos que promueven la disminución del metabolismo, incidiendo estos factores en la proliferación microbiana (Gili et al., 2009).

Se emplearon índices que reflejan los cambios en la capacidad del suelo y en su función, y permiten interpretar con mayor exactitud la dinámica de los procesos biológicos que ocurren en el suelo (Filip, 2002). El IM en los grupos de primavera promedio de los tres ciclos osciló entre 1,6 y 2,3, valores considerados negativos (Abril, 2003) por la pérdida de COT (Tabla 3). Ese impacto podría atribuirse a las labores culturales realizadas en dicha estación, principalmente las labranzas utilizadas en la eliminación de malezas para el

control de heladas tardías.

En otoño el promedio de los valores del IM en G6o y G9o fueron cercanos a 1, relevando un equilibrio entre mineralización y humificación. Este valor de IM indica un ecosistema equilibrado, sin embargo, como se mencionó anteriormente, estos suelos presentaron factores limitantes donde la profundidad efectiva (G6o) influyó directamente en el desarrollo radical e indirectamente en la actividad microbiana y al estrés salino (G9o) al que estaban sometidas las plantas. Los sitios del G7o y G8o mostraron pérdida moderada de COT (Tabla 6).

La relación C microbiano/C orgánico del suelo, que puede detectar cambios tempranos en la dinámica de la MO (Armida-Alcudia et al., 2005), permitió comparar el estado y modificaciones de la materia orgánica en el suelo. Esta relación en primavera fue mayor en todos los grupos respecto al otoño, no obstante, los suelos salinos y con menor profundidad efectiva presentaron los menores índices en ambas estaciones. Los resultados obtenidos permitieron confirmar lo expresado por Benintende et al. (2008) acerca de la sensibilidad de los indicadores biológicos para detectar diferencias en la calidad del suelo.

Otro índice propuesto es la relación entre la abundancia de nematodos fungívoros y bacteriófagos (F/B), indicador biológico que hace referencia a la ruta de descomposición de la materia orgánica. Los nematodos que se alimentan de hongos o de bacterias y otros organismos que se alimentan de descomponedores primarios, aceleran la descomposición de la materia orgánica del suelo y aumentan la mineralización, además liberan nutrientes para el crecimiento de las plantas, ya que asimilan más nitrógeno que lo necesario y el exceso de nitrógeno es excretado como amonio (Neher, 2001). En primavera y otoño, los valores medios de F/B de los distintos grupos de suelo fluctuaron entre redes tróficas de detritos dominadas por hongos y otras por bacterias. En los suelos salinos (G4p y G9o) la ruta de descomposición de la MO estuvo dominada por los nematodos bacteriófagos, en ambas estaciones (F/B: 0,24), esto es beneficioso en primavera para las plantas (Ferris et al., 1998), debido a un recambio rápido de la materia orgánica disponible, que coincide con uno de los momentos de mayor crecimiento radical del cultivo. Estos sitios están sometidos a estrés salino, factor que pudo haber influenciado negativamente en la abundancia de nematodos fungívoros o en su recurso alimenticio (Ferris et al., 2004). En cambio, en G1p, G2p, G6o, G7o y G8o, se observó que tanto en primavera como en otoño los nematodos fungívoros tuvieron mayor participación respecto a la situación anterior (Tabla 3 y 6). Un ajuste de la comunidad mediada

por nematodos fungívoros, sugiere una mayor contribución de los hongos en la ruta de descomposición de la materia orgánica, que puede estar relacionado con una biomasa radical más recaltrante (Liang et al., 2009).

## CONCLUSIONES

Las variables que presentaron diferencias estacionales fueron CE, PSI, C-BM, RE y DH-asa.

Los valores de CE y PSI disminuyeron 25% en otoño en los grupos de suelos salinos.

C-BM y RE fueron mayores en primavera durante los tres ciclos, valores que variaron entre 113 y 179 mg C 100 g<sup>-1</sup> y entre 5,5 y 8,7 mg CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup>, respectivamente, y en los suelos poco profundos fueron 1,5 veces inferiores respecto a los suelos profundos. En otoño estas variables oscilaron entre 57 y 110 mg C 100 g<sup>-1</sup> y 2,8 y 5,3 mg CO<sub>2</sub> g<sup>-1</sup>, respectivamente, siendo los más bajos en los suelos poco profundos y salinos sódicos.

La actividad de la Dh-asa en ambas estaciones fue más baja en los suelos poco profundos, cercanos a 1 µg TPF g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup> y en los salinos fue más alta (1,7 µg TPF g<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>).

El IM en primavera (1,6-2,3) mostró pérdida de COT debido a la alta mineralización en todos los grupos de suelos.

En los suelos salinos la ruta de descomposición de la materia orgánica estuvo dominada por nematodos bacteriófagos (F/B: 0,24). En los suelos poco profundos y en los profundos y no salinos los nematodos fungívoros tuvieron mayor participación (FB: 0,66-0,80). La relación F/B mantuvo siempre el mismo comportamiento temporal en todos los grupos de suelos.

## RECONOCIMIENTOS

Este trabajo fue desarrollado en el marco del Proyecto de Investigación PI 04/A099 Relación entre indicadores de calidad del suelo y el rendimiento en frutales de pepita en Alto Valle de Río Negro, financiado por la Secretaría de Investigación de la Universidad Nacional del Comahue y colaboración de la Empresa Frutícola Kleppe S.A.

## LITERATURA CITADA

- Abril, A. 2003. ¿Son los microorganismos edáficos buenos indicadores de impacto productivo en los ecosistemas? *Ecología Austral* 13:195-204.
- Abril, A., and E.H. Bucher. 2001. Overgrazing and soil carbon dynamics in the Western Chaco of Argentina. *Appl. Soil Ecol.* 16:243-249.
- Anderson, J.P.E., and K.H. Domsch. 1978. A physiological method for the quantitative

- measurement of microbial biomass in soils. *Soil Biol. Biochem.* 10:215-221.
- Armida-Alcudia, L., D. Espinosa-Victoria, D.J. Palma-López, A. Galvis-Spinola, and S. Salgado-García. 2005. Carbono en biomasa microbiana y carbono soluble como indicadores de calidad de Vertisoles cultivados con caña azucarera. *Terra Latinoamericana* 23(4):545-551.
- Aruani, M. C. 2010. Pera Williams: Suelos que la sustentan. *Boletín Electrónico de la Facultad de Ciencias Agrarias de la UNComahue* 2(7). Disponible en <http://sites.google.com/site/boletinfaunco/Home>. (Consulta Agosto 2012).
- Aruani M.C., E. Sánchez, C. Dussi, y C. Arjona. 2001. Micronutrientes disponibles en suelos del Alto Valle de Río Negro, Argentina. *Agro-Ciencia (Chile)* 17(1):23-28.
- Azpilicueta, C.V., M.C Aruani, P.D. Reeb, y E.E. Sánchez. 2008. Estructura de la comunidad de nematodos del suelo bajo dos niveles de fertilización nitrogenada en Alto Valle de Río Negro, Argentina. *Revista Nematropica* 38(1):75-86.
- Bates, R.G. 1954. *Electrometric pH determinations*. John Wiley and Sons, Inc., New York, USA.
- Benintende, S., M. Benintende, M. Sterren, and J. De Batista. 2008. Soil microbiological indicators of soil quality in four rice rotations systems. *Ecological Indicators* 8(5):704-708.
- Bouyoucus, G. W. 1927. The hydrometer as a new method for the mechanical analysis of soil. *Soil Sci.* 23:343-353.
- Casida, L. Jr., D. Klein, and T. Santero. 1964. Soil dehydrogenase activity. *Soil Sci.* 98:371-376.
- Caveness, F.E., and H.J. Jensen. 1955. Modification of the centrifugal-flotation technique for the isolation and concentration of nematodes and their eggs from soil and plant tissue. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 22:87-89.
- Escofier, Y. 1973. Le traitement des variables vectorielles. *Biometrics* 29:751-760.
- Escofier, B., and J. Pagès. 1994. Multiple factor analysis (AFMULT package). *Computational Statistics & Data Analysis* 18(1):121-140.
- Ferris, H., R.C. Venette, and K.M. Scowc. 2004. Soil management to enhance bacterivore and fungivore nematode populations and their nitrogen mineralization function. *Appl. Soil Ecol.* 25:19-35.
- Ferris, H., R.C. Venette, H.R. Van Der Meulen, and S.S. Lau. 1998. Nitrogen mineralization by bacterial-feeding nematodes: verification and measurement. *Plant Soil* 203:159-171.
- Filip, Z.K. 2002. International approach to assessing soil quality by ecological parameters. *Agr. Ecosyst. Environ.* 88:169-174.
- Frioni, L. 1999. *Procesos microbianos*. p. 2-11. Fundación Universidad Nacional de Río Cuarto, Córdoba, Argentina.
- García, C., T. Hernández, J. Pascual, J.L. Moreno, y M. Ros. 2000. Actividad microbiana en suelos del sureste español sometidos a procesos de degradación y desertificación. Estrategias para su rehabilitación. Capítulo 2 p. 43-93. En C. García, y M.T. Hernández (eds.). *Investigación y perspectivas de la enzimología de suelos de España*. CEBAS-CSIC, Murcia, España.
- Gili, P., Aruani C., P. Reeb, y E. Aun. 2009. Cambios biológicos en suelos fertilizados con nitrógeno cultivados con manzano en el Alto Valle de Río Negro. *Ciencia del Suelo (Argentina)* 27:209-216.
- Gili, P., G. Marando, J. Irisarri, y M. Sagardoy. 2004. Efecto de las técnicas de lavado y fertilización sobre la salinidad en suelos del Alto Valle de Río Negro y Neuquén, Argentina. *Agricultura Técnica (Chile)*. 64:295-304.
- Husson, F, S. Lê, and J. Pagès. 2011. *Exploratory multivariate analysis by example using R*. 225 p. CRC Press Taylor & Francis Group, Boca Raton, Florida, USA.
- Lavahun, M.F.E., R.G. Joergensen, and B. Meyer. 1996. Activity and biomass of soil microorganisms at different depth. *Biol. Fertil. Soils* 23:38-42.
- Lê, S., J. Josse, and F. Husson. 2008. FactoMineR: An R Package for Multivariate Analysis. *Journal of Statistical Software* 25(1):1-18.
- Liang, W., Y. Lou, Q. Li, S. Zhong, X. Zhang, and J. Wang. 2009. Nematode faunal response to long-term application of nitrogen fertilizer and organic manure in Northeast China. *Soil Biology & Biochemistry* 41:883-890.
- Lin, X.G., R. Yin, H.Y. Zhang, J.F. Huang, R.R.Chen, and Z.H. Cao. 2004. Changes of soil microbiological properties caused by land use changing from rice-wheat rotation to vegetable cultivation. *Environ. Geochem. Health* 26(2):119-128.
- Masto, R.E., P.K. Chhonkar, D. Singh, and A.K. Patra. 2006. Changes in soil biological and biochemical characteristics in a long-term field trial on a sub-tropical inceptisol. *Soil Biology & Biochemistry* 38:1577-1582.
- Novozamsky, I., and V. Houba. 1987. Critical evaluation of soil testing methods for K. *Methodology in soil-K research*. p. 177-197. In Proc. 20th Coll. Int. Potash Institute, Bern, Switzerland.
- Neher, D.A. 2001. Role of nematodes in soil health and their use as indicators. *J. Nematol.* 33(4):161-168.

- Nsabimana, D., R.J. Haynes, and E.M. Wallis. 2004. Size, activity and catabolic diversity of the soil microbial biomass as affected by land use. *Applied Soil Ecology* 26:81-92.
- Öhlinger, R. 1996. Soil respiration by titration. p. 95-98. In F. Schinner, R. Öhlinger, E. Kandeler, and R. Margesin (eds.). *Methods in Soil Biology*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.
- Porazinska, D.L., and D.C. Coleman. 1995. Ecology of nematodes under influence of *Cucurbita* spp. and different fertilizer types. *Supplement. J. Nematol.* 27(4S):617-623.
- Quilchano, C., and T. Marañón. 2002. Dehydrogenase activity in Mediterranean forest soils. *Biol. Fertil. Soils* 35:102-107.
- R Core Team. 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Available at <http://www.R-project.org/>. (Accessed June 2012).
- Soil Survey Manual. 1995. United States Department of Agriculture. p. 336. Handbook N° 18. Soil Conservation Service, Washington, DC, USA.
- U.S. Salinity Laboratory Staff. 1954. Diagnosis and improvement of saline and alkali soils. U.S. Dept. Agr. Handbook 60. Washington, DC, USA.
- Walkley, A. and I.A. Black. 1934. An examination of the Degthareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:28-29.
- Weaver, R., S. Angle, P. Bottomley, D. Bezdicek, S. Smith, A. Tabatabai, A. Wollum, and S. Mickelson. 1994. *Methods of soil analysis. Part 2: Microbiological and biochemical properties*. 1121 p. Book Series 5. Soil Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.
- Wasilewska, L. 1997. Soil invertebrates as bioindicators, with special reference to soil-inhabiting nematodes. *Russian Journal of Nematology* 5(2):113-126.
- Wu, J.H., C.A. Fu, S.S. Chen, and J.K. Chen. 2002. Soil faunal response to land use: effect of estuarine tideland reclamation on nematode communities. *Applied Soil Ecology* 21:131-147.