

La actividad metabólica de algunos grupos fisiológicos de microbios en suelos ñadis de Chile.

PARTE I: MINERALIZACION DEL C y N ORGANICOS EN CONDICIONES DE LABORATORIO¹

Angela Urbina de Alcayaga², Eulogia San Martín³ y Roger Schaefer⁴

INTRODUCCION

Los suelos ñadis son y han sido un desafío, no sólo para los agricultores en su lucha para aumentar sus rendimientos e incorporar nuevas áreas cultivables, sino también para instituciones gubernamentales que ven en estos suelos una de las pocas posibilidades que tiene el país para aumentar su superficie arable, y para los científicos del suelo, en los aspectos de clasificación, química, física y de microbiología.

Los ñadis son suelos delgados derivados de cenizas volcánicas holocénicas y se extienden desde la provincia de Cautín a Chiloé insular. (Lat. 38° 30' a Lat. 42° 30' sur). Ocupan una superficie de aproximadamente 350.000 hectáreas en posiciones bajas del paisaje, ocupando generalmente topografías planas.

Ocurren asociados a una vegetación de bosque, en que las especies arbóreas típicas son: *Nothofagus dombeyi* (coigüe), *N. obliqua* (roble), *N. pumilio* (lenga), *Eucryphia cordifolia* (ulmo), *Lomatia hirsuta* (radal), *Drymis winteri* (canelo), *Tepualia stipularis* (tepu), *Embothrium coccineum* (notro). Se presentan en un clima de temperaturas medias aproximadas de 10°C. con una pluviosidad de 1.600 mm.

Su posición intermedia entre los trumaos (que son suelos bien drenados) y los hualves (suelos saturados de agua permanentemente), hace que se reúnan en ellos condiciones extremas alternantes de oxibiosis y anoxibiosis, ya que permanecen con agua libre en el perfil desde el otoño a la primavera y, frecuentemen-

te, presentan en este período agua sobre la superficie.

Los horizontes superficiales están influenciados especialmente por el agua meteórica; en cambio, los horizontes inferiores, por el nivel de agua freática. Estas condiciones implican una migración en el perfil de las substancias disueltas, cuyo sentido se invierte en el curso de las estaciones.

Presentan características químicas y físicas muy especiales: gran cantidad de materia orgánica que se encuentra completamente humificada y distribuida desde la superficie hasta el horizonte denominado "fierrillo"; tienen una alta capacidad de intercambio de cationes y muy baja saturación de bases, pH bajos, alto contenido de aluminio extractado por el Método de Morgan*, gran poder de fijación de fósforo y alta retención de agua.

El alofán y los óxidos de Al y Fe son los principales constituyentes de la fracción arcillosa, lo que se supone por las características de estos suelos relacionadas con la fijación de fósforo (3), la evolución de la materia orgánica (5), los problemas de dispersión (8), etc.

Suelos de ñadis se están incorporando permanentemente a la agricultura y una vez cultivados presentan serios problemas de fertilidad que dicen relación con su alto poder de retención de fósforo, lo que hace muy difícil el establecimiento de algunos cultivos, y en algunos casos, como la remolacha y el raps, no se producen sin la aplicación de abonos fosfatados. Relacionado con este punto, aunque no ha sido esclarecida su acción, estos suelos tienen un alto contenido de Al extractable, el que podría afectar directamente los cultivos por toxicidad (9), o indirectamente en relación a la fijación de fósforo (11).

¹Recepción manuscrito: 19 de junio de 1969.

²Ing. Agr. Línea Suelos, Estación Experimental La Platina. Instituto de Investigaciones Agropecuarias, Casilla 5427, Santiago, Chile.

³Ing. Agr. Proyecto de Estudios y Reconocimiento de Suelos Chilenos FAO/UNDP/SF - Depto. Agrología, DICORA - Servicio Agrícola y Ganadero.

⁴Dr. en Ciencias, Experto FAO - Naciones Unidas. Laboratorio de Ecología Vegetal, Facultad de Ciencias, Universidad de París, Francia.

*Análisis efectuados por Ing. Agr. A. Urbina de Alcayaga, no publicados.

Existen numerosos trabajos en que se han abordado problemas de estos suelos, relacionados con clasificación* (2), (12), (7), con química (16), (1), con física (6), (15) y fertilidad de suelos (13), (10), pero no hay estudios relacionados con microbiología de suelos, de modo que este trabajo es un primer aporte al conocimiento de los mecanismos que regulan los ciclos biológicos básicos del ecosistema ñadi, y esta primera etapa estudia los ciclos del carbono y del nitrógeno tanto *in situ* como bajo condiciones controladas en el laboratorio.

Los resultados se presentarán en dos partes: la primera incluirá todo lo realizado en el laboratorio, y la segunda, los ensayos del terreno, que hasta el momento están en plena ejecución y de los que sólo se tiene datos parciales, y que nos permiten estudiar la actividad de las poblaciones microbianas en su medio ecológico.

*Leyenda descriptiva de los suelos ñadis de la provincia de Cautín a Llanquihue. Informe técnico CORFO. S. Alcayaga, M. Narbona y A. Urbina. 1963 (Inédito).

MATERIAL Y METODO

Se eligió para realizar el ensayo, un terreno en la provincia de Osorno (fundo Westfalia)** cubierto por un bosque típico de ñadi, con partes adyacentes que se han desmontado recientemente por el fuego y parcelas que han sido sometidas a cultivo desde 1940 aproximadamente; se tiene así reunidos, sobre un mismo suelo, los elementos de una sucesión antrópica.

Este suelo presenta un espesor promedio de 40 cm., con una hojarasca delgada en vía de descomposición, un horizonte humífero que va disminuyendo en forma gradual su contenido de humus desde la superficie hasta llegar al "fierrillo", el que no contiene humus. No se observa un horizonte glei típico.

El horizonte superficial (0-10 cm.), de color negro (10 YR 2/1), de estructura granular fina, textura franco arcillo arenosa muy fina, muy friable; luego se hace más compacto, de color pardo muy oscuro o pardo grisáceo muy oscuro, textura (al tacto) franco arcillosa, con

**Se agradece al Sr. Martín Busch, su espíritu de cooperación al facilitar el desarrollo del ensayo.



Sucesión vegetal característica (junquillo-quila-bosque) en un suelo ñadi, después de un roce con fuego.



Perfil del suelo hidromórfico derivado de cenizas volcánicas (ñadi) en que se efectuó la experimentación.

una red abundante de raíces. Se pasa gradualmente al horizonte mineral, pardo amarillento, de textura arcillosa, de baja densidad aparente, de permeabilidad moderadamente lenta que descansa sobre un substratum de arenas y gravas compactadas.

Junto con establecer el ensayo en el bosque, se trajeron muestras de suelos de las tres profundidades al laboratorio de La Platina, se tamizaron, homogenizaron y guardaron en una bodega refrigerada a 4°C.

En el laboratorio se realizó una serie de ensayos, algunos de ellos factoriales, en que se hicieron constantes algunos factores variables.

Los ensayos de terreno permiten obtener una estimación de la actividad actual que depende de la suma de los factores de la localidad. Los experimentos en el laboratorio, permiten, controlando las condiciones, obtener la actividad potencial.

Comparando ambas actividades, se puede interpretar la dinámica estacional y por extrapolación, prever la trayectoria de la evolución futura.

La actividad global microbiana se midió por intermedio del desprendimiento de CO₂ producido por la actividad respiratoria de la mi-

cropoblación. Su importancia ecológica es fundamental, puesto que, por una parte, traduce el nivel de la actividad biológica, y por otra, integra los factores del medio ambiente.

Para comprender el efecto de la naturaleza y del nivel de los substratos energéticos presentes en el suelo, se hizo tres series de incubaciones de suelos a 28°C. Una, recibiendo aplicaciones separadas de nitrógeno mineral, nitrógeno orgánico, fósforo, fósforo más nitrógeno orgánico y nitrógeno orgánico más aluminio; otra, con estos mismos tratamientos más una fuente de energía fácilmente metabolizable, como es el piruvato de sodio, cuya incorporación en el metabolismo del suelo se efectúa sin la ruptura del equilibrio, como sucede con hidratos de carbono como la glucosa, el almidón, etc., que producen una proliferación selectiva de los heterótrofos que tienen ya sea un fuerte poder competitivo por estos substratos, o bien una función fisiológica muy especializada. Como fuente de nitrógeno orgánico se eligió la alanina, que es un aminoácido que se convierte por desaminación oxidativa o por la acción de la transaminasa glutámica-pirúvica en ácido pirúvico. La tercera serie se hizo para estudiar la influencia de las

variaciones térmicas periódicas hasta 0°C y además de la congelación sobre la actividad global de la micropoblación del horizonte húmico. Esta serie es idéntica a la segunda incubada a 28°C, pero con períodos alternados de frío de -15°C repetidos 15 veces en 30 días.

Las dosis aplicadas a estas series corresponden a 35—350 y 700 ppm de nitrógeno orgánico (alanina); a 700 ppm de nitrógeno mineral (nitrato de amonio); a 400—4.000 y 16.000 ppm de fósforo (fosfato monopotásico) y a 1.000 ppm de aluminio (sulfato de aluminio).

Se trabajó con tres profundidades de suelo: de 0—10 cm., de 15—25 y de 25—45 cm.; las dos primeras corresponden al horizonte húmico y la tercera toma, además, algo del horizonte mineral.

A muestras correspondientes a 30 gr. de suelo seco, tamizado a 2 mm y con la humedad ajustada a 80% del agua disponible, se les aplicó los diversos substratos, se incubaron a 28°C en un Erlenmeyer de 500 ml., cerrado herméticamente. Cada 5 días se midió el CO₂ acumulado, arrastrándolo por succión desde el Erlenmeyer a través de una solución de barita, Ba (OH)₂; el CO₂ precipita como BaCO₃ y la diferencia entre el blanco y la muestra tratada proporciona la cantidad de CO₂ desprendida.

Los resultados se expresan en relación a la unidad de peso de suelo seco.

Paralelamente a los ensayos de desprendimiento de CO₂ y trabajando con los mismos tratamientos, se hizo una serie de incubaciones a 28°C en las que se determinó cada siete días el amonio y nitratos acumulados. Los nitratos y amonio se determinaron por el método de Bremner (4), haciendo las extracciones de los suelos con las humedades que tenían en los frascos, con KCl 2 N, tomando un duplicado para determinar la humedad y poder expresar los resultados en peso seco de suelo.

El desprendimiento de CO₂ nos da una medida de la actividad de la micropoblación en un intervalo dado, fluctúa en función de todos los factores del medio que ejercen un efecto sobre esta biocenosis. La respiración del suelo está en relación directa con su grado de oxigenación, sin embargo la noción de oxidación, en su sentido más amplio, puede considerarse como una transferencia de electrones. El H atómico sacado de los substratos orgánicos catabolizados, activado y transferido por los sistemas de deshidrogenasas sobre un aceptor intermediario o terminal, aceptor que en el laboratorio puede ser el cloruro de trifenilte-trazolium (T.T.C.) constituye el reflejo de una actividad oxidante en el sentido amplio de la palabra, sin depender de la presencia de O₂ molecular. Las deshidrogenasas son tem-

poralmente estabilizadas al ser adsorbidas por el complejo de cambio arcillo-húmico; así su actividad total fluctúa menos que el desprendimiento de CO₂ a través del ciclo estacional.

Para determinar la actividad deshidrogenásica (14), se incubó un gramo de suelo seco, pulverizado y ajustado a pH 7.5 con el tampón trihidroxi-metilamino-metano ("tris") 0.1 N. neutralizado con 0,5 ml. de succinato de sodio y 0,5 ml. de una solución de T.T.C. al 0,5% durante 24 horas a 28°C. Se hizo una primera extracción con una mezcla de 2 ml. de metanol y 1,5 ml. de CCl₄. El metanol se elimina con la fase acuosa y el CCl₄ disuelve el trifenil-formazan ("T.P.F."). Luego se extrae el formazán con acetona hasta que el líquido sale incoloro y los resultados se miden a una longitud de onda de 485 mμ contra estándares apropiados.

1 mg. de T.P.F. formado corresponde a 150,35 μl de H atómico.

En los suelos que se usaron para la determinación de la actividad respiratoria global, el desplazamiento del CO₂ por una corriente de aire, produce una oxigenación activa que acelera los procesos biológicos.

Después de 30 días, cuando se terminó con las mediciones de respiración, se analizó los nitratos y amonio acumulados en dichas muestras.

RESULTADOS

CICLO DEL CARBONO

a) Mineralización del C orgánico.

Los resultados acumulativos finales de la determinación del desprendimiento de CO₂ de las tres series de incubaciones a 28°C, se presentan en el Cuadro 1.

De la observación de este cuadro y de la Figura 1, se desprende que el nitrógeno mineral tiene un efecto depresivo en la respiración, especialmente en el horizonte superficial. El nitrógeno orgánico muestra su efecto sobre el nivel de 350 ppm y se hace claro en la dosis de 700 ppm.

El fósforo, aplicado solo, comienza a tener un efecto en la dosis de 4.000 ppm, efecto que se hace notable en el nivel más alto y en todas las profundidades.

La aplicación simultánea de nitrógeno orgánico (700 ppm, alanina) y fósforo en tres niveles (400—4.000 y 16.000 ppm), produce un aumento positivo entre ambos tratamientos; se nota una fuerte activación de la mineralización del carbono orgánico húmico, parecida para los tres niveles, llevando así la tasa de mineralización a valores comparables, aumen-

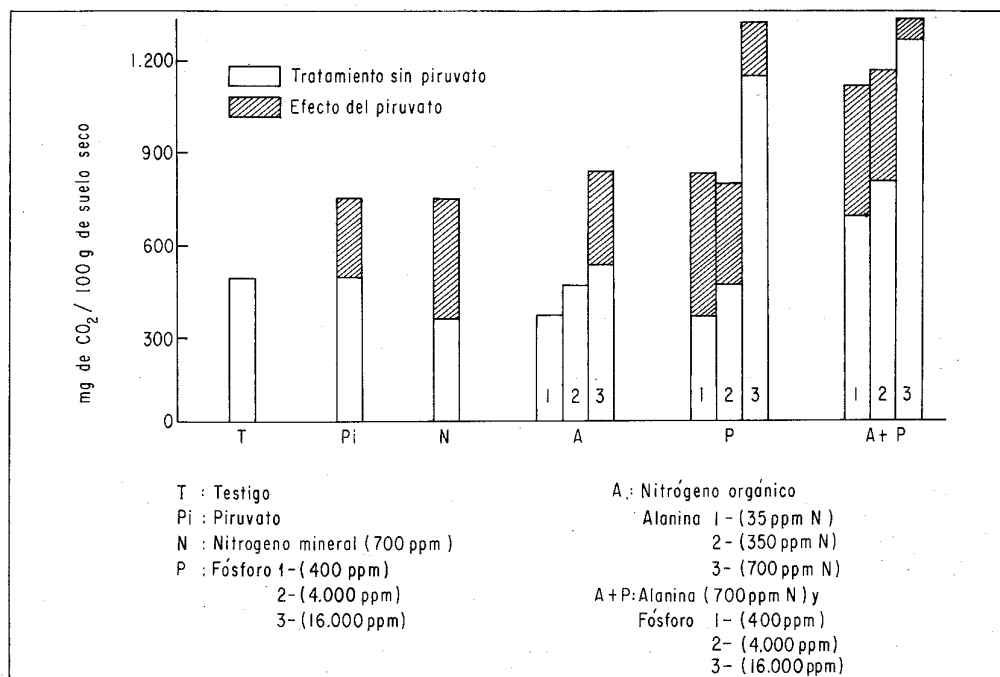
Cuadro 1 — Desprendimiento de CO₂ de suelos incubados a 28°C durante 30 días, expresado en mg/100 g. de suelo.

TRATAMIENTOS	Serie I*			Serie II**			Serie III***		
	Profundidad del suelo en cm.								
	0-10	15-25	25-40	0-10	15-25	25-40	0-10	15-25	25-40
Testigo	475	205	106	475	205	106	429	320	214
Piruvato (1.800 ppm)	—	—	—	726	485	469	—	657	568
N mineral (700 ppm)	337	165	142	736	446	416	696	535	488
Fósforo (400 ppm)	353	165	145	805	643	505	640	686	508
" (4.000 ppm)	442	356	218	772	874	673	805	894	726
" (16.000 ppm)	1.129	841	650	1.277	1.261	977	1.363	1.369	1.013
Alanina (35 ppm)	353	172	175	—	—	—	—	—	—
" (350 pp)	442	343	247	—	—	—	—	—	—
" (700 ppm)	518	396	337	812	799	845	1.086	861	746
Alanina (700 ppm) y Fósforo (400 ppm)	676	498	340	1.069	775	749	660	815	591
Alanina (700 ppm) y Fósforo (4.000 ppm)	795	498	478	1.129	1.053	1.056	1.079	1.171	1.030
Alanina (700 ppm) y Fósforo (16.000 ppm)	1.244	1.191	983	1.277	1.426	1.251	1.303	1.548	1.016
Alanina (700 ppm) y Aluminio (1.000 ppm)	403	409	376	—	—	—	—	—	—

Serie I* : Suelos con los tratamientos indicados en la primera columna.

Serie II** : Suelos con una aplicación de piruvato de sodio correspondiente a 1.800 ppm de carbono asimilable y con los tratamientos de la serie I.

Serie III***: Igual a la serie II pero con períodos alternados de congelación a -15°C y 28°C.

Figura 1 — Acumulación de CO₂ de suelos superficiales (0-10 cm), incubados a 28° C, durante 30 días.

tando respectivamente en 0,8 - 1,4 y 1,3% en treinta días.

El aluminio (1.000 ppm) no influye en la mineralización de la alanina en los dos niveles inferiores y sólo en forma ligeramente negativa en el horizonte superficial, aún cuando en estos niveles ejerce un efecto altamente tóxico en plantas superiores.

Cuando se aplica alanina (700 ppm), piruvato (1.800 ppm) y fósforo, éste produce un efecto adicional en sus tres niveles.

La tercera serie, con períodos alternados de congelación y 28°C, da resultados semejantes a los obtenidos a temperatura constante de

28°C. Las curvas de desprendimiento de anhídrido carbónico son parecidas.

b) Actividad deshidrogenásica*

En el Cuadro 2 se muestran los valores obtenidos para los diversos tratamientos, en tres series de incubaciones, expresados en μ l de H atómico/20 g. de C orgánico/24 h.

Se observa (Figura 2), la gran activación producida por la dosis elevada de fósforo (16.000 ppm) que, al igual que en los experimentos de respiración, es muy marcada en el segundo nivel. No se observa efecto del hiel y el aluminio parece influir muy poco.

Cuadro 2 — Actividad deshidrogenásica expresada en μ l de H atómico/20 g de C orgánico/24 h.

Tratamientos	Serie I*			Serie II**			Serie III***		
	Profundidad del suelo en cm.								
	0-10	15-25	25-40	0-10	15-25	25-40	0-10	15-25	25-40
Testigo	34	117	112	34	117	112	48	102	110
Piruvato	—	—	—	—	217	128	—	75	121
N mineral	19	117	57	52	157	118	30	68	151
Alanina 35 ppm	21	135	110	—	—	—	—	—	—
Alanina 350 ppm	24	151	110	—	—	—	—	—	—
Alanina 700 ppm	21	167	—	158	148	161	31	148	105
Fósforo 400 ppm	50	143	107	41	221	236	26	109	163
Fósforo 4.000 ppm	—	139	199	87	220	233	28	157	189
Fósforo 16.000 ppm	64	142	—	87	406	238	25	531	154
Alan. + Fósf. 400 ppm	124	42	—	37	106	132	24	191	202
Alan. + Fósf. 4.000 ppm	25	107	8	35	150	140	27	59	177
Alan. + Fósf. 16.000 ppm	35	161	140	56	223	238	60	192	117
Alan. + Al*** 1.000 ppm	25	105	65	—	—	—	—	—	—

Serie I* : Suelos con los tratamientos indicados en la primera columna.

Serie II** : Suelos con una aplicación de piruvato de sodio correspondiente a 1.800 ppm de C orgánico y con los tratamientos de la serie I.

Serie III***: Igual a la serie II pero con períodos alternados de congelación a -15°C y 28°C.

CICLO DEL NITROGENO

Mineralización del nitrógeno orgánico

a) Acumulación de nitrógeno mineral en tierras incubadas en condiciones de aireación normal.

Los resultados de la incubación de las dos primeras series de suelos a 28°C, durante 10 semanas, se presentan en los Cuadros 3 al 8.

La primera serie corresponde a los mismos tratamientos aplicados en los ensayos de respiración, es decir 700 ppm de nitrógeno mineral (NH_4NO_3); 35—350 y 700 ppm de nitrógeno orgánico (alanina); 400—4.000 y 16.000 ppm de fósforo (KH_2PO_4); 700 ppm de nitrógeno orgánico más cada uno de los niveles

de fósforo, y un tratamiento adicional de 70 ppm de alanina más 1.000 ppm de aluminio

El testigo muestra una marcada acumulación de nitratos que se hace menos activa en profundidad, con poca acumulación de amoníaco (Figura 3).

Cuando se aplica nitrógeno mineral (Figura 4), en la curva de acumulación de NO_3 aparecen fases de inmovilización. La acumulación de amoníaco es regular y después de semanas de incubación, se inicia una conversión cuantitativa en nitratos y la suma de nitrógeno mineral acumulado se mantiene. Ha poca diferencia en las tres profundidades.

*Ana María Naveas L., estudiante de Agronomía, Universidad Católica de Valparaíso, participó en esta etapa de trabajo.

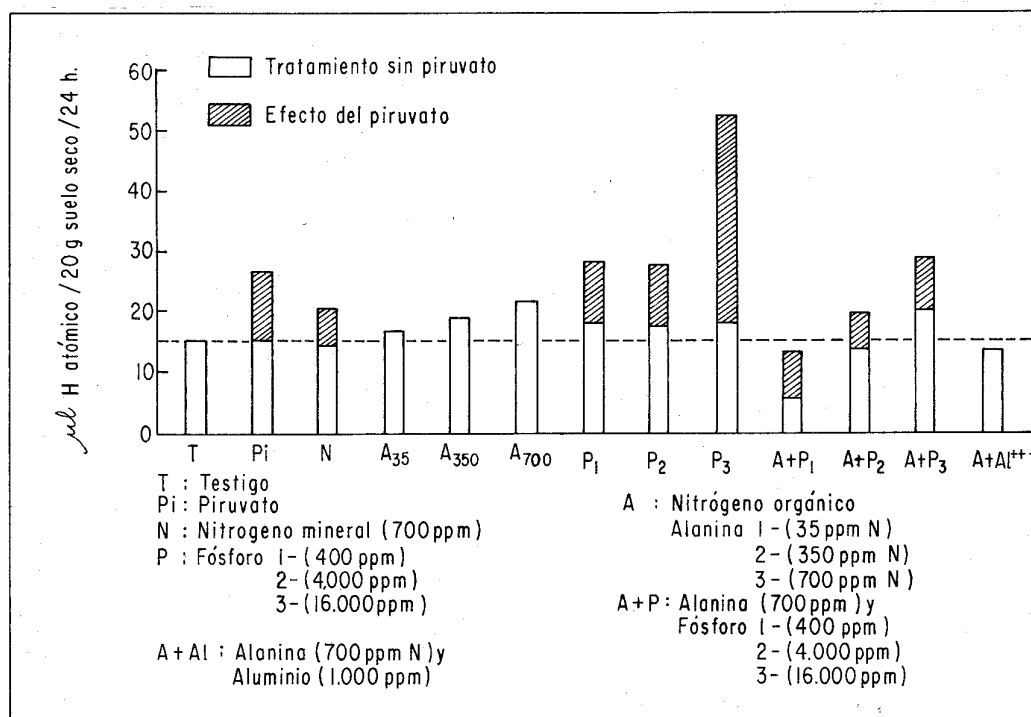


Figura 2 — Actividad deshidrogenásica en suelo (15-25 cm), incubado a 28° C.

La aplicación de fósforo en las dosis de 400 y 4.000 ppm produce una disminución de la nitrificación en relación al testigo, seguida de una inmovilización parcial del nitrógeno mineral. No se produce acumulación de amonio. Con la dosis de 16.000 ppm, la acumulación de nitrógeno mineral total es muy superior al testigo, lo que se acentúa en profundidad (Figura 5).

La aplicación de alanina (35—350 y 700 ppm) produjo en una fase inicial una reducción asimilativa de los nitratos preexistentes en el suelo.

En la dosis más baja, 35 ppm, se produjo una nitrificación rápida. En el nivel de 350 ppm el nitrógeno aplicado se recupera en menos de 10 días bajo forma mineral, amonio al comienzo y nitratos después, observándose una amonificación rápida. En el nivel de 700 ppm hay una amonificación muy activa que lleva a una concentración de amonio que frena la nitratación (Figura 6). Esta misma dosis de alanina en presencia de 1.000 ppm de aluminio actúa en forma semejante en las tres profundidades y la nitratación es parecida a la del tratamiento de alanina sola, pero la amonificación es más activa.

En el caso de una adición simultánea de alanina y fosfato, se nota una acumulación de

nitratos con una tendencia semejante a la del testigo, pero con fases de inmovilización (Figura 8). En la dosis de 16.000 ppm de fósforo, la amonificación es más activa y sobre todo para las dos primeras profundidades.

En la serie con piruvato, observamos (Figura 3), que las muestras con piruvato solo, nitrifican sin acumulación de amonio, pero a una tasa inferior a la del testigo.

Las muestras de esta serie con nitrógeno mineral (700 ppm) evidencian una inmovilización de nitratos muy pronunciada durante los primeros días, seguida de una nitrificación

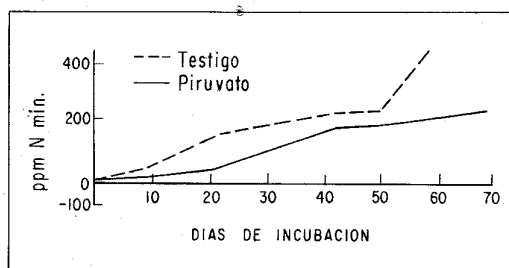


Figura 3 — Curvas de acumulación de N-NO₃ en suelo superficial (0-10 cm) incubado a 28° C, durante 70 días.

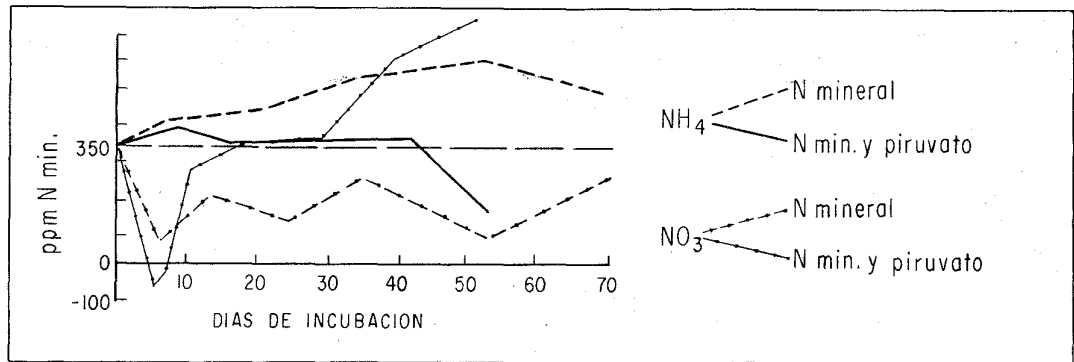


Figura 4 – Curvas de acumulación de N-NH₄ y N-NO₃ en suelo superficial (0-10 cm) al que se le ha aplicado 700 ppm de N mineral e incubado a 28° C.

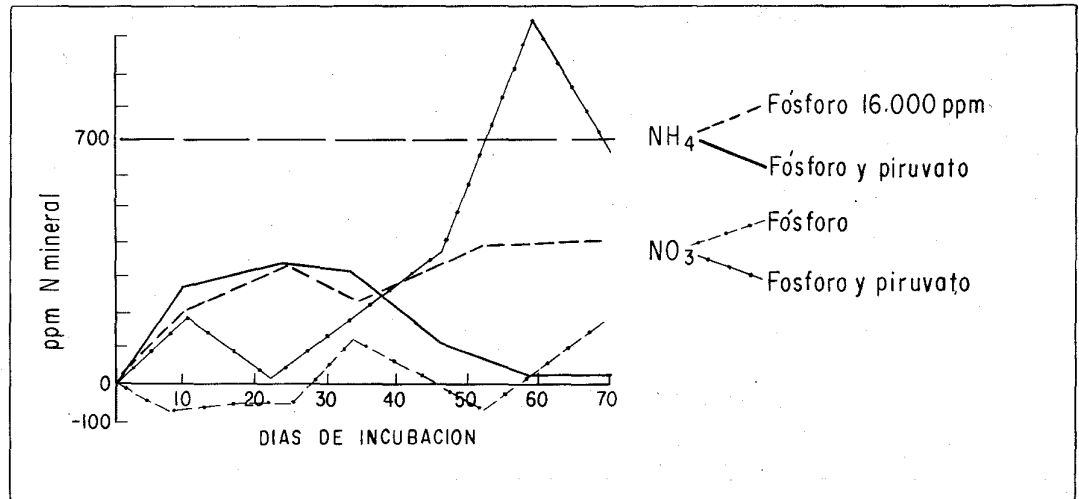


Figura 5 – Curvas de acumulación de N-NH₄ y N-NO₃ en suelo superficial (0-10 cm) al que se le ha aplicado 16.000 ppm de P, incubado a 28° C durante 70 días.

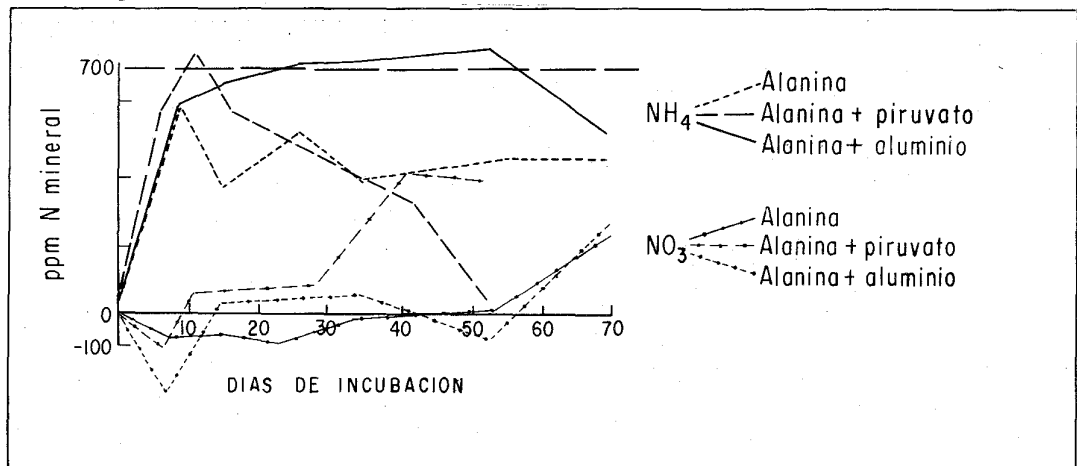


Figura 6 – Acumulación de N-NH₄ y N-NO₃ en suelo superficial (0-10 cm) en presencia de 700 ppm de N orgánico, incubado a 28° C durante 70 días.

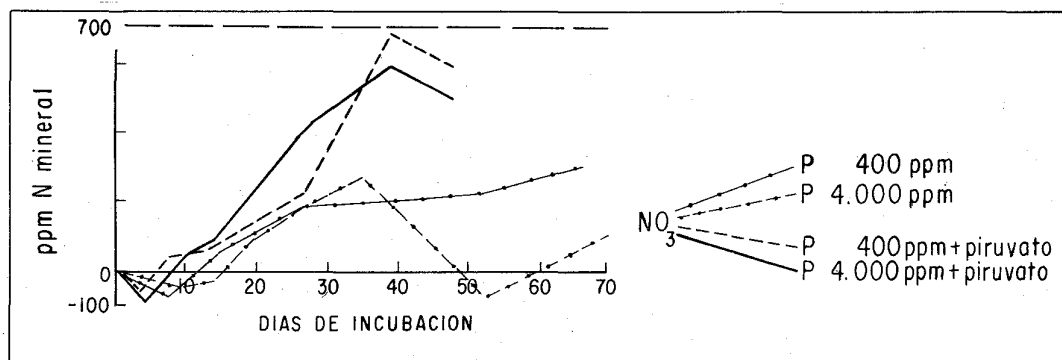


Figura 7 — Acumulación de $N-NO_3$ en suelo superficial (0-10 cm) al que se le ha aplicado 2 niveles de P en presencia de 700 ppm de alanina, incubado a $28^\circ C$, durante 70 días.

activa después de 40 días de latencia con una disminución equivalente de amonio (Figura 4).

La presencia de fosfato hace crecer fuertemente la acumulación de nitratos en el nivel superficial y se hace menor en profundidad. La acumulación de nitratos es notable en la dosis de 400 ppm, ya que en ausencia de piruvato no dio respuesta. 4.000 ppm de fósforo producen una anticipación de la nitrificación en relación a la dosis baja y 16.000 ppm producen una acumulación de amonio considerable al comienzo, que se agota para dejar lugar a la nitratación, excepcionalmente activa, sobre todo en las dos primeras profundidades (Figura 5).

En esta serie con piruvato, la presencia de 700 ppm de nitrógeno orgánico bajo forma de alanina, da un resultado notable (figura 6), la amonificación es total en menos de 5 días, luego el amonio acumulado desaparece para convertirse en nitratos a los 50 días. El nivel inferior del horizonte húmico nitrifica menos.

Otra vez se destaca el efecto de la alanina

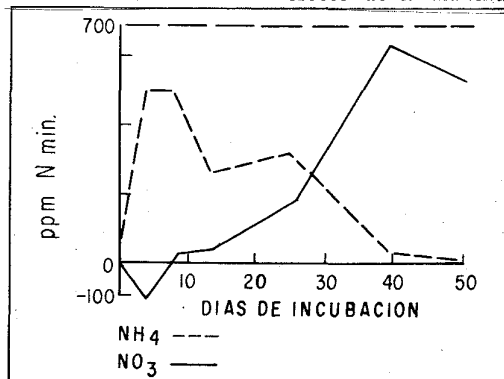


Figura 8 — Acumulación de $N-NH_4$ y $N-NO_3$ en suelo superficial (0-10 cm.) al que se le ha aplicado fósforo, alanina y piruvato, incubado a $28^\circ C$, durante 70 días.

en presencia de fosfatos; hay poca diferencia entre las dosis de 400 y 4.000 ppm (Figura 8), sólo que aquí la conversión de amonio en nitrato es rápida para las tres profundidades en estudio. Al comienzo hay siempre una fase fugaz de inmovilización de los nitratos. El nitrógeno total acumulado equivale al nitrógeno del amino-ácido (Figura 8). En el nivel de 16.000 ppm se produce una amonificación total en menos de dos días, la que desaparece después de 7 semanas con una marcada producción de nitratos (Figura 9).

b) *Acumulación de nitrógeno mineral en tierras sometidas a una aireación activa durante 30 días.*

Una vez más, el nitrógeno mineral no tuvo efecto; el piruvato induce a una inmovilización parcial del nitrógeno mineralizado; la alanina se amonifica, pero la conversión en nitratos sólo se hace en 30 días para la dosis de 700 ppm. El fósforo sólo tiene efecto en la dosis de 16.000 ppm. El amonio se acumula en cantidades considerables en todas las profundidades y esto es mayor en la serie que recibió piruvato simultáneamente.

En el caso de una aplicación simultánea de alanina y fósforo, este efecto es aumentado en forma notable, sobrepasando la dosis de nitrógeno aportado sobre todo en la serie que recibió piruvato.

El aluminio no influye en la amonificación, pero impide la nitratación.

Al expresar estos resultados en tasa de mineralización de nitrógeno orgánico, es evidente la posibilidad de activar esta función metabólica; llama la atención que el nitrógeno orgánico del segundo nivel del horizonte húmico (15–25 cm) es más susceptible a la mineralización que el de los otros dos.

El congelamiento repetido tiene un efecto muy poco manifiesto, semejante a lo que se vio en el ciclo del carbono.

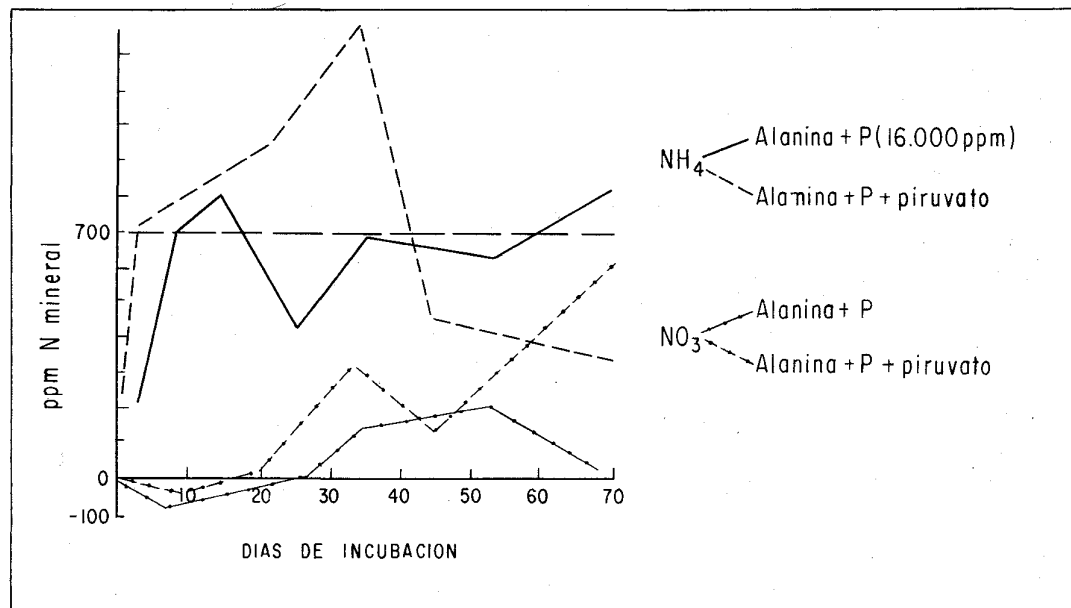


Figura 9 — Acumulación de $N-NH_4$ y $N-NO_3$ en suelo superficial (0-10 cm) en presencia de alanina y fósforo, incubado a $28^\circ C$, durante 70 días.

DISCUSION

Ciclo del carbono

Los cuadros y gráficos muestran una mineralización del carbono en presencia del aminoácido (alanina) o del fosfato, más marcada en los horizontes inferiores, lo que se explicaría por un mejor aprovechamiento de la fuente energética, como se observa en el Cuadro 9.

El fósforo en la dosis más alta (16.000 ppm) activa muy fuertemente la mineralización del carbono orgánico húmico, lo que se repite en forma semejante en los tres horizontes. Cuando están presentes el piruvato y la alanina, hay un efecto adicional del fósforo en sus tres dosis.

La alanina y el piruvato producen una activación general en los diversos tratamientos, que podría atribuirse al efecto del carbono fácilmente metabolizable aportado por estos compuestos; el fósforo tendría un efecto adicional al actuar con ellos.

Sin embargo, la recuperación, como CO_2 , del carbono aplicado, es sólo un porcentaje del total, Cuadro 9; parece que una fracción del carbono orgánico que se aportó fue inmovilizada biológicamente o tal vez fijada en forma de un complejo órgano-mineral, hecho postulado por investigadores neozelandeses (5).

La forma de las curvas acumulativas de desprendimiento de CO_2 indica que se trata de un fenómeno en que la alanina, fuente de carbono fácilmente metabolizable al igual que el

piruvato, dan lugar a una aceleración inicial, estableciéndose después el régimen correspondiente a la mineralización lenta del C húmico; este fenómeno se hace más y más evidente hacia la base del horizonte húmico.

Hay que destacar el efecto de las 16.000 ppm de fósforo en la mineralización del carbono orgánico, Cuadro 9, cifras que corresponden a la aplicación de 1,2—1,5 gr. de piruvato por 100 gr. de materia orgánica en el primer nivel, de 2,5—3,4 en el segundo y de 2,1 a 2,3, en el tercero.

Así se tiene una primera aproximación del efecto activador del fósforo que se produce a partir de las 4.000 ppm.

Como se indicó anteriormente, la recuperación del C del piruvato y de la alanina en 30 días como CO_2 está muy lejos de ser completa, lo que hace evidente que el material energético liberado por el fósforo podría ser muy superior al que nos indica el desprendimiento de CO_2 .

La mineralización del carbono orgánico del testigo se hace a una tasa reducida pero regular, representada por una recta para los 30 días que duró el ensayo. Esta forma de la curva no es modificada por la acción del frío, lo que es una manifestación de los mecanismos de regulación, que rigen el ecosistema fíalo.

Los resultados de los ensayos sometidos a periodos alternados de congelación y $+28^\circ C$, son comparables si se descuenta el período de inactividad al estado de congelación a los obte-

nidos con t° constante de 28°C; las curvas de desprendimiento de CO_2 son muy parecidas, pero en la serie con piruvato los dos niveles inferiores del horizonte orgánico muestran un desprendimiento mayor. Estos hechos indicarían la presencia de una microflora relictual adaptada a periodos alternantes de frío.

Este conjunto de ensayos establece que la mineralización del C orgánico está muy disminuida *in situ* por las condiciones térmicas y además bloqueada al nivel del complejo arcilloso, pero que puede ser activada considerablemente aplicando ciertos sustratos ener-

géticos y en condiciones de mayor temperatura.

En cuanto a la actividad deshidrogenásica, es notable la activación producida por las dosis elevadas de fósforo; en la serie con piruvato es sorprendente la uniformidad de los valores obtenidos, Cuadro 2, debido tal vez al efecto residual de este sustrato energético. Este hecho muestra que la actividad deshidrogenásica, estrechamente ligada a las manifestaciones vitales de la biocenosis que la produce y estabilizada por el efecto protector del complejo de intercambio frente a las enzimas, es un complemento altamente significativo en la bús-

Cuadro 3 – Acumulación de NH_4^+ y NO_3^- en suelos incubados a 28°C durante 70 días. (profundidad 0-10 cm.)

Tratamientos		NH_4^+ en ppm						NO_3^- en ppm					
		Días de incubación						Días de incubación					
		8	14	25	35	53	70	8	14	25	35	53	70
N mineral	ppm	403	420	462	525	577	480	86	209	131	254	79	220
Alanina	35	19	21	-4	-4	11	16	-67	5	18	134	152	216
Alanina	350	276	263	213	178	216	220	-40	13	80	159	256	178
Alanina	700	546	338	491	365	427	430	-234	15	25	55	-77	240
Fósforo	400	6	16	-14	-9	2	-9	-23	-4	26	100	170	220
Fósforo	4.000	15	21	-9	-14	-9	-9	-47	0	53	113	0	120
Fósforo	16.000	172	237	310	234	392	404	-78	-56	-45	121	-66	168
Alan. + Fósf.	400	526	518	469	298	363	393	-74	24	174	189	219	298
Alan. + Fósf.	4.000	548	525	480	451	315	301	-43	-21	175	266	-67	96
Alan. + Fósf.	16.000	721	817	417	685	641	825	-82	-56	-8	149	212	10
Alan. + Al^{+++}	1.000	600	675	721	735	778	525	-82	-56	-64	-172	10	252
Testigo		39	52	-1	5	3	4	36	156	224	235	—	439

Cuadro 4 – Efecto de una fuente de C asimilable en la acumulación de NH_4^+ y NO_3^- en suelos incubados a 28°C durante 70 días (profundidad 0 - 10 cm.)

Tratamiento		NH_4^+ en ppm						NO_3^- en ppm					
		Días de incubación						Días de incubación					
		8	14	25	35	53	70	8	14	25	35	53	70
Piruvato de Na		26	31	0	-1	-1	-7	-2	13	77	162	168	240
Piruv. + N mineral		391	394	358	357	346	134	-60	277	339	329	596	696
	ppm												
Piruv. + Fósf.	400	7	4	47	0	0	-7	4	-3	34	124	160	588
Piruv. + Fósf.	4.000	34	21	-5	-1	-1	-2	43	69	195	222	256	373
Piruv. + Fósf.	16.000	281	355	306	137	21	40	-9	9	184	363	1.036	622
Piruv. + Alan.	700	593	734	577	427	330	43	-86	54	68	90	383	369
Piruv. + Alan. + Fósf.	400	505	505	268	331	45	6	-87	41	53	199	658	542
Piruv. + Alan. + Fósf.	4.000	383	545	445	279	6	6	-71	38	73	379	596	483
Piruv. + Alan. + Fósf.	16.000	724	784	935	1.284	454	401	-7	-31	34	331	140	600
Testigo		39	52	-1	5	3	4	36	156	224	235	—	439

queda de los valores del catabolismo del carbono orgánico del suelo.

Ciclo del Nitrógeno

En los ensayos realizados en el laboratorio, se repitieron los mismos tratamientos que los ya nombrados en los experimentos del ciclo del carbono y en ellos se destacaron los siguientes hechos:

La aplicación de fósforo en las dosis de 400 y 4.000 ppm produjo una disminución de la nitrificación en relación al testigo, seguida de una inmovilización parcial del nitrógeno mineral, lo que se debería al efecto indirecto de la liberación de material energético en forma

de ácidos fúlvicos. Al aplicar 16.000 ppm la acumulación de nitrógeno mineral total es muy superior al testigo y más en la profundidad que en la superficie.

La presencia de alanina, en general, produce una fase de fijación biológica de los nitratos presentes, seguida de una nitratación, que en el caso del nivel más alto, es frenada por una gran concentración de amonio.

Cuando la alanina (700 ppm) va acompañada de 1.000 ppm de aluminio, se produce una disminución de la magnitud de la inmovilización, lo que parece indicar una reducción de la proliferación de una parte de la biocenosis.

Cuadro 5 — Acumulación de NH_4^+ y NO_3^- en suelos incubados a 28°C durante 70 días (profundidad 15-25 cm.)

Tratamientos	ppm	NH_4^+ en ppm						NO_3^- en ppm					
		Días de incubación						Días de incubación					
		8	14	25	35	53	70	8	14	25	35	53	70
N mineral		335	374	393	407	420	298	252	272	74	319	166	342
Alanina	35	7	7	-7	-2	-2	-12	27	43	74	90	138	228
Alanina	350	139	277	269	270	307	160	102	14	30	42	79	323
Alanina	700	477	577	592	587	623	648	78	25	21	25	-13	50
Fósforo	400	-7	-7	-12	-12	-2	-12	16	31	54	59	103	124
Fósforo	4.000	12	12	3	-2	41	41	1	14	49	59	97	143
Fósforo	16.000	53	123	204	295	307	275	-25	3	25	51	169	364
Alan. + Fósf.	400	469	532	520	503	440	410	35	21	73	117	198	138
Alan. + Fósf.	4.000	357	459	327	243	191	200	66	66	164	331	331	418
Alan. + Fósf.	16.000	483	629	670	672	645	470	67	-57	43	114	353	220
Alan. + Al ⁺⁺⁺	1.000	440	582	690	684	749	790	1	5	108	7	18	21
Testigo		29	7	7	9	4	-1	8	30	71	92	—	214

Cuadro 6 — Efecto de una fuente de C asimilable en la acumulación de NH_4^+ y NO_3^- en suelos incubados a 28°C durante 70 días (profundidad 15-25 cm.)

Tratamientos	ppm	NH_4^+ en ppm						NO_3^- en ppm					
		Días de incubación						Días de incubación					
		8	14	25	35	53	70	8	14	25	35	53	70
Piruvato		0	17	0	27	0	-1	-23	-25	-24	12	36	68
Piruvato + N mineral		427	404	408	416	154	211	-16	408	385	408	524	583
Piruv. + Fósf.	400	6	12	11	9	1	-7	-43	-43	-37	17	37	187
Piruv. + Fósf.	4.000	7	27	22	0	0	6	0	-43	-38	25	53	65
Piruv. + Fósf.	16.000	223	454	388	456	762	292	219	15	1	107	474	626
Piruv. + Alan.	700	751	757	779	719	545	0	-46	-14	-15	-3	234	393
Piruv. + Alan. + Fósf.	400	640	654	563	355	1	9	-46	0	43	261	670	705
Piruv. + Alan. + Fósf.	4.000	560	637	609	332	8	0	-47	-15	13	304	781	751
Piruv. + Alan. + Fósf.	16.000	629	817	710	1.248	940	691	-9	-6	8	29	183	437
Testigo		29	7	7	9	4	-1	8	30	71	92	—	214

En la serie que recibió piruvato, observamos que los tratamientos con piruvato sólo nitrifican sin acumulación de amonio, lo que se debería a una inmovilización del N mineral causada por la presencia de una fuente energética fácilmente aprovechable. Cuando se aplica nitrógeno mineral, se produce una inmovilización pronunciada al comienzo de la experiencia, seguida de una nitrificación activa después de 40 días.

El fósforo en presencia de una fuente energética rápidamente asimilable como el piruvato, aún en su nivel más bajo, produce una fuerte acumulación de nitratos, efecto que se hace menor en profundidad (Figura 7).

La alanina en presencia de piruvato produce un resultado notable, la amonificación se produce en 5 días, seguida de una nitratación activa. Se repite el efecto de la alanina en presencia de fósforo, hay una fase fugaz de inmovilización de los nitratos al comienzo, una amonificación rápida y el período de latencia es menor, llegando más pronto a la producción de nitratos.

Estos ensayos muestran que potencialmente la mineralización del nitrógeno orgánico funciona sin impedimentos en estos suelos, la acumulación de nitratos en el laboratorio puede alcanzar valores considerables, hecho sorprendente en estos suelos tan ácidos.

Cuadro 7 — Acumulación de NH₄⁺ y NO₃⁻ en suelos incubados a 28°C durante 70 días (profundidad 25-40 cm.).

Tratamientos	NH ₄ ⁺ en ppm						NO ₃ ⁻ en ppm					
	Días de incubación						Días de incubación					
	8	14	25	35	53	70	8	14	25	35	53	70
N mineral	344	364	361	373	389	415	332	123	234	289	311	333
ppm												
Alanina 35	39	46	39	46	71	54	5	1	9	18	20	32
Alanina 350	282	295	311	304	337	119	1	0	5	5	14	169
Alanina 700	541	581	529	585	619	651	9	1	8	1	-13	10
Fósforo 400	9	23	9	-1	4	-20	1	20	11	15	163	102
Fósforo 4.000	17	26	13	9	-15	-20	-4	8	10	30	102	42
Fósforo 16.000	16	48	135	172	235	286	-5	4	0	0	27	128
Alan. + Fósf. 400	517	518	523	512	455	429	10	6	14	46	148	180
Alan. + Fósf. 4.000	468	478	470	443	380	298	25	39	28	79	201	323
Alan. + Fósf. 16.000	354	389	428	461	491	311	-5	74	0	5	102	170
Alan. + Al ⁺⁺⁺ 1.000	385	464	607	631	700	662	-9	138	-1	7	1	9
Testigo	16	11	-2	-7	-14	-8	-3	4	21	23	—	107

Cuadro 8 — Efecto de una fuente de C asimilable en la acumulación de NH₄⁺ y NO₃⁻ en suelos incubados a 28°C durante 70 días (profundidad 25-40 cm.).

Tratamientos	NH ₄ ⁺ en ppm						NO ₃ ⁻ en ppm					
	Días de incubación						Días de incubación					
	8	14	25	35	53	70	8	14	25	35	53	70
Piruvato de Na	7	-8	74	0	14	15	11	-15	-14	-14	-7	8
Piruvato + N mineral	335	322	302	311	279	293	19	352	307	317	294	415
ppm												
Piruv. + Fósf. 400	-7	4	46	0	7	-8	-14	-14	-15	-7	7	52
Piruv. + Fósf. 4.000	-7	4	4	23	16	-2	-14	-15	0	4	3	75
Piruv. + Fósf. 16.000	32	187	194	171	438	70	8	-12	-15	2	63	228
Piruv. + Alan. 700	584	611	609	545	650	506	-20	4	-9	-4	6	104
Piruv. + Alan. + Fósf. 400	476	470	506	452	55	-7	-20	-9	-3	21	476	609
Piruv. + Alan. + Fósf. 4.000	469	535	535	548	124	-7	-18	-8	-3	21	543	687
Piruv. + Alan. + Fósf. 16.000	485	562	707	858	846	93	-9	-9	-15	-3	21	275
Testigo	16	11	-2	-7	-14	-8	-3	4	21	23	6	107

Cuadro 9

a) Recuperación en % del carbono orgánico aplicado (1.800 ppm) en suelos incubados a 28°C durante 30 días.

Recuperación

Tratamientos	Profundidad en cm.		
	0-10	15-25	25-40
Alanina	6,5	28,9	40,3
Alanina + Fósforo 16.000 ppm	17,7	53,2	50,2
Piruvato de sodio	38,8	42,1	55,0

b) C liberado de la materia orgánica del suelo, incubado a 28°C, durante 30 días, en mg. de C- (CO₂) y en % (tasa de mineralización, Tm)

	Profundidad en cm.					
	0 - 10		15 - 25		25 - 40	
	mg/100 g	Tm	mg/100 g	Tm	mg/100 g	Tm
Fósforo 16.000 ppm	178,8	0,98	174,1	1,48	148,9	1,53
Fósforo + Piruvato	150,3	0,82	212,4	1,81	138,7	1,43
Fósforo + Piruvato con períodos alternados a -15°C	174,2	0,95	241,2	2,06	149,0	1,53

La presencia de una fuente energética como el piruvato y también la alanina, conducen a una inmovilización notable del nitrógeno mineral proveniente del suelo o del nitrógeno orgánico exógeno, que es amonificado extremadamente rápido.

La conversión de este amonio en nitratos es acelerada por la adición del piruvato y más aún del fosfato, lo que se puede observar en la Figura 9, en que el fósforo en la dosis de 16.000 ppm liberó una cantidad considerable de amonio a partir del nitrógeno orgánico del suelo.

CONCLUSIONES

En condiciones naturales, la materia orgánica de estos suelos fadís, se humifica perfectamente y se acumula en el perfil hasta llegar a valores muy elevados (30—40%).

En el laboratorio, bajo condiciones controladas se observó algunas reacciones muy interesantes de estos suelos, que se relacionan con los siguientes hechos:

- 1) El suelo natural, al ser sometido a una temperatura constante de 28°C, experimenta una activación de la población microbiana que se manifiesta por un aumento de la respiración y formación de nitratos.
- 2) En presencia de substratos energéticos, como el piruvato de sodio y la alanina, la actividad de las poblaciones del suelo aumenta en forma notable lo que se traduce en cifras, en algunos casos muy elevadas, de CO₂ y N mineral.
- 3) El fósforo, sobre todo en la dosis más alta, provoca una activa mineralización del carbono y nitrógeno orgánico, mayor aún que la producida por el piruvato solo.

Estos hechos y la recuperación incompleta del carbono fácilmente aprovechable que se incorporó a estos suelos en forma de piruvato y alanina, recuperación que sólo alcanzó el 6,5% del carbono de la alanina y el 38,8% del carbono del piruvato aplicados, inducen a pensar que una fracción de este carbono fue inmovilizada biológicamente o tal vez fijada en forma de un complejo órgano-mineral.

El fósforo tiene una acción muy importante en este conjunto de procesos y los experimentos realizados permiten postular una acción indirecta de este elemento, al desplazar (en la dosis de 16.000 ppm) los ácidos fúlvicos que por ser una fuente de energía fácilmente aprovechable, producen esa activación tan notable de la biocenosis.

Las cifras de recuperación de C—CO₂ que alcanzan en este caso del fósforo hasta 1,5% del carbono húmico del suelo, corroboran esta hipótesis.

En resumen y como síntesis de todos estos ensayos se puede concluir que, en las condiciones de terreno, los procesos de mineralización de carbono y nitrógeno orgánicos se efectúan en forma regular pero lentamente, de acuerdo a las condiciones de la localidad; la

mineralización tanto del carbono como del nitrógeno orgánico del humus, estaría frenada por falta de una fuente de energía "disponible" para la población microbiana, puesto que parte del carbono estaría unido al coloide mineral formando un complejo arcillo-húmico.

En cuanto al nitrógeno, estos ensayos muestran que potencialmente la mineralización del nitrógeno orgánico funciona sin impedimentos, ya que la acumulación de nitratos alcanza niveles considerables en el laboratorio, hecho sorprendente en estos suelos tan ácidos.

Otra vez, cabe destacar, la acción del fósforo que en una dosis elevada es capaz de liberar una cantidad considerable de amonio a partir del complejo coloidal del suelo y posibilitar un aumento de la tasa de amonificación del nitrógeno orgánico.

RESUMEN

Se estudió la actividad de algunos grupos metabólicos de microbios en tres profundidades de un suelo ñadi.

En condiciones naturales el C y N orgánicos se mineralizan a una tasa regular pero reducida que permite que la materia orgánica se acumule.

En el laboratorio, al aumentar la temperatura y proporcionar substratos energéticos, estos procesos se aceleran, obteniéndose cifras elevadas de desprendimiento de CO₂ y notable acumulación de nitrógeno mineral, lo que implica la presencia de una población microbiana potencialmente muy activa.

Un efecto parecido se obtiene con el fósforo a partir de cierto nivel, al liberar una gran cantidad de carbono fácilmente aprovechable y de amonio.

El nitrógeno por sí mismo no sería un factor limitante en la formación de nitratos, pero como los microorganismos productores de amonio son heterótrofos, necesitan substratos energéticos; a la postre, es el ciclo del carbono el que detiene el ciclo del nitrógeno.

Se postula como factor limitante del proceso de mineralización, la falta de una fuente de energía "disponible" ya que el carbono estaría parcialmente inmovilizado, sea biológicamente o bien unido al coloide mineral.

SUMMARY

The activity of some metabolic groups of microbes has been studied in three depths of a ñadi soil.

Under natural conditions, the organic carbon and nitrogen mineralize at a reduced rate which allows for accumulation of organic matter.

In the laboratory, these processes are accelerated by an increase in temperature and by furnishing energetical substrates; high figures of CO₂ evolution and a marked accumulation of mineral nitrogen are obtained, which implies the presence of a potentially very active population.

A similar effect is obtained, from a given level on, with phosphorous, which liberates a great amount of easily assimilable carbon and ammonia.

Nitrogen by itself would not be a limitant factor in the formation of nitrates, but as the ammonia-producing microorganisms are heterotrophs, they need energetical substrates; in the last end, it is the carbon cycle which holds backs the nitrogen cycle.

The lacking of a source of available energy is postulated to be a limitant factor of the process of mineralization, as the carbon would be partially immobilized, be it biologically or held by the mineral colloid.

LITERATURA CITADA

1. ACEVEDO H., EDMUNDO. Determinación radioquímica de la fijación e intercambio de fosfatos en el horizonte Ap de la serie Trumao Osorno. Tesis Ing. Agr. Santiago. Universidad de Chile. 1964. 60 p. (Mimeografiada).
2. ALCAYAGA CASALI, SERGIO. Taxonomic and cartographic units in the detail soil survey and their application to the Chilean soil survey. M. S. Thesis. Ithaca, Cornell University. 1958. 170 p. (Mimeografiada).
3. BIRREL, K. S. Ion fixation by allophane. New Zealand J. of Science, 4:393-414. 1961.
4. BREMNER, J. M. Organic N in soils. In Monography Am. Soc. Agron. 10:93-149. 1965.
5. BROADBENT, F. E., JACKMAN, R. H., Mc NICOLL, J. Mineralization of carbon and nitrogen in some New Zealand allophanic soils. Soil Science 98:118-128. 1964.
6. CARMONA BROUSSAIN, PATRICIO. Algunas características hídricas en suelos de trumao y ñadis en la provincia de Osorno. Mesa Redonda de Suelos Volcánicos (Valdivia). Santiago. Sociedad Agronómica de Chile. Publicación Especial N° 1. 1964. pp. 17-28.
7. DIAZ VIAL, CARLOS, *et al.* Estudio sobre habitación de los ñadis, o suelos húmedos, del Departamento de Puerto Varas (1954). Agricultura Técnica (Chile) 18 (2):412-486. 1958.
8. ESPINOZA GARRIDO, WALDO. Caracterización química de suelos volcánicos de Ñuble. Parte I. - Métodos de dispersión de suelos volcánicos. Facultad de Agronomía, Universidad de Concepción, Chile. Circ. Inf. N° 19. 1967. 27 p.
9. FOY, C. D. and BROWN, J. C. Toxic factors in acid soils: II Differential aluminum tolerance of plant species. Soil Sc. Soc. Amer. Proceedings, 28(1):27-32. 1964.
10. GOÍC M., LJUBO. Fertilización en establecimiento de praderas en cinco series de suelos de Osorno. Agricultura Técnica (Chile) 28(1):16-22. 1968.
11. HERNANDEZ VICUÑA, HERNAN. Relaciones entre la deficiencia de fósforo y la posible toxicidad de aluminio en suelos derivados de cenizas volcánicas. Tesis Ing. Agr. Santiago, Universidad de Chile. 1968. 79 p. (Mimeografiada).
12. NARBONA GOMEZ, MANUEL. Asociación serie ñadi Frutillar. Mesa Redonda de Suelos Volcánicos (Valdivia). Santiago. Sociedad Agronómica de Chile. Publicación Especial N° 1. 1964. pp. 39-42.
13. SCHENKEL, GOTARDO *et al.* Exploración de deficiencias nutritivas con suelos en macetas. II. Suelos ñadis. Agricultura Técnica (Chile). (En prensa).
14. THALMAN, A. Ueber die mikrobielle Aktivität und ihre Beziehungen zu Fruchtbarkeitsmerkmalen einiger Ackerböden unter besonderer Berücksichtigung der Dehydrogenase-Aktivität (TTC-Reduktion). Dissert. landw. Fak., Univ. Giessen. 1967. 227 p.
15. URBINA DE ALCAYAGA, ANGELA. Interacción calcio-fósforo en suelos de cenizas volcánicas. Primera parte. Mesa Redonda de Suelos Volcánicos (Valdivia). Santiago. Sociedad Agronómica de Chile. Publicación Especial N° 1. 1964. pp. 129-135.
16. ————. Relaciones entre algunas características físicas y químicas de suelos derivados de cenizas volcánicas. Agricultura Técnica (Chile), 25(1):9-18. 1965.