

UNIVERSIDAD DE GRANADA

FACULTAD DE CIENCIAS

TESIS DOCTORAL

CARACTERIZACION DE DIVERSAS FRACCIONES DEL **P** EN
ANDOSOLES CHILENOS Y SIGNIFICADO DE LOS
MICROORGANISMOS, CON ESPECIAL REFERENCIA
A LAS MICORRIZAS, EN EL APORTE DE DICHO
MACRONUTRIENTE A LAS PLANTAS

Fernando R. Borie Borie

1981



Biblioteca Universitaria de Granada



01080980

~~Rev. T. 4-48~~
T 7/85

Esta Tesis Doctoral fue leída el 9 de Julio de 1981, obteniendo la calificación de sobresaliente "cum laude", ante el Tribunal constituido por los profesores siguientes:

Dr. D. Luís Recalde Martínez

Dr. D. Enrique Montoya Gómez

Dr. D. Alberto Ramos Cormenzana

Dr. D. Manuel Lachica Garrido

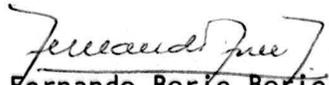
Dr. D. José Miguel Barea Navarro

R. 49.546

CARACTERIZACION DE DIVERSAS FRACCIONES DEL P EN ANDOSOLES CHILENOS Y SIGNIFICADO DE LOS MICROORGANISMOS, CON ESPECIAL REFERENCIA A LAS MICORRIZAS, EN EL APORTE DE DICHO MACRONUTRIENTE A LAS PLANTAS.



MEMORIA que presenta el Licenciado en Química y Farmacia por la Universidad de Chile, D. Fernando Borie Borie, para aspirar al Grado de Doctor.


Fdo.: Fernando Borie Borie

V.ºB.º
El Director



Fdo.: Dr. José Miguel Barea N.
Investigador Científico del C.S.I.C.



Granada, 1981.

EL PRESENTE TRABAJO HA SIDO REALIZADO
EN EL DEPARTAMENTO DE QUIMICA INORGANI-
CA Y ANALITICA DE LA FACULTAD DE CIEN-
CIAS QUIMICAS DE LA UNIVERSIDAD DE
CHILE DURANTE EL PERIODO 1977-1981.

LA FINALIZACION DEL TRABAJO EXPERIMENTAL
Y DE REDACCION DE ESTA TESIS SE HA REALI-
ZADO EN LA U.E. de I. DE MICROBIOLOGIA
DE LA ESTACION EXPERIMENTAL DEL ZAIDIN
GRANADA, ESPAÑA (C.S.I.C.), A PARTIR DE
ENERO DE 1981.

La realización de la presente Tesis Doctoral se ha debido, fundamentalmente, al esfuerzo, dedicación y apoyo que me ha brindado en todo momento mi maestro y amigo, Dr. José Miguel Barea N., Investigador Científico del C.S.I.C.

Junto con agradecer muy sinceramente su enorme contribución a mi formación tanto científica como humana deseo hacerlo, además, por haber contribuido, en parte, al desarrollo de la Microbiología de Suelos en Chile.

Al finalizar este trabajo deseo expresar mis agradecimientos a todas aquellas personas e Instituciones que, directa e indirectamente han permitido la realización de esta Tesis Doctoral.

Al Dr. César González de la U. de Chile, por el apoyo y consejo permanente que me ha brindado y a mis colegas de Química Analítica, por su continuo estímulo y recargo de trabajo que les ha significado. Mención especial de mi gratitud a los integrantes de la U.E. de I. de Microbiología de la Estación Experimental del Zaidín por el espíritu de trabajo y camaradería que en ellos he encontrado permanentemente.

Deseo agradecer además, en las personas del Director de la Estación Experimental del Zaidín Dr. Manuel Lachica G. y del Decano de la Facultad de Ciencias Químicas Dn. Carlos Mercado Sch., al Consejo Superior de Investigaciones Científicas y Universidad de Chile, respectivamente, por las facilidades materiales otorgadas. Finalmente, mis agradecimientos en forma muy especial al Ministerio de Asuntos Exteriores por la ayuda económica aportada dentro del Programa de Asistencia Técnica de España a Chile.

A MIS PADRES

A MI MUJER E HIJAS

I N D I C E

I.-	Objetivos e interés del trabajo	1
II.-	Introducción (Revisión Bibliográfica)	4
	Los suelos Trumaos, situación, origen y características	4
	Factores que afectan la fertilidad de los suelos Trumaos	6
	Ciclo del fósforo en los suelos	9
	Compuestos de fósforo en el suelo	10
	Fósforo inorgánico en la fracción no-lábil	12
	Fósforo orgánico en la fracción no-lábil	13
	Fósforo en el "pool" lábil	19
	Fósforo en la solución del suelo	22
	Captación del fósforo por los vegetales	23
	Participación de los microbios en las transformaciones del fósforo	25
	Solubilización de fosfatos inorgánicos	26
	Mineralización del fósforo orgánico	30
	Inmovilización de fósforo	32
	Micorrizas	34
	Ubicuidad de las micorrizas V-A	35
	Taxonomía	37
	Mecanismos de infección	38
	Efectos sobre la nutrición mineral de las plantas	44
	Perspectivas agronómicas de las micorrizas V-A	47
III.-	Plan de Trabajo	50
IV.-	Material y Métodos	54
	A-. Determinaciones químicas y físico-químicas	55

B.-. Determinaciones enzimáticas, de desprendimiento de CO ₂ y de poblaciones microbianas en suelos Trumaos	61
C.-. Ensayos con microorganismos del ciclo del P	66
V.-. Resultados	74
VI.-. Discusión	134
Fósforo lipídico en suelos Trumaos	141
Mineralización de la materia orgánica	144
Actividad fosfatásica	148
Actividad de los microorganismos de vida libre	153
Micorrizas vesículo-arbusculares	155
VII.-. Conclusiones	162
Perspectivas de investigación de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio	164
VIII.-. Bibliografía	166

I.- OBJETIVOS E INTERES DEL TRABAJO

I.- OBJETIVOS E INTERES DEL TRABAJO

Chile es un país de una geografía sumamente singular. La Cordillera de los Andes que lo surca de norte a sur, posee numerosos volcanes que forman parte del llamado "cordón del Pacífico". Como producto de la actividad de los mismos, se han ido liberando desde tiempos remotos materiales que, posteriormente, han derivado en suelos donde actualmente se desarrolla variada gama de cultivos agrícolas y forestales. Los suelos derivados de cenizas volcánicas ocupan en el país una superficie superior a los 4 millones de hectáreas, de las cuales aproximadamente 800.000 son arables y están distribuidas en la zona centro-sur y sur desde el 35º L.S. hasta el 43º L.S.

A este grupo de suelos pertenecen los andosoles, que se caracterizan por poseer alto contenido de materia orgánica, alta capacidad de adsorción de aniones, fundamentalmente fosfato, gran cantidad de óxidos de hierro y aluminio y en especial, niveles elevados de materiales amorfos, particularmente alofana e

imogolita. La gran superficie ocupada por estos suelos y las expectativas silvo-agropecuarias que presentan, hacen que sea de gran interés obtener el máximo de conocimientos sobre las propiedades químicas, físicas y especialmente bioquímicas de los andosoles, como un aporte dirigido al desarrollo agrícola y forestal de la zona centro-sur del país.

Aunque los andosoles chilenos presentan condiciones químicas, físicas y climáticas óptimas para el desarrollo de gran variedad de cultivos agrícolas y forestales, su productividad se ve seriamente limitada por algunos factores de orden edafológico, especialmente sus bajos contenidos de fósforo y nitrógeno asimilables y elevados niveles de aluminio extractable.

Existe bastante información a nivel nacional relativa a la dinámica de la fijación del fosfato en estos suelos, centrándose la investigación en la actualidad en estudios encaminados a disminuir tal fijación mediante el encalado o adición de silicatos. Sin embargo, se han realizado relativamente pocos estudios conducentes a conocer las formas orgánicas en que se encuentra el fósforo tanto en suelos cultivados como sin cultivar. De otro lado, se desconoce totalmente la naturaleza del fósforo "residual", producto de varios años de elevada fertilización fosfatada.

Los principales objetivos de la presente investigación son el determinar en una serie de andosoles típicos, de un lado, las formas de fósforo y sus interrelaciones con otros parámetros físico-químicos del suelo, y de otro, estudiar la influencia que ejercen algunos microorganismos en el "movimiento" de este elemento en el suelo. Conjuntamente con ello, se pretende evaluar la micorrización endotrófica existente en esos suelos, cultivados y sin cultivar, y realizar ensayos de invernadero de inocu-

lación de microorganismos solubilizadores de fosfatos y formadores de micorrizas VA con miras a su posible utilización práctica como "fertilizantes microbianos". Como es conocido, las micorrizas VA, simbiosis mutualística microbio-planta, capacitan a éstas para una mejor captación de fosfato de los suelos. No existen antecedentes bibliográficos de prospección de micorrizas en suelos chilenos en general y la información para andosoles, en particular, es sumamente escasa.

II.- INTRODUCCION (REVISION BIBLIOGRAFICA)

II.- INTRODUCCION (REVISION BIBLIOGRAFICA)

Los suelos "Trumaos". Situación, origen y características

Se pueden distinguir en Chile dos grupos de suelos de origen volcánico bien definidos: los "Trumaos" (vocablo indígena que significa acumulación de cenizas) y los Rojo-arcillosos. Estos andosoles son producto de un intenso volcanismo y se extienden a lo largo de la zona central y sur del país, entre la vertiente occidental y oriental de las Cordilleras de los Andes y de la Costa, respectivamente. Existen antecedentes de su localización desde Colchagua a Magallanes (19°-56° Latitud Sur).

Estudios mineralógicos y geomorfológicos han demostrado que los Trumaos son suelos post-glaciales en su mayoría de edad holocénica, probablemente preboreal/boreal a reciente (1.000-20.000 años), y que exhiben una marcada uniformidad de propiedades, determinadas por el componente común, la alofana (alúmino-silicato amorfo de constitución $\text{SiO}_2\text{-Al}_2\text{O}_3$ variable), coloide

amorfo característico de la fracción arcilla (Besoain, 1969). Estos suelos tienen gran importancia silvo-agropecuarias, se extienden a lo largo de la zona centro-sur de Chile (35º-55º L.S.) y están sometidos a condiciones climáticas húmedas o sub-húmedas y temperaturas moderadas. De acuerdo con el Sistema de Taxonomía de Suelos del U.S. D.A., estos suelos se clasifican como Distrandepts típicos y están relativamente poco desgastados.

Las propiedades más resaltantes de los andosoles en general son:

- Alta capacidad de adsorción y fijación de aniones, especialmente fosfatos (60-80%).
- Presencia dominante en la fracción arcilla de coloides inorgánicos de baja cristalinidad (Rayos X), esencialmente alofana y óxidos e hidróxidos de aluminio, hierro y silicio. Pueden contener asimismo una proporción elevada de imogolita (alúmino-silicato para-cristalino).
- Alta capacidad de intercambio de cationes (30-50 meq./100 g).
- pH ácido (4.7-6.1).
- Elevada capacidad de retención de agua (80-200%).
- Valores altos de superficie específica, generalmente superiores a $400 \text{ m}^2/\text{g}$.
- Baja densidad aparente (0.7-1.2 g/cc).
- Alto contenido de materia orgánica (4-12% como C orgánico).
- Estructuras de suelos bien desarrolladas, con estabilidad elevada frente al agua, lo que explica su alta resistencia a la erosión hídrica.
- Material parental que corresponde generalmente a cenizas de tipo basáltico-andesítico.

Dentro de la extensa área de andosoles cultivables tiene lugar una amplia gama de cultivos agrícolas, siendo



los más tradicionales, el trigo, avena, remolacha azucarera, maíz, colza, patatas, lino, etc. Dentro de la producción forestal, destacan las grandes extensiones de bosques nativos de araucaria, raulí, roble, mañío, avellano y alerce, entre otros.

Factores que afectan la fertilidad de los suelos Trumaos

En relación con los factores que afectan la fertilidad de estos suelos, y que por lo tanto limitan su productividad, Espinoza (1974) señala como más importantes los bajos niveles de fósforo disponible, el elevado contenido de aluminio extractable, la extraordinaria actividad superficial de los coloides alofánicos, el bajo pH y el elevado contenido de materia orgánica altamente humificada. El mismo autor señala que las limitantes de fertilidad pueden ser substancialmente modificadas mediante la adición de elevadas dosis de fósforo y/o mediante la adición de residuos frescos de materia orgánica. La primera alternativa es obvia y el mismo autor analiza detalladamente el efecto producido por tal adición. La otra alternativa ha sido estudiada, en alguna medida por Zunino et al. (1971; 1976) mediante la adición de algas a suelos alofánicos en presencia y ausencia de fertilización fosfatada. Los resultados indican un aumento substancial del fósforo disponible y un mejor aprovechamiento del fosfato agregado, postulándose que el efecto observado se debe a una marcada proliferación microbiana, por una parte, y por otra, a un efecto quelante del hierro y aluminio ejercido por productos de degradación del alga adicionada. Estos productos de degradación también podrían ocupar sitios de intercambio de las superficies de los coloides activos de la matriz del suelo (Parfitt, 1978).

Investigaciones relacionadas con la adsorción de fosfatos por suelos Trumaos, indican que la fijación del fósforo es un fenómeno caracterizado por una etapa inicial rápida

y otra posterior más lenta, y que en total alcanza al 90-98% del fertilizante agregado (Espinoza, 1973). Esta fijación está relacionada con el contenido en aluminio extractable, en alofana y óxidos libres de hierro y aluminio y es afectada por factores tales como temperatura del suelo (Schalscha et al., 1965), concentración del ión fosfato en la solución del suelo (Appelt et al., 1970), tiempo de contacto (Valdés, 1969), concentración de fosfato y relación solución: suelo (Galindo, 1974), pH (Espinoza, 1973; Gutnick et al., 1967), etc.

Es opinión generalizada de que las diferentes formas de aluminio y hierro dominan la fijación de fosfato en los andosoles chilenos (Alamos et al., 1967; Gutnick et al., 1967; Pino, 1968; Appelt y Schalscha, 1970; Galindo y Schalscha, 1972; Zunino et al., 1972). Vanderdeelen et al. (1975) determinan la distribución del fosfato agregado en un perfil de un andosol y describen las leyes que gobiernan la adsorción de fósforo en estos suelos (Vanderdeelen et al., 1973). Por otra parte, Galindo et al. (1971) indican que la eliminación del hierro y aluminio libres produce una disminución del 40-60% en la fijación y la supresión de la alofana da lugar a una reducción entre el 60-66% de la fijación del fósforo.

De acuerdo con los antecedentes anteriormente señalados, se podría deducir que la fijación del fósforo en un fenómeno preferentemente inorgánico. Sin embargo, se hace difícil delimitar con exactitud la influencia que tienen tanto el material inorgánico como orgánico del suelo en el proceso de adsorción de fosfato dada la íntima asociación existente entre los compuestos orgánicos y la fracción mineral del suelo. Desde hace algunos años se conoce la fuerte interacción arcilla-humus, asociación que investigadores modernos denominan complejos "órgano-minerales". Estas interacciones forman parte de un proceso bastante complejo y los mecanismos probablemente involucrados se han discutido recientemente

(Greenland, 1971; Mortland, 1971; Parfitt, 1978). Por lo tanto, parece lógico pensar que en suelos alofánicos con alto contenido en materia orgánica el papel de esta última sea importantísimo en la fijación del fósforo, tal vez no en las primeras etapas iniciales de adsorción pero sí a medida que ocurre el envejecimiento de las estructuras formadas. Así, Appelt (1974), demostró las características de adsorción que poseen los ácidos húmicos y fúlvicos extraídos de suelos Trumaos y, por otra parte, existen antecedentes concretos relacionados con la alta estabilidad de los complejos arcillas-humus-fosfato en suelos de diversa procedencia.

Además, teniendo presente que el elevado contenido de materia orgánica en la mayoría de los suelos conlleva un incremento de la actividad biológica, no se puede olvidar la influencia que ejercen los microorganismos del suelo en el proceso de fijación, máxime si se considera este proceso a mediano o a largo plazo.

Llegado a este punto, parece procedente revisar los conceptos en torno a la problemática del fósforo en los suelos con objeto de centrar aquellos aspectos básicos de la química y bioquímica de este importante nutriente vegetal y analizar, posteriormente, la trascendencia de estos hechos en suelos procedentes de cenizas volcánicas, objeto del presente estudio.

CICLO DEL FOSFORO EN LOS SUELOS

El fósforo es un macroelemento esencial para el crecimiento de las plantas. Su importancia en nutrición vegetal es doblemente crítica ya que, además de su efecto "per se", se sabe que de su aporte adecuado depende la adsorción por las plantas de otros elementos esenciales como son el nitrógeno y algunos micronutrientes.

Su función en Bioquímica Vegetal deriva de que es constituyente esencial de los sistemas responsables de la captación, almacenamiento y transferencia de energía, fundamentalmente el sistema $AMP \rightleftharpoons ADP \rightleftharpoons ATP$ por lo que su papel está generalizado en todos los procesos fisiológicos. Sólo nos remitiremos a mencionar aquí aquéllos que, según Brady (1974) y Finkl y Simonson (1979) afecta preferentemente:

- 1-. Formación de semillas.
- 2-. Desarrollo de raíces, particularmente raicillas laterales.
- 3-. Maduración de cosechas, contrarrestando así los efectos de altas aplicaciones de nitrógeno.
- 4-. Calidad de cosechas, especialmente vegetales y forrajeras.

Teniendo en cuenta que las plantas van a tomar el fósforo del suelo es necesario conocer en detalle diversas circunstancias que van a decidir su asimilación por parte del vegetal, concretamente, formas en que se encuentra el elemento, como es captado por las plantas, transformaciones que ocurren en el suelo, etc.

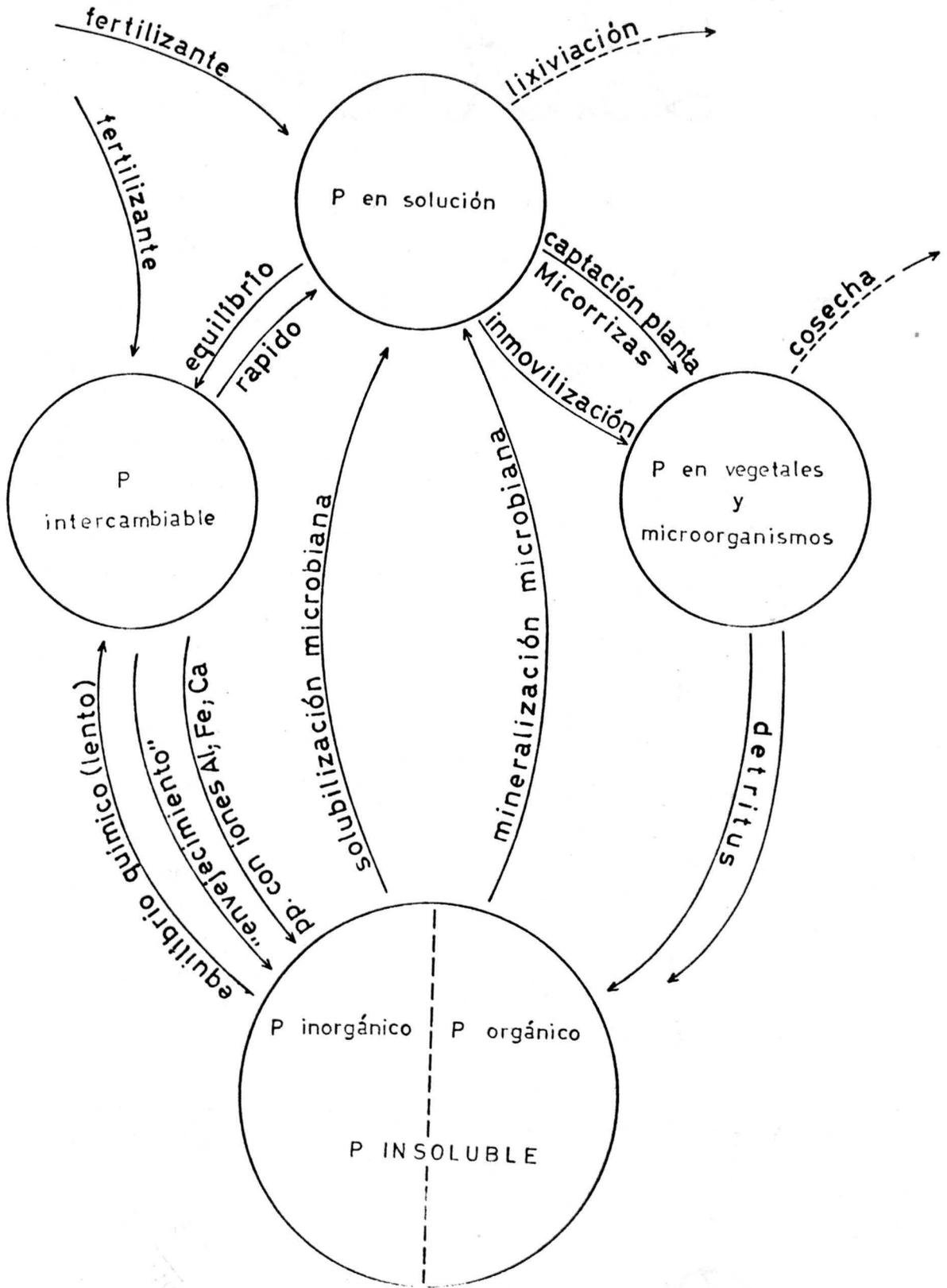
El "movimiento" del fósforo en el suelo se representa tradicionalmente como un ciclo. Lo más notable de este ciclo es que la mayor parte del fósforo en el suelo está "fuera de combate" y sólo un 1%, o menos, es incorporado a la vegetación en un período de cosecha. Con los cultivos agrícolas, el ciclo del fósforo es abierto debido a que se hace necesario reponer con fertilizantes al elemento extraído por las cosechas. En el caso de la vegetación natural el ciclo es virtualmente cerrado excepto para las pequeñas cantidades que provienen a través de las aguas de lluvia y de las muy pequeñas que se pierden por lixiviación. Esquemáticamente el ciclo del fósforo puede ser representado en la forma que recoge la Figura Nº 1.

En los suelos derivados de cenizas volcánicas el ciclo, en general, sigue las vías que se indican pero, se hace necesario destacar que, el material parental de estos suelos se ha visto continuamente modificado debido al intenso volcanismo de la zona. Las lluvias de cenizas, ricas en fósforo, han traído como consecuencia una alteración del sistema. En cuanto a los suelos cultivados, el aporte de fósforo como fertilizante es excesivo en relación con el fósforo consumido en las cosechas lo que ocasiona, como consecuencia, un desequilibrio muy marcado. Por otra parte, debido a que son suelos con elevados contenidos de materia orgánica pueden producirse pérdidas del fertilizante por lixiviación a capas más profundas del suelo (Munk, 1972; Besoain, comunicación personal).

Compuestos de fósforo en el suelo

Debido a que sólo el 1%, aproximadamente, del fósforo de un suelo se encuentra en los componentes vivos, es evidente que se requiere un conocimiento más profundo del otro 99%. La química del fósforo del suelo es bastante compleja y discutida en

FIGURA Nº 1.- Ciclo del fósforo



ciertos aspectos. Por ello, y para mayores detalles pueden consultarse algunas referencias especializadas (Larsen,1967; Brady,1974; Mattingly,1975; Ryden y Syers,1977; Dalal,1977; Parfitt,1978; Greenland y Hayes,1978). Aquí sólo se tratarán los hechos y principios básicos que se aceptan en su generalidad.

Considerada de manera simplista y desde el punto de vista de la nutrición vegetal, existen tres importantes fracciones del fósforo en los suelos (Mengel y Kirkby,1978). Estas son:

- 1-. P en la solución del suelo.
- 2-. P en el "pool" lábil.
- 3-. P en la fracción no-lábil.

La primera fracción está definida claramente como el ión fosfato "actualmente" en la solución del suelo. La segunda, es el fosfato que se mantiene moderadamente unido a superficies activas y que está en equilibrio con el fósforo de la solución. Esta puede determinarse por intercambio isotópico y se le llama fosfato "lábil". Usualmente también se denomina fosfato intercambiable, o "pool" lábil de fósforo al conjunto de las fracciones 1 y 2 (Hayman,1975). La tercera fracción es el fosfato insoluble tanto orgánico como inorgánico, y que sólo puede liberarse al "pool" lábil en forma muy lenta. Estas dos últimas fracciones comprenden entre el 95-99% del fósforo total del suelo. Por su importancia cuantitativa, comenzaremos a examinar la tercera fracción. Dentro de esta fracción se hará mayor énfasis en el conocimiento del fósforo orgánico por ser de fundamental importancia en esta Tesis Doctoral.

Fósforo inorgánico en la fracción no-lábil

El fósforo inorgánico insoluble en los suelos está mayoritariamente asociado a tres elementos metálicos de los cuales hierro y aluminio son los principales responsables en suelos ácidos y calcio en suelos neutros, neutro-alcalinos y débilmente ácidos. La cantidad en que están presentes se viene estimando desde hace años utilizando una técnica que consiste en extracciones sucesivas con un conjunto de reactivos (fraccionamiento de Chang y Jackson, 1957). Los compuestos extraídos, de acuerdo con estos autores, son los fosfatos de calcio, aluminio, hierro y fósforo ocluido, según el extractante. Recientemente, Walker y Syers (1976), han desarrollado otra técnica de extracción del fósforo inorgánico.

La mayor parte del fósforo inorgánico en la corteza terrestre es apatito (fosfato de roca) principalmente fluoroapatito de calcio, $3 \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{CaF}_2$. Con el tiempo, este mineral en el suelo se transforma en varios minerales secundarios, como el hidroxapatito, $3 \text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot \text{Ca}(\text{OH})_2$. Como productos de evolución de abonos se mencionan minerales secundarios como $\text{PO}_4\text{HCa} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ mezclado con fosfato tricálcico y $\text{PO}_4\text{H}_2\text{Ca}$ (Lindsay y Moreno, 1960). De otro lado, existe en el suelo una gran cantidad de compuestos insolubles de hierro y aluminio, entre ellos, fosfatos hidratados como strengita $\text{PO}_4\text{Fe} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, vivianita $(\text{PO}_4)_2\text{Fe}_3 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ y variscita $\text{PO}_4\text{Al} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. En suelos ácidos el fósforo es precipitado en la superficie de los óxidos de hierro y aluminio, por iones libres en solución o unidos a arcillas como caolinita, montmorillonita, alofana, etc. Aparte de los minerales mencionados, por ser más abundantes o conocidos, se han caracterizado en el suelo más de treinta formas de fosfatos (Giesecking, 1979).

La solubilidad de los minerales antes citados se conoce bien en sistemas suficientemente definidos; sin embargo, estos datos son de menos utilidad en el propio suelo debido a la naturaleza sumamente compleja del sistema. Muchos minerales fosfatados contienen impurezas que pueden influir considerablemente en su solubilidad; así por ejemplo, el hidroxapatito con carbonatos como impureza, tiene una solubilidad bastante mayor que el apatito solo (Larsen, 1967). Debido a ello, el papel que juegan los minerales fosforados en la nutrición vegetal es bastante más complejo del que a menudo se le supone y sus comportamientos en el sistema no son sencillos de predecir.

Fósforo orgánico en la fracción no-lábil

La cantidad del fósforo insoluble que está en forma orgánica varía ampliamente y en general constituye entre un 30 y un 85% del horizonte superficial, aunque existen tipos extremos de suelos en cuanto a su contenido de fósforo orgánico. Este es particularmente alto en suelos ácidos y generalmente se le relaciona con los elementos carbono y nitrógeno en proporciones de, aproximadamente, 110 partes de C, 9 partes de N y 1 parte de P (Dalal, 1977).

En general, la naturaleza química de al menos la mitad del fósforo orgánico en el suelo es aún desconocida (Anderson y Malcolm, 1974; Cosgrove, 1977; Kowalenko, 1978). Los compuestos que han sido identificados con mayor exactitud son los inositol fosfatos (fitatos), fosfolípidos y ácidos nucleicos (Anderson, 1967). Además de estos tres grupos, hay evidencias de que también están presentes en el suelo cantidades pequeñas de fosfoproteínas (Anderson, 1967; Dalal, 1977), azúcar fosfato (Omotoso y Wild, 1970; Steward y Tate, 1971; Anderson y Malcolm, 1974; Cheschire y Anderson, 1975)

y aunque no se han puesto en evidencia pero son componentes normales de plantas y microorganismos, vitaminas y ácidos teicoicos (Kowalenko, 1978).

Entre los compuestos fosforados orgánicos identificados hasta el momento, los que sin ninguna duda predominan en suelos son los inositol fosfatos, indicándose en algunos suelos cantidades superiores al 50% del fósforo orgánico total (Anderson, 1967; Anderson y Malcolm, 1974). Halstead y McKercher (1975) citan cantidades de 1 a 460 ppm lo que constituye entre 3 y 77% del fósforo orgánico; por su parte, Islam y Ahmed (1973), informan haber encontrado en un suelo 83% del fósforo orgánico como inositol fosfato. Entre los inositol fosfatos, se ha demostrado que los hexa y penta-fosfatos de inositol son las formas predominantes en la mayor parte de los suelos (Anderson, 1967).

Los inositol fosfatos existen en el suelo en formas muy complejas, probablemente unidos en un complejo que contiene carbohidratos y proteínas (Dalal, 1977) o bien ligados químicamente a moléculas mayores, a través de sus grupos fosfóricos (Anderson y Hance, 1963). Los resultados de los estudios sobre estos compuestos indican que son muy resistentes a la descomposición y su acumulación se ha atribuido a interacciones físico-químicas con los coloides del suelo, similares a aquellas responsables de la fijación de fosfato (Anderson et al., 1974). De esta forma se dificulta la acción microbiana y/o enzimática (Greaves y Webley, 1969).

Aunque los fosfolípidos ingresan al suelo en cantidades significativas a partir de restos de animales, vegetales y microorganismos (Cosgrove, 1977), el fósforo en la forma de fosfolípidos varía de un 0.5 a un 7% del fósforo orgánico total (Islam y Ahmed, 1973; Anderson y Malcolm, 1974; Halstead y McKercher, 1975; Islam y Mandal, 1977; Kowalenko, 1978; Chae y Lowe, 1980). El

que los niveles de P-lipídico sean bajos podría deberse a que estos compuestos al ingresar al suelo sean rápidamente degradados por los microorganismos o por las enzimas fosfatásicas del medio (Halstead y McKercher, 1975), pero la posibilidad que sean incorporados a formas más complejas difíciles de extraer no debe ser desestimada (Cosgrove, 1977).

Es posible que los fosfoglicéridos formen la fracción dominante entre los fosfolípidos estudiados (Dormaar, 1970), aunque existe poca información sobre las otras formas de P-lipídico en suelos (fosfoglicolípidos, esfingolípidos, etc.). Hay evidencias de que entre los fosfoglicéridos, la fosfatidil-colina es la forma predominante aislada (aprox. 40%) seguida por la fosfatidil-etanolamina (aprox. 30%); el resto, se encuentra en muy pequeñas cantidades (Kowalenko y McKercher, 1971). Sin embargo, Simoneaux y Caldwell (1968) encuentran en sus suelos un predominio de fosfatidil-etanolamina y fosfatidil-serina.

De otro lado, Kowalenko y Mc Kercher (1971) sugieren que una caracterización de los ácidos grasos que esterifican al glicerol en los fosfolípidos sería de gran utilidad a la hora de establecer su origen, debido a que los ácidos grasos provenientes de bacterias son generalmente saturados, ramificados o cíclicos; en cambio, los provenientes de restos vegetales tienden a ser no saturados (Chapman, 1969). El hecho de que los fosfolípidos constituyan la mayor parte del fósforo orgánico en el tejido vegetal (Bielisky, 1973) aunque sólo representan una pequeña parte del fósforo orgánico del suelo, indicaría que su síntesis y degradación pueden ser muy rápida en el suelo (Cosgrove, 1977; Kowalenko, 1978), pero esta posibilidad necesita ser estudiada con mayor profundidad.



Aunque originalmente se creía que una gran porción del fósforo orgánico se encontraba bajo la forma de ácidos nucleicos o compuestos afines (Anderson, 1967), estudios posteriores han puesto de manifiesto que en el suelo sólo se encuentran pequeñas cantidades de estos compuestos (Kowalenko, 1970; Anderson, 1970). En efecto, sólo una pequeña fracción del fósforo orgánico, no mayor al 3%, existe como ácidos nucleicos y derivados (Anderson y Malcolm, 1974; Dalal, 1977), a pesar de que estos fosfatos llegan al suelo en cantidades considerables a través de detritus microbianos, vegetales y animales. Como resultado de estudios indirectos se ha postulado que los ácidos nucleicos son degradados en el suelo e incorporados a la biomasa microbiana, o bien son resintetizados y combinados con otros constituyentes como arcillas (Goring y Bartholomew, 1952) y humus (Anderson, 1967 ; Dalal, 1977; Kowalenko, 1978). Estas circunstancias hacen difícil su extracción; sin embargo, a pesar de que la cantidad de ácidos nucleicos en suelos parece ser pequeña, su asociación con la biomasa sugiere un ciclado rápido y, al igual que los fosfolípidos, su aporte podría ser significativo a la nutrición fosforada de los vegetales.

Sin embargo, uno de los mayores problemas que se encuentran a la hora de estudiar la cantidad de fósforo orgánico que posee un suelo es la de utilizar un método analítico confiable, rápido y lo más exacto posible. Exceptuando el método de Anderson y Black (1965), que utiliza C activo, no existe un método directo para su cuantificación por lo que, generalmente, se determina indirectamente por diferencia entre el fósforo total y el fósforo inorgánico. Existen dos procedimientos indirectos, por ignición y por extracción.

En el procedimiento por ignición, el fósforo orgánico (Po) corresponde al incremento en el fósforo inorgánico (Pi) que puede extraerse posterior a una destrucción por ignición de los materiales orgánicos. En este tipo de métodos, la muestra se calienta a una temperatura lo suficientemente elevada para desprender el fósforo orgánico de las moléculas de las cuales forma parte. Todos estos métodos varían o en la temperatura de ignición, o bien, en el extrayente ácido utilizado. Así, se tiene el procedimiento de Legg y Black, a 250°C (1955); Saunders y Williams, a 550°C (1955), Walker-Adams (1958), y más recientemente, el llamado LTA (low temperature ashing) que utiliza oxígeno "excitado" y una temperatura de 160°C (Williams et al., 1970). Sin embargo, Dormaar y Webster (1963), postulan de que hay efectos negativos en ambas zonas de temperatura. Altas temperaturas incrementan la insolubilidad del fósforo inorgánico y favorecen la volatilización del fósforo liberado a partir de formas orgánicas; bajas temperaturas resultan en combustión incompleta y/o en alta capacidad de fijación por óxidos de Fe y Al. De otra parte, el procedimiento LTA, que aparecía más ventajoso debido a la menor temperatura de combustión, no produce oxidación completa de la materia orgánica y cambia la extractabilidad del fósforo inorgánico. Debido a estas razones, la estimación del fósforo orgánico por estos procedimientos se traduce en un error por exceso especialmente a altas temperaturas (Ipinmidum, 1973). Como consecuencia de lo anterior, la atención se ha centrado en la determinación del fósforo orgánico utilizando técnicas por extracción. Thomas y Robinson (1965), como fundamentación de estos métodos (Tinsley y Fisher, 1964),

En efecto, en los métodos por extracción, Po es la diferencia entre el fósforo total (Pt) y el Pi en un extracto de suelo, determinado antes y después de un proceso oxidativo de la materia orgánica del extracto. Generalmente, sólo una alícuota del extracto es destruída (por digestión con oxidantes enérgicos o por fusión con CO_3Na_2) para la determinación y así es posible obtener infor-

mación cuali y cuantitativa sobre la constitución del extracto, siendo más ventajosa, por tanto, que las técnicas por ignición. En términos cuantitativos, el extractante más efectivo para el fósforo orgánico del suelo, es aquél que remueve la máxima cantidad de Po con un mínimo efecto hidrolítico.

El NaOH es el agente extractante más efectivo para Po en suelos y generalmente la extracción es mayor cuando se remueven previamente cationes polivalentes (Jackman y Black, 1951; Black y Goring, 1953; Mehta et al., 1954; Saunders y Williams, 1955; Anderson, 1960; Bornemisza, 1967). Las principales diferencias entre esos métodos radican en los pretratamientos: mientras algunos utilizan pretratamientos con ácidos más bien concentrados (Mehta et al., 1954; Kaila y Virtanen, 1955; Kaila, 1962; Greb y Olsen, 1967), otros, los menos, usan ácidos diluidos (Saunders y Williams, 1954; Saunders, 1959). Existen otros métodos de extracción que tratan de evitar al máximo la hidrólisis de fosfatos lábiles (Anderson, 1960; Harrap, 1963; Dormaar y Webster, 1963).

Entre otros métodos de extracción que se han propuesto están la extracción con 8-hidroxi-quinoleína (Boswall y De Long, 1959), bicarbonato de sodio (Mac Lean, 1965), ácidos fluorhídrico y clorhídrico diluidos (0.1N) y resinas de intercambio (Bremner y Ho, 1962), acetyl acetona conjuntamente con dispersión ultrasónica (Halstead et al., 1966), resinas quelantes (Thomas y Bowman, 1966), ácido fluorhídrico y acetyl acetona (Tinsley y Walker, 1964), mezcla de HCl-HF-TiCl₄-cupferrón (Tinsley y Ozavasci, 1974), etc. Todos estos métodos no parecen tener ninguna ventaja suficientemente probada sobre la efectividad extractiva del NaOH pero logran evitar la hidrólisis de fosfatos orgánicos lábiles. Finalmente, Steward y Oades, (1972), describen un método de extracción con NaOH y ultrasonido, técnica muy atractiva por lo sencilla y capaz de adaptarse a ensayos de rutina y lo que es más importante, que parece minimizar los problemas hidrolíticos del Po por lo reducido del tiempo de extracción.

Fósforo en el "pool" lábil

La fracción de fósforo lábil está constituida, principalmente, por el fosfato adsorbido y/o precipitado sobre la superficie de los minerales de la arcilla, óxidos hidratados, carbonatos e incluso apatitos y fosfatos de hierro y aluminio (Mengel y Kirkby, 1978). Esta fracción se encuentra en equilibrio con el fosfato de la solución del suelo. La relación entre la cantidad de fosfato adsorbido y la concentración de fósforo en la solución se define por las isothermas tipo Langmuir. Estas isothermas son importantes en nutrición vegetal puesto que definen la movilidad del fósforo en el suelo (Mengel y Kirkby, 1978).

Siendo esta fracción del fósforo de especial importancia como fuente de fósforo utilizable, se hace necesario revisar el concepto de "fijación" de este elemento por parte de los suelos. Primeramente corresponde aclarar un tanto la terminología que se emplea en torno a la "fijación" del fosfato.

En el conjunto de procesos por los cuales el fosfato existente en solución desaparece de ella, para pasar a la fase sólida del suelo, ocurren dos fenómenos diferentes: por un lado, parte del fosfato es retenido por el suelo de manera tal que es posible su posterior extracción con ácidos diluidos. Este fósforo se considera disponible para las plantas, pues se encuentra en un equilibrio dinámico con el fosfato que permanece en la solución del suelo. A este proceso la mayoría de los autores lo denominan "retención" de fosfato. De otro lado, otra parte del fósforo en solución, o el mismo fósforo retenido en forma intercambiable, va siendo paulatinamente fijado por la fase sólida en forma no intercambiable, es decir, que a medida que estas formas "envejecen" van pasando lentamente del "pool" lábil al no-lábil. La unión, en este último caso, es más

enérgica y esta porción del fosfato no es extraíble con ácidos diluídos y por consiguiente no se considera disponible para las plantas.

A este proceso se le suele denominar "fijación" aunque el término es una exageración puesto que las reacciones del fósforo en el suelo no son totalmente irreversibles.

Otra distinción que debe hacerse es entre adsorción y precipitación. Estos dos términos designan a dos mecanismos distintos por el cual el fosfato es retenido o fijado. Llegado a este punto, se hace necesario aclarar que los términos retención, fijación e incluso adsorción, se emplearán como sinónimos para designar un único hecho: el paso de fosfatos presentes en la solución del suelo, a la fase sólida del mismo. Sin embargo, el uso indistinto de estos términos debe hacerse sin perder de vista la existencia de las diferencias anotadas.

La fijación del fósforo en suelos ácidos es causada principalmente por la formación de compuestos con hierro y aluminio que tienen la fórmula general $M(OH)_3(OH)_2H_2PO_4$, donde M es Fe o Al. Los minerales que contienen Fe y Al en los que se incluyen las arcillas son las fuentes de estos dos elementos. La formación de esos compuestos se gobierna por los principios del producto de solubilidad, efectos del ión común y salino, y según las condiciones bajo las cuales se forman, o precipitan o son adsorbidos a las superficies de los minerales de la arcilla y de los minerales en general.

Independientemente de que las reacciones involucradas sean de precipitación o de adsorción, los compuestos que se forman y los mecanismos de reacción parecen ser los mismos (Tinsdale y Nelson, 1975).

La extensión y características de la superficie de adsorción, más que la cantidad de fósforo adsorbido, son factores que controlan la concentración de P en la solución del suelo. Suelos con gran área de adsorción superficial por unidad de peso re-

quieren grandes cantidades de fosfatos con el objeto de saturar su capacidad de adsorción. Tal es el caso de suelos tropicales rojizos que se caracterizan por su alta capacidad adsorptiva (Rajan y Fox, 1975; Parfitt, 1977), al igual que los suelos con alto contenido de silicatos amorfos como son los Trumaos (Zunino et al., 1970; Schalscha, 1971). Concretamente, Bezama y Aomine (1978) encuentran valores de retención superiores a 500 mM/Kg en andosoles del sur de Chile.

El papel que cumple la materia orgánica en los suelos ácidos en lo referente a la fijación de fosfato no ha sido aún suficientemente aclarado. Sin embargo, las correlaciones significativas que se obtienen entre contenido de materia orgánica y adsorción de fósforo sugieren que parte de éste es adsorbido por los iones Fe y Al los que a su vez son quelados por grandes moléculas orgánicas como son los ácidos húmicos y fúlvicos (Parfitt, 1978). Se ha encontrado que, aunque el fosfato en esta forma se mantiene retenido fuertemente, parte de ese fósforo es isotópicamente intercambiable y disponible para las plantas (Parfitt, 1978).

Es de destacar que el equilibrio entre fosfato adsorbido y fósforo en solución está influenciado por varios factores, especialmente el pH del suelo, y se sabe que para la mayoría de los suelos minerales un intervalo de pH entre 6 y 7 es óptimo para el desplazamiento del fósforo a la solución (Hayman, 1975). Es evidente que la relación entre la cantidad de fosfato en los sitios de intercambio y en la solución del suelo expresa la capacidad de ese suelo de proveer P a las plantas; por ello, en suelos con baja capacidad de adsorción, la concentración en la solución del suelo decrecerá rápidamente, aunque hubiera sido alta originalmente, cuando las plantas crecen en ese suelo, mientras que no ocurrirá cambio substancial cuando existe un "pool" lábil de tamaño considerable.

Fósforo en la solución del suelo

Sólo una pequeña parte del "pool" lábil de fósforo está en la solución del suelo en un momento dado; así es posible encontrar concentraciones del orden de 10^{-7} M en suelos deficitarios en el elemento, aunque lo más generalizado es que las concentraciones de P soluble sean de alrededor de 10^{-6} M en suelos no fertilizados y del orden de 10^{-4} a 10^{-5} M en suelos que han recibido fertilizantes (Mengel y Kirkby, 1978). Cultivos exigentes en P absorben cantidades de este elemento de aproximadamente 1 Kg/ha/día lo que hace que la solución del suelo deba ser repuesta casi constantemente a lo largo del día por desorción del P adsorbido. De acuerdo a Olsen y Watanabe (1970), la concentración de P en la solución del suelo y la capacidad de tamponamiento para el fosfato del suelo, son los parámetros más importantes que controlan el aporte de este ión a las raíces.

La concentración óptima de P en la solución del suelo debe ser baja si la capacidad de tamponamiento del suelo es alta y viceversa. Esta relación fué confirmada recientemente por investigaciones llevadas a cabo por Holford (1976), quien calculó los requerimientos en P en relación a la concentración de fosfato en la solución del suelo y a la capacidad de tamponamiento del mismo.

La concentración de las formas del ión fosfato en la solución del suelo varía de acuerdo al pH del suelo. De acuerdo a ello, a pH 6, el 94% del fosfato presente está como ión H_2PO_4^- , a pH 7, el 61% es H_2PO_4^- . Entre pH 5 y 9, intervalo de pH de la mayor parte de suelos, las cantidades de PO_4H_3 no disociado y de PO_4^{-3} son insignificantes (Hayman, 1975).

En términos generales se puede decir que los aportes de P a la solución del suelo pueden provenir de tres

fuentes: a) De los fertilizantes fosforados, los cuales pueden provocar un aumento momentáneo en la concentración de P hasta llegar a 10^{-4} ó 10^{-5} M y es el aporte más significativo al sistema; b) aporte procedente del propio "pool" lábil, por desorción de fosfatos y, finalmente, c) solubilización química y/o microbiológica, y mineralización microbiológica de los fosfatos inorgánicos y orgánicos, respectivamente. A su vez, la disminución de P en la solución del suelo es influenciada por la captación de este elemento por parte de los vegetales y la inmovilización llevada a cabo por los microorganismos. Primeramente nos referiremos a como ocurre la captación de P por parte de la planta para, posteriormente, analizar el papel que juegan los microbios en relación con la adecuación de P para un correcto crecimiento vegetal.

Captación de fósforo por los vegetales

Se acepta universalmente que la mayor fuente de P que utilizan los vegetales es el ión fosfato presente en la solución del suelo. Cantidades pequeñas pero variables de fósforo orgánico también se encuentran en solución (Wild y Oke, 1966), pero si la planta lo absorbe como tal, o lo mineraliza previamente, es una cuestión que necesita mayor estudio aunque algo se ha avanzado a este respecto (Mengel y Kirkby, 1978).

La captación del fosfato por las plantas es dependiente del pH. Se dice, y cada vez hay más evidencia de ello, que es bajo la forma del ión $H_2PO_4^-$ como se produce la absorción activa del P por el sistema radicular (Hau y Laudelout, 1966). De otra parte, $H_2PO_4^-$ es la forma de fosfato dominante en el intervalo de pH (aprox. 6.5) en el cual la fijación de fosfato es mínima (Brady, 1974).

La concentración normal del P en la solución del suelo (aprox. 10^{-6} M) está cerca del límite en el cual las plantas pueden absorber este elemento en forma adecuada aunque la capacidad de captación difiere entre las plantas y aún puede diferir entre cultivares de la misma especie (Barber y Thomas, 1972). Teniendo en cuenta que la concentración del P en el interior de la planta es usualmente 1000 veces mayor que en el exterior, es evidente que se necesita mucha energía para que ocurra la absorción con tal gradiente de concentración.

Una cosecha media capta 10 o más Kg P/ha por año y como, en un momento dado, la cantidad de P en la solución del suelo alrededor de las raíces es del orden de 0.04 Kg/ha, se requiere que el P en solución sea casi constantemente repuesto a lo largo de una cosecha (Hayman, 1975). Se sabe que el factor más fundamental que afecta la captación de fosfato por los vegetales es la velocidad a la cual se mantiene una concentración adecuada de fosfato en solución a nivel radicular. En los suelos normales esto es muy difícil de lograr puesto que, aunque la desorción del P lábil a la solución del suelo es muy rápida, las raíces están en contacto con una cantidad relativamente pequeña de suelo. Esto hace que haya un agotamiento del fosfato cerca de la superficie radicular, la concentración del ión descienda en esa zona por lo que lógicamente, el equilibrio tiende a reestablecerse mediante la difusión de P soluble procedente del resto del suelo (Bielisky, 1973). Sin embargo, el fosfato es un ión poco móvil y su velocidad de difusión es más lenta que la de su captación por las raíces (Bhat y Nye, 1973). Se produce entonces alrededor de las raíces una zona de agotamiento de 1-2mm de ancho, puesta en evidencia mediante autorradiografía (Bhat y Nye, 1973) y que coincide con la rizosfera, región donde los microorganismos son particularmente activos (Hayman, 1975).

La adición de fertilizante fosforado al suelo rompe ese equilibrio y mantiene altas concentraciones de fósforo soluble cerca de la raíz por períodos relativamente largos, dependiendo de la capacidad de fijación de P de ese suelo. Sin embargo, solamente entre el 10 y 25% del fertilizante es captado por la cosecha en su año de aplicación (Hayman, 1975; Mengel y Kirkby, 1978). El resto, permanece como fosfato "residual" para próximas cosechas, dependiendo de la intensidad de su fijación.

Participación de los microbios en las transformaciones del fósforo

Por las razones anteriormente citadas, los factores que afectan la solubilidad del fósforo del suelo son de gran trascendencia en el crecimiento de las plantas siendo, en este sentido, de fundamental importancia la actividad de los microorganismos ya que éstos desarrollan acciones mediante las cuales:

- a) alteran la solubilidad de los compuestos inorgánicos de fósforo,
- b) mineralizan compuestos orgánicos liberando fósforo inorgánico,
- c) Utilizan el fósforo inorgánico disponible para confeccionar sus propios componentes celulares, y
- d) Provocan fenómenos de oxidación o reducción de compuestos inorgánicos fosforados.

Particularmente importante en el ciclo del fósforo en la naturaleza son las reacciones de solubilización, mineralización y de inmovilización.



Solubilización de fosfatos inorgánicos

Muchos de los microorganismos más comunes del suelo, tanto bacterias como hongos (Pseudomonas, Mycobacterium, Micrococcus, Bacillus, Flavobacterium, Streptomyces, Penicillium, Sclerotium, Fusarium, Aspergillus y otros), son capaces de disolver "in vitro" fosfatos insolubles del tipo de los que normalmente se encuentran en el suelo (Alexander, 1977). Una alta proporción, hasta el 85% en algunos suelos, de la población microbiana total tiene esta habilidad, aunque muchos la pierden en el subcultivo (Hayman, 1975).

Normalmente en la rizosfera existe una mayor proporción de estos microorganismos; así por ejemplo, Swaby y Sperber (1959) encontraron en un estudio concreto que, entre el 20 y 40% de la población microbiana rizosférica de muchos cultivos tenían la habilidad de disolver hidroxapatito "in vitro" comparado con el 10 al 15% de los suelos no-rizosféricos. La solubilización de fosfatos por bacterias se ha estudiado extensamente (Tardieux-Roche, 1966; Ramos et al., 1966; Stevenson, 1967; Barea et al., 1970; Louw, 1970; Ramos et al., 1972; Barea et al., 1975). Sin embargo, mucho menos atención se ha dedicado al efecto de los hongos en tal sentido. Se ha descrito la acción de hongos sobre fosfato tricálcico (Chhonkar y Subba-Rao, 1967; Ramos et al., 1968; Agnihotri, 1970), hidroxapatito y fluoroapatito (Agnihotri, 1970), determinando que las cepas más activas son Aspergillus y Penicillium.

Es importante tener en cuenta que, desde el punto de vista de la nutrición vegetal, la solubilización debe ocurrir dentro de la rizosfera puesto que más allá tendría poco efecto debido, fundamentalmente, a dos tipos de razones: a) la lenta difusión del fosfato en el suelo y b) la falta de sustratos fuera de la zona rizosférica. En efecto, los exudados radiculares y detritus vegetales proveen el sustrato energético para soportar la intensa actividad

microbiológica característica de la rizosfera y para llevar a cabo la solubilización de fosfatos. La actividad de los microorganismos solubilizadores fuera de la zona rizosférica adquiere especial importancia cuando las plantas son susceptibles de ser micorrizadas, como se verá más adelante.

Se conoce desde hace tiempo que existen cierto tipo de suelos en los que, en opinión de Swaby y Sperber (1959), es más factible que ocurra la solubilización microbiana y concretamente, esos autores demostraron que ese efecto fué mayor sobre el fosfato de roca agregado o sobre el fosfato residual adsorbido que sobre el P nativo insoluble que poseían esos suelos. No obstante, Tinker y Sanders (1975), al discutir el papel que juegan los microorganismos en la nutrición vegetal, en especial la nutrición fosforada, son escépticos en lo relativo al posible beneficio por parte de la planta de cualquier solubilización de fosfatos inorgánicos u orgánicos por bacterias fuera de la rizosfera. Sin embargo, Mengel y Kirkby (1978) señalan que el significado que tienen los microorganismos solubilizadores en la captación de P y su utilidad como promotores del crecimiento vegetal, es difícil de evaluar y requiere aún una mayor investigación.

Se hace necesario destacar en este punto, la práctica de la inoculación de plantas con bacterias solubilizadoras de fosfatos con el propósito de obtener incrementos de cosecha en campo. En la década del 50, en la Unión Soviética se utilizaron intensamente los denominados fertilizantes bacterianos, del tipo "fosfobacterias" (Cooper, 1959), con resultados que, para ciertos observadores, no fueron lo suficientemente significativos (Smith, 1961). Sobre estos efectos de los inoculantes, Brown (1972; 1974) y Barea et al., (1975; 1977), postulan que los incrementos logrados se deben más bien a una estimulación radicular por sustancias reguladoras del crecimiento liberadas por los microorganismos que a un efecto directo de solubilización. Hay que añadir que, aparte de los problemas gene-

rales que limitan la efectividad de la solubilización y mineralización de fosfatos por microorganismos de vida libre, problemas que derivan de la falta de sustratos orgánicos metabolizables y de la dificultad para el transporte hacia la rizosfera del ión fosfato que haya podido ser liberado en microhabitats definidos, existe otro problema inherente a la inoculación. Esta dificultad adicional estriba en que los microorganismos masivamente introducidos en la rizosfera se ven sometidos a fenómenos de antagonismo ecológico por parte de otros microorganismos del suelo (Stotzky, 1972; Ocampo, 1976), tales como el amensalismo por antibiosis o lisis, la predación y parasitismo por *Bdellovibrio* o bacteriófagos, etc. cuya actuación frente a fosfobacterias ha sido puesta en evidencia experimentalmente (Ocampo et al., 1977).

La literatura científica en relación con los mecanismos desarrollados por los microorganismos de vida libre es enormemente amplia (Barea et al., 1981). La complejación es tal vez el mecanismo más importante de solubilización de fosfatos, tanto orgánicos como inorgánicos, llevados a cabo por los microorganismos del suelo. Bacterias y hongos pueden disolver fosfatos insolubles "in vitro" en cantidades superiores a sus demandas nutricionales (Alexander, 1977) al segregar al medio ácidos orgánicos, producto de su metabolismo (Stevenson, 1967). Entre los ácidos orgánicos que complejan fuertemente al calcio, hierro y aluminio se encuentran el láctico, glicólico, cítrico, málico, maleico, cetoglucónico, ácidos hidroxámicos y otros (Stevenson, 1967). Hidroxi-ácidos y ceto-ácidos forman complejos muy estables con estos cationes liberando iones fosfato al medio. Ultimamente, Moghimi et al., (1979), han descartado de hecho que la complejación del calcio con el ácido 2-cetoglucónico sea significativa, como dedujeron de los cálculos de la constante de estabilidad de este complejo. De otra parte, sustancias húmicas y fúlvicas producidas por degradación microbiana de restos vegetales pueden complejar al calcio, hierro y aluminio (Sinha, 1972), liberando fosfato.

Schnitzer y Hansen (1970), han determinado las constantes de estabilidad de los complejos formados por ácidos fúlvicos (FA) con los cationes anteriormente señalados, encontrando que la estabilidad es $FA-Fe > FA-Al > FA-Ca$ (Schnitzer y Khan, 1978). Un tercer mecanismo de disolución es la liberación al medio de sustancias que disminuyen el pH como son algunos de los ácidos orgánicos mencionados que tengan pK_a pequeños, como el cítrico y oxálico e inclusive el carbónico producido por respiración microbiana. La formación de ácidos nítrico y sulfúrico llevada a cabo por microorganismos quimioautotróficos que son capaces de oxidar amonio a nitrato y azufre a sulfato en suelos ácidos, produce también disolución de fosfatos. La acción del ácido sulfúrico producido por bacterias pertenecientes al género Thiobacillus sobre la solubilización de fosfato de roca "in situ" se ha investigado extensamente en Australia por Swaby (1975), y es la base de la formulación del fertilizante "biosuper", ("pellets" que contienen 5 partes de fosfato de roca, 1 parte de azufre e inóculo de Thiobacillus 0.1%) que se utiliza, con relativo éxito en algunas zonas agrícolas de Australia (Cosgrove, 1977).

Finalmente, se hace necesario destacar que, en determinadas circunstancias, puede sumarse a los mecanismos anteriormente señalados un cuarto, basado en que, en ciertas condiciones de anaerobiosis, puede liberarse H_2S al medio con la consiguiente formación de SFe , muy insoluble, y la liberación consecuente de fosfato. Esto último puede explicar la mayor disponibilidad de P observada en suelos encharcados donde se cultiva arroz (Sperber, 1957; Patrick et al., 1973; Hayman, 1975).

Mineralización del fósforo orgánico

Aunque en la actualidad no está totalmente dilucidado si algunas formas de P orgánico deben ser mineralizadas antes de su absorción por la planta, de hecho, en general, así se considera (Barlett y Lewis, 1973; Appiah y Thompson, 1974; Cosgrove, 1977). La existencia en el suelo de un gran reservorio de este tipo de P que la planta no puede utilizar, da énfasis al papel que los microorganismos pueden realizar mediante acciones conducentes a transformar fosfatos orgánicos en inorgánicos disponibles para el crecimiento.

La velocidad de mineralización generalmente es más rápida en suelos vírgenes que sus homólogos cultivados (Alexander, 1977) y se ve favorecida por la temperatura y valores de pH cercanos a la neutralidad, condiciones bajo las cuales el metabolismo microbiano es más intenso. De otro lado, parece ser que la velocidad de mineralización correlaciona directamente con la cantidad de P orgánico (Alexander, 1977) y no es inhibida por el P inorgánico aunque éste se encuentre en el suelo en concentraciones adecuadas (Dauhtrey et al., 1973). Es más, existe una estrecha correlación entre la mineralización del C y la del P en relación aproximada de 100 a 300:1, indicando que la relación del C:N:P mineralizado por microbios, en condiciones de equilibrio, es similar a la relación de los tres elementos en el humus (Alexander, 1977).

Las enzimas que liberan P a partir de compuestos fosforados orgánicos se llaman colectivamente "fosfatasas" y este nombre genérico se utiliza para describir un amplio grupo de enzimas que catalizan la hidrólisis de ésteres y anhídridos de ácido fosfórico (Feder, 1973; Speir y Ross, 1978). Según la I.U.B. estas enzimas se clasifican en 5 grupos principales (Eivasi y Tabatabai, 1977) siendo en suelos las más importantes: a) hidrolasa monoéster fosfórica (fosfomonohidrolasa) EC 3.1.3. y b) hidrolasa diéster fosfórica

EC 3.1.4. Entre las fosfomonohidrolasas, la fosfatasa ácida (EC 3.1.3.2) ha sido más estudiada en suelos que la fosfatasa alcalina (EC 3.1.3.1.), predominando una u otra según sea el pH del suelo en referencia. Al grupo de las fosfomonohidrolasas pertenece la fitasa, que cataliza la hidrólisis de los 6 grupos fosfato del inositol-hexafosfato; nucleotidasas, azúcar-fosfatasas y glicerofosfatasas, cuyas funciones catalíticas son obvias. Al grupo de la hidrolasa diéster fosfórica pertenecen las nucleasas, que catalizan la hidrólisis de ADN y ARN, y las fosfolipasas, que catalizan la hidrólisis de fosfolípidos (Speir y Ross, 1978).

Muchos microorganismos comunes del suelo poseen la habilidad de mineralizar formas orgánicas de P como las existentes en suelos, incluyendo las especies Bacillus, Proteus, Serratia, Arthrobacter, Streptomyces, Aspergillus, Penicillium, Rhizopus y otros (Casida, 1959; Greaves y Webley, 1965; Greaves y Wilson, 1970; Cosgrove et al., 1970; Barea et al., 1970; Ko y Hora, 1970; Antheunisse, 1972; Jayaram y Prasad, 1972). Un alto porcentaje de la población microbiana del suelo tiene tal habilidad, con valores promedio del orden del 50% (Greaves y Webley, 1967).

Aunque muchos microorganismos muestran actividad fitásica "in vitro", la mayor parte del fitato en el suelo no está en solución, sino unido a los sesquióxidos de Fe y Al o adsorbido fuertemente a los minerales de la arcilla (Greaves y Webley, 1969), donde no es accesible al ataque enzimático. Consecuentemente, el fitato se acumula en el suelo en cantidades relativamente muy superiores con respecto al que llega al suelo en restos vegetales (Hayman, 1975). Parece ser que los ácidos nucleicos y los fosfolípidos son hidrolizados rápidamente por las enzimas respectivas (Hayman, 1975), siendo retenidos en menor proporción por los coloides inorgánicos del suelo. Como sugiere Martin (1973), el factor dominante que controla la mineralización de fosfatos orgánicos en suelos es probablemente su presencia en la solución del suelo.

La producción de enzimas fosfatásicas por las raíces (Woolhouse, 1969) y microorganismos de la rizosfera es un hecho conocido (Hayman, 1975). Sin embargo, el papel que desempeñan estas enzimas en el ecosistema suelo, es una materia de especulación (Thompson y Black, 1970; Appiah y Thompson, 1974). Se sabe que la incubación de suelos trae consigo la mineralización de fosfato orgánico nativo (Abedayo, 1973) y la adición de una fuente energética rápidamente asimilable incrementa la velocidad de mineralización (Halm, 1971) indicando que la proliferación microbiana es, al menos, responsable del efecto. Como conclusión se puede decir que, la impresión general basada en la extensa literatura al respecto es que la mineralización microbiana del fosfato orgánico en el suelo, particularmente de ciertos compuestos, ocurre ampliamente (Hayman, 1975) pero, que la liberación de fosfato soluble más allá de los propios requerimientos de los microorganismos probablemente contribuye limitadamente a la nutrición fosforada de las plantas.

Inmovilización de fósforo

El crecimiento microbiano requiere la presencia de formas disponibles de P y puesto que el elemento es esencial para la síntesis celular, el desarrollo de la microflora está gobernado por la cantidad de compuestos fosforados utilizables en el habitat (Alexander, 1977). La asimilación del P y su inclusión en estructuras microbianas (Barber, 1966; 1968) como ácidos nucleicos, fosfolípidos y otras substancias protoplasmáticas conduce a la acumulación de formas no utilizables de este elemento. El P inmovilizado se incorpora al "pool" de fosfatos orgánicos una vez que el microorganismo muere. Estos fosfatos orgánicos, o son hidrolizados por las enzimas fosfatásicas del medio o bien, son estabilizados a través de reacciones con los componentes húmicos presentes en el suelo.

Los estudios llevados a cabo sobre la composición mineral de hongos y bacterias, indican que éstas acumulan mayor cantidad de P (1.5-2.5% de su peso seco) que los hongos (0.5-1%) o las plantas (0.05-0.5%) (Hayman,1975; Alexander,1977; Kowalenko,1978).

Es evidente que los microorganismos del suelo compiten con las raíces por el P soluble del "pool" lábil. En general, en suelos de cultivo normal Sauchelli (1966), estima que la inmovilización bacteriana es del orden de 4 a 10 Kg P/ha. Si a esto agregamos la inmovilización por hongos parecería que los microorganismos remueven tanto P/ha como toda la cosecha (Halm et al.,1972).

La adición al suelo de materiales orgánicos que poseen una alta relación C/P conduce a un aumento de la actividad microbiana y por lo tanto a una mayor demanda por fosfato lo que se traduce, en última instancia, en la formación de P orgánico a expensas del inorgánico. Así, se ha demostrado la inmovilización de fosfato inorgánico al añadir glucosa al suelo como fuente energética; según Alexander (1977), la inmovilización sería del orden de 0.37 partes de P por cada 100 partes de glucosa metabolizada.

La relación C orgánico:P orgánico en suelos y en residuos vegetales agregados al mismo, se ha utilizado para predecir la inmovilización neta y mineralización del P (Tisdale y Nelson,1975; Alexander,1977). En este sentido se ha sugerido que si esta relación es 200:1 ó menor, ocurre la mineralización y si la relación es de 300:1 o más, ocurre la inmovilización. Así, el nivel crítico de P en el material orgánico que regula la inmovilización o mineralización es de aproximadamente el 0.2% (Alexander,1977). Sin embargo, Enwezor (1967) observó que esta relación no era confiable para predecir el fenómeno que se produce; en efecto, ambos procesos ocurren simultáneamente en los suelos y la diferencia neta entre ellos sólo es posible determinarla en un momento dado (Dalal,1977).

M I C O R R I Z A S

Dada la trascendencia que tienen las micorrizas en la captación del P en suelos deficientes y su papel en el ciclo de este elemento, conjuntamente con su potencialidad en la recuperación de suelos marginales, hace de imperiosa necesidad el profundizar un poco más en ellas en este capítulo de Introducción.

Se denominan micorrizas a unas asociaciones simbióticas mutualísticas entre ciertos hongos del suelo y las raíces de plantas superiores. En general, la planta suministra al hongo fuentes de carbono producto de la fotosíntesis, así como un nicho ecológico protegido de los fenómenos de antagonismo entre microbios, típico de la rizosfera. Por su parte, el hongo ayuda a la planta a absorber sus nutrientes minerales desde el suelo (Nicolson, 1967; Gerdemann, 1968; Harley, 1972).

Las micorrizas se han clasificado siguiendo criterios estructurales y morfológicos, en dos grandes grupos: micorrizas ectotróficas y micorrizas endotróficas. En las primeras, el hongo, normalmente de micelio tabicado, forma un manto de hifas que rodea la raíz. El desarrollo del hongo en el interior de la corteza es intercelular, dando aspecto de red (red de Hartig). En las endotróficas, en cambio, el hongo no forma manto sobre la raíz, pero las hifas penetran en el interior de las células de la corteza. No obstante, actualmente se sabe que los hongos formadores de endomicorrizas están muy distanciados taxonómica y fisiológicamente, por lo que ha sido necesario modificar esta clasificación y subdividir a las antiguas endotróficas en varios grupos.

En la Figura Nº 2 se presentan los tipos de micorrizas actualmente aceptados tal como los expone Azcón-G. de Aguilar (1980) de acuerdo con Smith (1974) y Lewis (1975).

FIGURA 2
TIPOS DE MICORRIZAS

DENOMINACION CLASICA	DENOMINACION ACTUAL	CARACTERISTICAS	PLANTA HUESPED	HONGOS QUE LA FORMAN
Ectotróficas	Formadoras de "manto" (sheating)	<ul style="list-style-type: none"> * Forman "manto" que cubre la raíz * Hifas sólo intercelulares que forman la red de Hartig * Hongo de micelio septado 	<ul style="list-style-type: none"> Betulaceae Fagaceae Pinaceae Eucaliptus 	Agaricaceae Boletaceae y otros.
	Vesículo-arbusculares (VA)	<ul style="list-style-type: none"> * Desarrollo mayoritario del hongo dentro de la raíz. * Hifas externas no formadoras de manto * Micelio no septado, salvo en hifas viejas * Hifas inter e intracelulares: las intercelulares no forman red de Hartig, las intracelulares forman arbuscúlos y vesículas. 	<ul style="list-style-type: none"> Se han encontrado en la mayoría de las plantas que viven sobre la corteza terrestre. 	Ficomicetos microscópicos pertenecientes a la Familia Endogonaceae.
Endotróficas	Ericaceas	<ul style="list-style-type: none"> * Rudimento de manto * Hifas inter e intracelulares: las intracelulares forman masas compactas que pueden ser lisadas o digeridas. * No se forman vesículas ni arbuscúlos 	<ul style="list-style-type: none"> Ericaceae Epacridaceae Empetraceae 	Ascomicetos
(Ectendotróficas)	Arbutoides	<ul style="list-style-type: none"> * Forman manto * Hifas intra e intercelulares: las intercelulares no forman red de Hartig 	<ul style="list-style-type: none"> Ericaceae Pyrolaceae Monotropaceae 	<ul style="list-style-type: none"> Arbutus Arctostaphylos Boletus
	Orquidaceas	<ul style="list-style-type: none"> * La planta huésped tiene un periodo de su ciclo de vida heterótrofo durante el cual, para sobrevivir, necesita ser infectada por un hongo micorrízico. * La infección del huésped por el hongo puede evolucionar a micorriza o parasitismo 	Orchidaceae	Basidiomicetos

Las ectomicorrizas o micorrizas formadoras de manto están asociadas con las raíces de muchas especies arbóreas, en las que ocasionan cambios morfológicos en la raíz al producirse la infección. Estas, pueden incrementar su capacidad de adsorción de P al explorar más suelo por medio de las hifas que se extienden más allá de la zona de agotamiento radicular, ramificándose en el humus rico en P e incrementando su contacto con el "pool" lábil. Harley y McCready (1952) demostraron que el manto fúngico tenía una mayor avididad por fosfato que las raíces de las plantas huéspedadoras, pudiendo ser una gran ventaja en la competencia con los microorganismos del suelo. De esta forma, el manto puede acumular P que es posteriormente liberado al huésped en condiciones de deficiencia de este elemento. De otro lado, se ha demostrado que este tipo de micorrizas producen fosfatasas extracelulares (Theodorou, 1968; Bartlett y Lewis, 1973; Williamson y Alexander, 1975) que pueden ser importantes a la hora de reciclar el P proveniente de restos vegetales (Mosse, 1978).

Es un hecho evidente que las micorrizas más extendidas, son las de tipo vesículo-arbuscular (VA). Esta asociación simbiótica es posible encontrarla en todos los climas y la forman la mayoría de las plantas de interés agrícola e industrial (Sanders y Hayman, 1977; Hayman, 1979).

Ubicuidad de las micorrizas VA

El estudio de las micorrizas se inició a finales del siglo pasado, aunque no se les prestó especial interés puesto que se pensaba era un tipo de asociación poco extendida; sin embargo, estudios posteriores han demostrado que las micorrizas VA están enormemente difundidas, tanto es así, que es muy difícil encontrar plantas que no estén infectadas por este hongo. El hecho de que no se les prestara demasiada atención se debe, fundamentalmente, a dos razones (Hayman, 1980). En primer lugar, a que como el hongo responsable

no crece en los medios de cultivo normalmente utilizados en recuentos de microorganismos del suelo, su presencia venía siendo ignorada. De otro lado, la micorriza VA es una asociación tan bien equilibrada que no induce cambios morfológicos apreciables en la raíz infectada, por lo que ni se llega a sospechar su existencia cuando la mayoría de las raíces están normalmente "infectadas" en condiciones naturales. En los últimos 15 a 20 años, y ante la trascendencia de esta simbiosis en nutrición vegetal, es cuando se está realizando una investigación cada vez más intensa sobre el tema.

Las micorrizas VA se han descrito en todos los continentes excepto en la Antártida (Tinker, 1975). Se han encontrado en Briofitas, Pteridofitas, Gimnospermas y Angiospermas (Gerdemann, 1975) y mientras que sólo un 3% aproximadamente de las fanerógamas tienen micorrizas "formadoras de manto" (Meyer, 1973), la mayor parte de las especies restantes poseen micorrizas VA.

De acuerdo con Gerdemann (1975), las familias en las que no se han encontrado micorrizas VA son las siguientes:

- a) Pinaceae, Betulaceae y Fagaceae (forman micorrizas de manto);
- b) Orchidaceae y Ericaceae (forman tipos específicos de micorrizas);
- c) ciertas familias que se han descrito como "no micorrizables" tales como Chenopodiaceae, Cruciferae, Fumariaceae, Cyperaceae, Commelinaceae, Urticaceae y Poligonaceae (Hirrel et al., 1978). No obstante, algunas especies de estas familias han sido descritas recientemente como micorrizables (Gerdemann, 1975). Podría darse el caso de que las plantas que supuestamente no forman micorrizas puedan hacerlo en otras condiciones de cultivo.

Existen también ciertos tipos de plantas que poseen tanto micorrizas "formadoras de manto" como micorrizas VA (Gerdemann, 1968; Redhead, 1968; Grand, 1969).

Taxonomía

Si bien los estudios sobre la taxonomía de las Endogonáceas comenzaron en el siglo pasado, no es hasta 1922 en que Thaxter describe una clasificación que es la base de las clasificaciones actuales. Hasta la revisión de Mosse (1973) se aceptaba que los endofitos VA pertenecían en su mayoría al género Endogone, y de acuerdo con la clasificación de Thaxter (1922), todas las especies de Endogone formaban esporocarpos.

De gran interés práctico es la clave de identificación propuesta por Mosse y Bowen (1968) basada en la estructura citoplasmática, color, forma, tamaño de la espora, tipo de hifa sustentadora y formas de germinación. Todos estos tipos de esporas se incluyen en el género Endogone. Algunos de estos tipos difieren sólo en características poco importantes, y otros, en aspectos fundamentales. De ello se deduce que en unos casos se trata de esporas pertenecientes a géneros diferentes, en otros a especies, y finalmente, ciertos tipos son variedades o estirpes de una misma especie. De las esporas descritas por Mosse y Bowen las más comunes son, de acuerdo a Ocampo (1980):

"" a) Con citoplasma vacuolado, que en esporas viejas es opaco o granular. Paredes internas gruesas:

- 1-. Espora laminada marrón-rojizo (Red-brown laminate), tiene forma esférica y la hifa sustentadora es simple.
- 2-. Espora de vacuolas amarillas (Yellow vacuolate), tiene color amarillo-crema pálido, forma de pera y la hifa sustentadora está cerrada por un tapón basal.

b) Con citoplasma reticulado, cuyo contenido es cristalino. Poseen dos capas:

- 3-. Espora bulbo-reticulada (Bulbous reticulate), el color es crema amarillo verdoso, su forma es redonda-ovoidal y la hifa sustentadora es bulbosa.

- 4-. Espora sésil color miel (Honey coloured sesile), tiene color naranja amarillento, forma esférica. La espora forma un crecimiento lateral externo a partir de la hifa hinchada de otra espora de vida corta, cuyo contenido emigra rápidamente a la espora principal.
- 5-. Espora blanca reticulada (White reticulate), tiene color blanco, forma esférica y su hifa sustentadora es simple.""

En vista del descubrimiento de esporas de resistencia ectocárpicas, unidas al micelio externo de raíces micorrizadas, se vió la necesidad de revisar la taxonomía de estos hongos para identificarlos con mayor exactitud. En este sentido Gerdemann y Trappe (1974) llevan a cabo profundos estudios y encuadran a los hongos VA en la familia Endogonaceae de los Mucorales (ficomicetos), agrupados en cuatro géneros: Glomus, Sclerocystis, Gigaspora y Acaulospora, ninguno de los cuales ha podido aislarse en cultivo puro. A esta clasificación se le adicionan las nuevas especies que se van describiendo (Hall, 1977; Nicolson y Schenk, 1979; Daniels y Trappe, 1979). Actualmente es común en la bibliografía que se utilicen las reglas de Mosse y Bowen (1968) para identificar tipos generales de esporas y las de Gerdemann-Trappe (1974) cuando se requiere una mayor exactitud taxonómica.

Mecanismos de infección

Al no poseer "manto" de micelio externo el reconocimiento de las micorrizas VA no puede efectuarse "de visu", pero es fácil su observación utilizando una técnica sencilla de clarificación y tinción como la descrita por Phillips y Hayman (1970), seguido de su posterior estudio morfológico, mediante examen microscópico.

La infección se provoca, a partir del micelio originado en raíces de plantas precedentes o por germinación de esporas (Tinker, 1975a; Powell, 1976). Las clamidosporas, que resisten condiciones adversas en el suelo, tales como el calor y la sequía, germinan cuando las circunstancias son favorables, siendo el primer signo visible de germinación la aparición de un tubo germinal. Estos tubos de germinación mueren a no ser que encuentren, y penetren con éxito, en una raíz huésped (Sanders y Hayman, 1977), aunque la espora, en caso de no infección, no pierde en viabilidad (Mosse, 1980). La hifa invasora forma un apresorio a partir del cual penetra en el interior de la raíz, se ramifica intercelularmente, de forma rápida, sin invadir endodermis, eje ni meristemas.

A los pocos días de iniciada la infección se desarrollan los "arbúsculos" mediante ramificación dicotómica repetida de hifas intracelulares, hasta la formación de hifas de menos de 0.2 μ m de diámetro (Tinker, 1975a). Los arbúsculos tienen una vida de aproximadamente 4 a 10 días (Bowen et al., 1975; Cox y Tinker, 1976) ya que son digeridos rápidamente y su contenido es absorbido por el huésped. Las vesículas, que son estructuras ovoides que contienen material lipídico se forman posteriormente a los arbúsculos. Estas son verdaderos órganos de reserva, y en algunos casos, su gruesa pared las asemeja a clamidosporas y se forman intra o intercelularmente y tanto fuera como dentro de la raíz (Gerdemann, 1968; 1975; Nicolson, 1967).

Cuando la infección se va desarrollando, en el interior de la corteza ocurre un crecimiento exterior de las hifas, estableciéndose nuevos puntos de entrada y originándose una tupida red de hifas externas que se extienden por el suelo varios centímetros (Rhodes y Gerdemann, 1975). Este es el micelio externo del hongo que se desarrolla en la etapa de formación de vesículas, y que consti-

tuye el sistema de absorción de nutrientes. Está formado por una red tridimensional de hifas, unas de 8-30 μm de diámetro (Tinker 1975) que son consideradas la base estable permanente de este micelio, y otras más delgadas (2-7 μm), más efímeras que las anteriores. Sobre el micelio externo se forman grandes esporas vegetativas que van madurando hasta convertirse en clamidosporas aunque algunos endofitos VA no forman tales esporas de resistencia (Mosse, 1978). Determinadas especies forman esporocarpos (Gerdemann y Trappe, 1974).

El desarrollo de la infección VA en un huésped está afectado en su dinámica por las características de la especie vegetal y por los factores ecológicos dominantes, pero, en general sigue un modelo en tres fases: a) fase lag, en que ocurre la germinación de las esporas y comienza la colonización de las raíces por las hifas, b) fase de desarrollo intensivo de la infección, y c) fase de constancia en la cual no varía la proporción entre raíces micorrizadas y no micorrizadas. Si se representa en una gráfica el porcentaje de infección con respecto al tiempo, se obtiene una típica curva sigmoideal (Sutton, 1973; Azcón-G. de Aguilar, 1980).

Los hongos que forman micorrizas VA tienen un espectro de plantas huéspedes extremadamente amplio por lo que esta simbiosis puede considerarse inespecífica. No obstante, es un hecho que existen diferencias en el grado de susceptibilidad del huésped y en la adaptabilidad del hongo a determinadas condiciones. Así, se ha descrito hongos más adaptados a especies forestales y otros a cultivos agrícolas (Gerdemann, 1975), siendo el pH del suelo uno de los factores más determinantes de la presencia y efectividad de ciertos tipos de esporas (Mosse, 1972; Graw, 1979). De todo ello se deduce que existen marcadas diferencias en la facilidad e intensidad con que los endofitos infectan, se desarrollan y operan en distintos huéspedes y bajo diferentes condiciones ecológicas (Mosse, 1973; Strzemska, 1974; Hayman, 1975a). En resumen, se puede concluir que

existe cierta especificidad en micorrizas VA, en términos de la efectividad de la simbiosis, pero que ésta parece depender más de la interacción con un tipo de suelo y condiciones de cultivo, que con un huésped en particular.

En un suelo, la mayor parte de las esporas y de las raíces micorrizadas se encuentran en la capa superficial del mismo y a profundidad entre 15 y 20 cm. (Hayman, 1970; Sparling y Tinker, 1975). Se sabe que, el potencial infectivo de un suelo viene determinado por la cantidad y viabilidad de esporas y micelio y por la intensidad de la infección de las raíces que contiene, pero, estos parámetros aunque son indicativos, en ocasiones no reflejan la realidad del poder infectivo de un suelo, o sea del número de propágulos viables de la micorriza. En este sentido, son de gran interés las técnicas basadas en el cálculo del "número más probable" de propágulos determinado por diluciones seriadas del suelo problema (Powell, 1980).

Para aislar, identificar y cuantificar las esporas de hongos de las micorrizas VA de un suelo se usa tradicionalmente la técnica del tamizado húmedo y decantación propuesta por Gerdemann y Nicolson, (1963). De acuerdo con Hayman et al., (1975) el número de esporas encontrado en la mayor parte de los recuentos descritos oscila entre 10 y 500 esporas por 100 g de suelo.

De otro lado, la cuantificación de la infección se lleva a cabo, generalmente, mediante el examen microscópico de muestras representativas de raíces (Phillips y Hayman, 1970). Ultimamente, se han evaluado y revisado los métodos comúnmente utilizados para cuantificar la micorrización en raíces teñidas (Giovannetti y Mosse, 1980).

De acuerdo con Mosse (1978), la infección estaría condicionada, de un lado, por la densidad de las raíces e infectividad del suelo, y de otro, por déficit nutritivo de la planta, que a su vez depende de la especie vegetal y de la disponibilidad de nutrientes en el suelo. Aparte de estas circunstancias condicionantes de la infección, otros factores ecológicos diversos pueden afectar el proceso. Ellos son:

- Factores que afectan a la fotosíntesis del huésped directamente (luz, temperatura, etc.).
- Factores que afectan las condiciones del suelo (pH, fertilizantes, humedad, materia orgánica, calidad y cantidad de arcillas, etc.).
- Factores que alteran el ritmo de crecimiento y desarrollo de las raíces (hormonas).
- Presencia de otros microorganismos de la rizosfera.

Todos estos factores se han discutido con cierta profundidad en estudios de revisión recientes (Azcón-G. de Aguilar, 1980; Ocampo, 1981). Dado el interés del tema en el contexto de la presente investigación, se hace necesario profundizar algo más en lo referente a la incidencia de los fertilizantes químicos en la infección por micorrizas así como también la interacción existente con otros microorganismos del suelo.

La aplicación de dosis altas de fosfato soluble produce, generalmente, una disminución en la infección por micorrizas VA, de plantas crecidas "in vitro" en agar (Mosse y Phillips, 1971), en invernadero (Mosse, 1973a; Sanders y Tinker, 1973; Sanders, 1975; Azcón et al., 1978) y en el campo (Khan, 1975; Hayman, 1975). De igual modo, la adición de fosfato reduce la formación de esporocarpos (Holevas, 1966; Mosse, 1967). El efecto de dosis supraóptimas de fosfato los analiza Mosse (1973a) en términos de la existencia de un nivel crítico de P en el que cesa la infección y que niveles superiores

producen incluso un efecto negativo en el crecimiento. Sanders (1975), mediante la aplicación de P por vía foliar, concluye que la concentración del ión dentro de la planta tiene más influencia sobre la infección que los niveles de P en el suelo. Menge et al. (1978) llegan a las mismas conclusiones trabajando con Citrus como planta huésped, y Assimi et al. (1980) confirman estos hechos en leguminosas.

En cuanto a las interacciones de las micorrizas con otros microorganismos de la rizosfera es de destacar las observaciones de campo y de laboratorio relativas al antagonismo existente entre el hongo micorrízico y ciertos patógenos (Ocampo, 1981). Aunque las micorrizas nunca confieren completa inmunidad, parecen reducir la severidad de la infección por otros hongos o al menos, logran reducir sus síntomas. Marx (1973) puntualiza varias posibilidades que pueden explicar el hecho en el caso de las ectomicorrizas, entre las que se cuentan: protección mecánica, competencia por sitios de infección, mejor nutrición de la planta, producción de antibióticos por el hongo, etc.. Todas las evidencias indican que podría suceder algo similar en el caso de las micorrizas VA (Mosse, 1978).

De otro lado, varios trabajos experimentales informan de los cambios producidos sobre la microflora rizosférica en las plantas micorrizadas. En el caso de las micorrizas formadoras de manto, se sabe que éstas inducen cambios notorios tanto cuali como cuantitativos en los microorganismos de la rizosfera (Rambelli, 1972; Slankis, 1974); a su vez, Azotobacter y otros microorganismos afectan positivamente la formación de este tipo de micorrizas (Rambelli, 1972; Slankis, 1974). Tal efecto se debe según Slankis (1974), a las sustancias extracelulares que liberan los microorganismos entre las cuales se cuentan las fitohormonas cuya producción es común entre la flora rizosférica (Brown, 1972, 1974; Barea y Montoya, 1975; Barea et al., 1976) y cuyo papel en el crecimiento vegetal está más allá de toda duda.

De gran interés desde el punto de vista de su repercusión en nutrición vegetal son las interacciones entre las micorrizas VA y fosfobacterias, Azotobacter y Rhizobium. Barea et al. (1975) y Azcón et al. (1976) apuntan una cooperación entre los hongos VA y bacterias solubilizadoras de fosfatos, en cuanto a sus efectos sobre el crecimiento y nutrición de las plantas. De igual forma se han informado interacciones entre Azotobacter y hongos VA (Azcón y Barea, 1977; Bagyaraj y Menge, 1978). Finalmente, es de destacar la interacción existente entre hongos VA y Rhizobium sp y sus efectos sobre el crecimiento y nutrición de leguminosas, siendo ésta una de las más importantes líneas de investigación en el campo de los fertilizantes microbianos (Azcón-G.de Aguilar, 1980).

Efectos sobre la nutrición mineral de las plantas

Es un hecho universalmente aceptado que las micorrizas estimulan el crecimiento, desarrollo y nutrición de las plantas, especialmente en suelos de baja y moderada fertilidad; así lo han ido recogiendo sucesivos trabajos de revisión (Nicolson, 1967; Gerdemann, 1968; Harley, 1973; Mosse, 1973; Gerdemann, 1975; Tinker, 1975; Gianinazzi-Pearson, 1976; Hayman, 1978; Mosse, 1978; Tinker, 1978; Safir, 1979; Azcón-G.de Aguilar y Barea, 1980; Ocampo, 1981). La mayor parte de los trabajos experimentales se han realizado en invernadero, utilizando suelos desprovistos de sus endofitos naturales, y también suelos no estériles. No obstante, también se han desarrollado trabajos en campo, tanto en suelos a los que se adicionan productos esterilizantes, como en suelos sin tratar.

De los trabajos mencionados se concluye que los efectos logrados se deben a que la micorriza beneficia substancialmente la absorción de nutrientes y agua por la planta y que el principal nutriente implicado es el fósforo.

Con respecto a los mecanismos que pueden explicar la mayor capacidad de las plantas micorrizadas en la absorción más efectiva del P, la opinión que actualmente se considera más aceptable (Tinker, 1975), es la que indica que la micorrización proporciona una superficie de absorción incrementada (hifas del hongo) y más eficaz. En efecto, se acepta que el papel clave de las micorrizas radica en que las hifas del hongo extienden el campo de absorción de la raíz más allá de la zona de agotamiento, zona que se ha logrado poner de manifiesto mediante autorradiografía (Bhat y Nye, 1973; Owusu-Bennoah y Wild, 1979). Esta zona, sólo se aleja 1 a 5 mm de la raíz, por lo que se estima que coincide con la rizosfera. De este modo, la red de hifas externas permite a la raíz incrementar su superficie de absorción y explorar un volumen de suelo mayor del que lo hacen las raíces no micorrizadas. Por otra parte, Sanders y Tinker (1971; 1973), mediante P^{32} han logrado poner de manifiesto de que las raíces micorrizadas absorben más eficazmente los fosfatos que las no micorrizadas. La capacidad superior de las plantas micorrizadas para explorar mayor volumen de suelo se ha confirmado por los trabajos de Hattingh et al. (1973) y Pearson y Tinker (1975) utilizando trazadores. Es más, Rhodes y Gerdemann (1975), encuentran que las hifas de *Glomus* pueden extender la zona de captación de fosfato, a lo menos, a 7 cm de la superficie radicular.

La posibilidad de que las hifas o las raíces micorrizadas tengan capacidad para solubilizar formas de P no disponible a plantas no infectadas ha sido objeto de investigación y controversia. Por una parte, en varios experimentos se ha observado que las plantas micorrizadas crecen mejor que las no micorrizadas cuando a los suelos se adiciona formas difícilmente solubles de P, tales como apatito y fosfato tricálcico (Daft y Nicolson, 1966; Murdoch et al., 1967), fosfato de roca (Jackson et al., 1972; Mosse et al., 1976), fosfatos y fitatos de Ca, Fe y Al (Hayman y Mosse, 1972;

Ross y Gilliam,1973; Azcón et al.,1976). De otro lado, se ha descrito la presencia de fosfatasas en micorrizas formadoras de manto (Bartlett y Lewis,1973). Todo esto hizo pensar en una posible solubilización de fosfatos por las hifas de las micorrizas VA. Sin embargo, determinaciones con P^{32} (Sanders y Tinker,1971; Hayman y Mosse,1972; Powell,1975) han puesto de manifiesto, indirectamente, que, tanto las plantas micorrizadas como las no micorrizadas toman el P de la misma fuente, es decir, el "pool" lábil de P soluble (Tinker,1975a). Más recientemente, Barrow et al.,(1977) han llegado a la misma conclusión mediante una técnica más directa cual es el "envejecimiento" acelerado de fosfato retenido y su utilización por parte de las micorrizas.

De todo lo anterior se concluye que la absorción más eficiente por las raíces micorrizadas es debida fundamentalmente a una aceleración de la disociación del fosfato insoluble. Esto puede justificar la respuesta de las plantas micorrizadas a la adición de fosfato de roca (Azcón et al.,1976; Powell y Daniel,1978). Sin embargo, Smith (1974) aconseja profundizar los estudios relacionados con formas de P diferentes, en ciertos suelos y en otras condiciones aún no investigadas. El fosfato traslocado a través de las hifas, llega a los arbusculos, que al ser digeridos (a escasos días de su formación), dejan fosfato en libertad dentro de la célula huésped.

Se han realizado variados trabajos para determinar la posible influencia de las micorrizas VA sobre la captación de K, Ca, Mg, Na y los micronutrientes Fe, Mn, Cu, B, Zn y Al, y en efecto, ciertos estudios parecen indicar la captación de Zn (Bowen et al.,1974; La Rue et al.,1975; Pairunan et al.,1980), K (Powell, 1975a); S (Rhodes y Gerdemann,1978); Mn (Daft y Hasckaylo,1977); Ca (Rhodes y Gerdemann,1978) y Mo (Hayman y Day,1978) por micorrizas VA, aunque no se han alcanzado conclusiones concluyentes generalizables.

Finalmente, Safir et al.,(1971) han sugerido que las micorrizas estimulan la captación de agua por parte de las plantas, pero más que por un efecto directo parece que lo hacen como consecuencia de la mejor captación de fósforo (Safir et al., 1972).

Es un hecho demostrado que ciertas especies vegetales son más micotróficas que otras (Sanders y Hayman, 1977) en el sentido de que obtienen más beneficio de las micorrizas VA. Generalmente, las plantas con alta demanda de fósforo o pobre sistema radical responden mejor a la micorrización. Así, Baylis (1970) apoya la idea de que las plantas con poco o cortos pelos radicales (cebolla, patata) serán más micotróficas que aquéllas con pelos bien desarrollados; estudios recientes apoyan, de forma global, la hipótesis de Baylis (St.Jones,1980).

Perspectivas agronómicas de las micorrizas VA

Aún cuando se tiene un conocimiento bastante acabado del potencial de las micorrizas VA, una apreciación cuantitativa de la contribución del hongo en la captación de nutrientes en ecosistemas naturales presenta muchas dificultades, principalmente, porque son sistemas dinámicos. Así, los requerimientos nutricionales varían según se trate de plantas anuales o perennes, siendo en el primer caso particularmente crítico el aporte de fósforo durante los primeros estadios de crecimiento.

Dados los resultados altamente satisfactorios en experiencias llevadas a cabo en invernadero, en la actualidad están siendo cada vez más seriamente consideradas las posibilidades de inoculación de micorrizas VA en campo, con objeto de mejorar el rendimiento de las cosechas agrícolas y disminuir la dependencia a los fertilizantes químicos tradicionales (Sanders y Hayman,1977).

Sin embargo, no se puede predecir como y en que forma la inoculación con endofitos VA llega a ser factible; a juicio de Mosse, (1978), se hace imprescindible confirmar previamente si las respuestas obtenidas en invernadero son reproducibles, aún en pequeña escala, en el campo donde se hace más difícil la introducción del inóculo y el fertilizante no está bien distribuido.

Las respuestas positivas a la introducción de endofitos VA, son de esperar, principalmente en suelos en el que los hongos VA indígenas, sean escasos o inefectivos (Mosse, 1977).

Debido a ello, en la mayor parte de los ensayos que se han llevado a cabo en suelos naturales, se han utilizado esterilizantes para eliminar los endofitos nativos (Menge et al., 1977). Sin embargo, también se han iniciado trabajos en campo sobre suelo no estéril (Black y Tinker, 1977; Haymann, 1977; Powell, 1979; Hayman y Mosse, 1979; Azcón-G. de Aguilar et al., 1979; Azcón-G. de Aguilar y Barea, 1981) en los cuales se demuestran incrementos de cosecha, como consecuencia de la acción de estos "fertilizantes biológicos".

El problema más importante que existe actualmente a la hora de pretender una inoculación del endofito VA radica en la obtención de cantidad suficiente de inóculo, ya que al no crecer éste en cultivo puro, se hace necesario reproducirlo sobre plantas. Este proceso, además de caro y lento tiene el peligro latente de introducir patógenos conjuntamente con el hongo simbiote (Hayman, 1977; Menge y Johnson, 1978; Hayman, 1980).

En suelos deficientes en fósforo las micorrizas VA son potencialmente importantes para el funcionamiento adecuado de la fijación simbiótica de nitrógeno por Rhizobium, puesto que las micorrizas son capaces de captar el fósforo necesario para producir una correcta nodulación y fijación de nitrógeno. Una combinación

de los dos sistemas simbióticos ofrece gran ventaja a la hora de implantar estas especies vegetales en suelos marginales (Daft y Hacskaylo, 1976, Azcón G. de Aguilar et al, 1980; Azcón G. de Aguilar y Barea, 1981).

Los endofitos VA son también bastante efectivos en la recuperación de suelos, ya sea por erosión o en los sistemas de dunas (Koske et al., 1975; Sutton y Sheppard, 1976), en cultivos en zonas áridas (Williams y Aldon, 1976) y en suelos de bosques tropicales (Janos, 1980). En la experiencia de control de dunas, Sutton y Sheppard, (1976) informan que el micelio del hongo micorrízico fué capaz de incrementar el peso de arena agregado a la raíz de 0.9 a 2.5 g por Kg de suelo y a 127 g después de una segunda colonización.

Muchas posibilidades y muchas interrogantes se plantean en la investigación de las micorrizas. Las técnicas experimentales es necesario tratarlas con cuidado a la hora de extrapolar los resultados de una situación particular a un sistema natural. El valor potencial de las micorrizas se ha demostrado claramente, pero cuán lejos está del poder utilizarlas masivamente en prácticas agrícolas y forestales, es una interrogante que aún no se puede contestar y un desafío que es necesario afrentar.

III.- PLAN DE TRABAJO

III.- PLAN DE TRABAJO

Teniendo en cuenta los antecedentes aportados en el capítulo de INTRODUCCION, y de acuerdo al OBJETO e INTERES perseguidos se propone el PLAN DE TRABAJO que en esencia, y esquemáticamente, constaría a priori de los siguientes ensayos:

1º.- Determinaciones químicas y físico-químicas:

- a.- pH.
- b.- C orgánico.
- c.- N total.
- d.- Capacidad de retención de agua.
- e.- P total.
- f.- P disponible o asimilable.
- g.- P orgánico determinado por dos métodos.
- h.- P-húmico y P-fúlvico.
- i.- P fosfolipídico.



Esta serie de determinaciones tanto en suelos bajo cultivo y sin cultivar tiene como objetivos fundamentales:

- a.- Evaluar algunas propiedades químicas y físico-químicas de ellos como índice de fertilidad de los mismos.
- b.- Determinar el "status" del P en estos suelos, sus diferentes formas y su relación con otros parámetros químicos y biológicos.
- c.- Observar la cuantía y forma de acumulación del P como producto de la fertilización fosforada (P "residual").
- d.- Comparar dos métodos analíticos para la determinación de P orgánico en andosoles.

2º.- Determinaciones enzimáticas, de desprendimiento de CO_2 y poblaciones microbianas en suelos Trumao bajo cultivo y sin cultivar.

Esta serie de experiencias pretende estudiar:

- a.- El nivel de fosfatasa ácida presente en los suelos y su posible correlación con parámetros químicos y biológicos.
- b.- La cuantía del CO_2 desprendido como expresión relativa del ritmo de mineralización de la materia orgánica, o como disponibilidad biológica del C del suelo.
- c.- La microflora normal de estos suelos como expresión de la actividad biológica de los mismos.

39.- Ensayos con microorganismos del ciclo del fósforo.

Estos estudios se diseñan de acuerdo a los siguientes apartados:

- a.- Cuantificación de microorganismos implicados en el ciclo del P, en varios suelos Trumaos.
 - i) Evaluación de bacterias y hongos solubilizadores de fosfatos orgánicos e inorgánicos.
 - ii) Evaluación de micorrizas VA naturales: número de esporas, tipos predominantes y grado de micorrización en las plantas presentes en los suelos.

- b.- Ensayos de invernadero para estudiar el efecto de la inoculación de endofitos VA y fosfobacterias de colección sobre el crecimiento y nutrición de las plantas en un suelo Trumao tipo.

Con estos ensayos se pretende:

- i) Evaluar el efecto de esporas de colección de hongos de las micorrizas VA conducente a la obtención del mejor inóculo introducido.
- ii) Evaluar el efecto de un inóculo de fosfobacteria (Pseudomonas sp) y su interacción con fertilizantes.
- iii) Evaluar el efecto combinado de la inoculación de micorrizas VA y fosfobacterias y su interacción con fertilizantes químicos.

c.- Ensayos de invernadero para estudiar la interacción de endofitos VA nativos y fertilizantes químicos.

Con este último grupo de ensayos se pretende estudiar:

- i) El efecto de los endofitos nativos en el crecimiento del trigo.
- ii) El efecto de los endofitos nativos en el aprovechamiento del fertilizante fosfatado agregado al suelo.

IV.- MATERIAL Y METODOS

IV.- MATERIAL Y METODOS

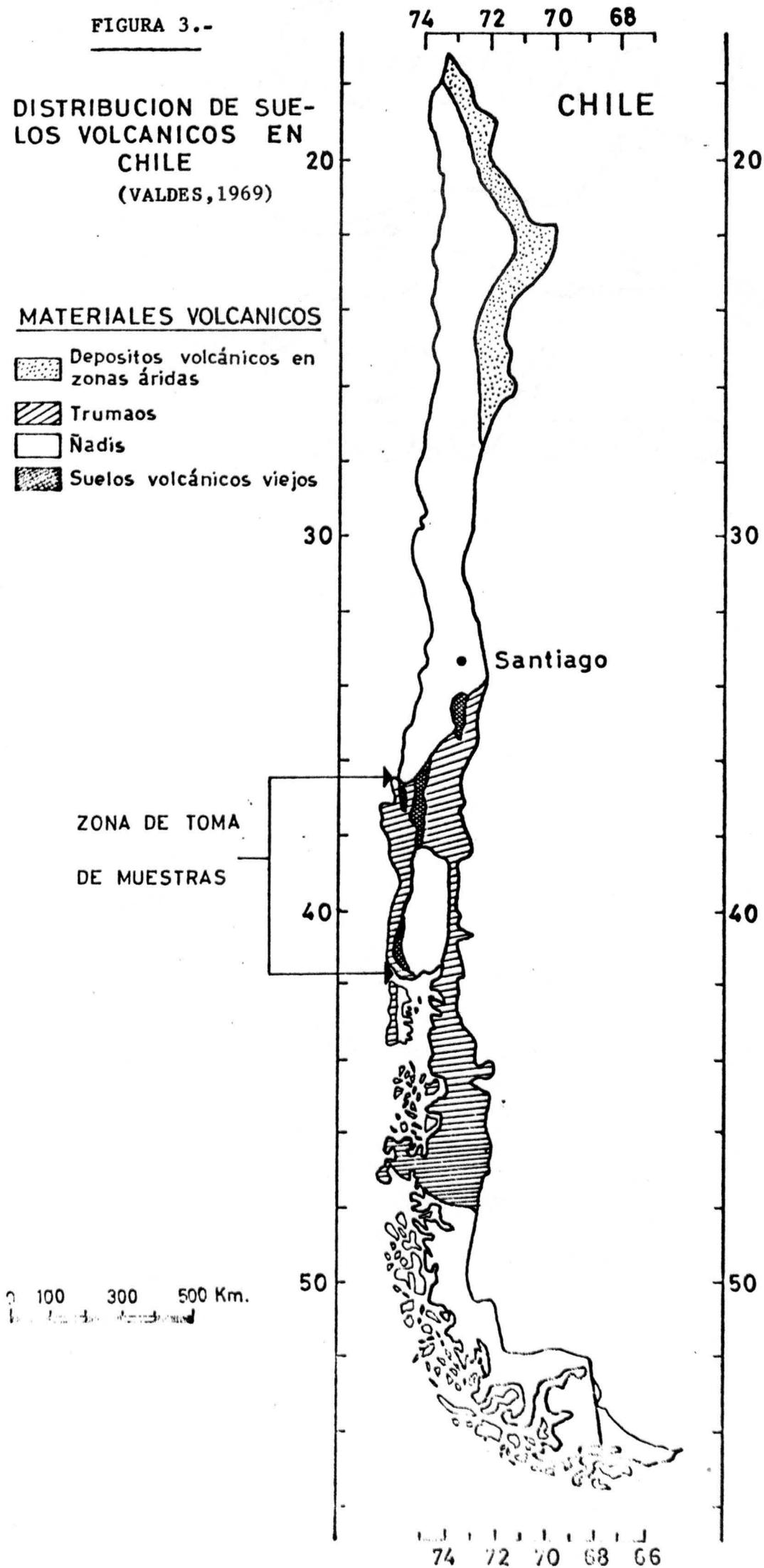
Los suelos utilizados se colectaron en primavera en la zona comprendida entre Los Angeles (37°L.S.) y Puerto Montt (41°L.S.), zona que se puede visualizar en Figura 3. Las muestras corresponden al horizonte superficial de cada suelo (0-20 cm) y se guardaron en bolsas de plástico, adecuadamente cerradas para que se conservara la humedad original de campo a fin de evitar cambios en las características de estos suelos (Schalscha et al., 1965). En algunos lugares se colectó suelo bajo cultivo (generalmente trigo) además de sus homólogos sin cultivar. En todos los sitios se extrajeron además muestras de suelo correspondiente a la rizosfera de la vegetación del lugar o del cultivo correspondiente.

FIGURA 3.-

DISTRIBUCION DE SUE-
LOS VOLCANICOS EN
CHILE
(VALDES, 1969)

MATERIALES VOLCANICOS

-  Depositos volcánicos en zonas áridas
-  Trumaos
-  Ñadis
-  Suelos volcánicos viejos



A.- Determinaciones químicas y físico-químicas

Los suelos húmedos se tamizaron a 2 mm y sobre ellos se efectuaron las siguientes determinaciones:

- pH: se determinó mediante electrodo de vidrio sobre pasta de saturación en agua.
- C orgánico: determinado en carbómetro por combustión seca de acuerdo al método de Dumas. El CO_2 liberado se recibe en KOH valorado y se determina mediante titulación ácido-base.
- N total: determinado volumétricamente en analizador de nitrógeno.
- Capacidad de retención de agua (C.R.A.): determinada hasta el punto de escurrimiento de muestra seca de suelo.
- P disponible: se determinó mediante el método Bray Kurtz 2 que utiliza como solución extractante ClH 0.1N y FNH_4 0.03N (Jackson, 1958).
- P total: se determinó de acuerdo al método de Dick y Tabatabai (1977) mediante una oxidación alcalina. En términos generales, se pesa exactamente una cantidad de, aproximadamente, 100 mg de suelo homogeneizado en mortero, se agrega solución de BrONa recién preparada y se calienta en baño de arena durante 60 minutos a 260-280°C. Se agrega HCOOH , agua destilada y SO_4H_2 1N, se lleva a volumen y en una alícuota se

determina P por el método sulfomolibdico-ácido ascórbico (Dick y Tabatabai, 1977).

- P orgánico: se determinó mediante dos procedimientos:

a) Método de Mehta et al. (1954).

Las etapas de extracción del P orgánico con ClH concentrado y con NaOH en caliente fueron las mismas que el método original pero la oxidación de la materia orgánica con ClO_4H fué reemplazada por digestión con solución de BrONa (Diagrama en Figura 4). Lecitina e inositol fosfatos (fitatos) de Ca, Fe y Al se sometieron al mismo procedimiento de extracción para determinar el grado de hidrólisis que se produce con los reactivos y condiciones que preconiza este procedimiento.

b) Método de Steward y Oades (1972).

En todos los suelos estudiados se determinó P orgánico por este procedimiento. Sobre 1 g de suelo se hizo un pre-tratamiento con ClH 1N y sobre el residuo se realizan extracciones sucesivas con NaOH 0.5N y ultrasonido por tiempos reducidos (3 minutos) para evitar hidrólisis de P orgánico. Debido a que los Trumaos son suelos con alto contenido de materia orgánica, la segunda y tercera extracción se realizaron con NaOH 0.5N y ultrasonido en vez de NaOH 0.1N como plantea el método original (Diagrama en Figura 5).

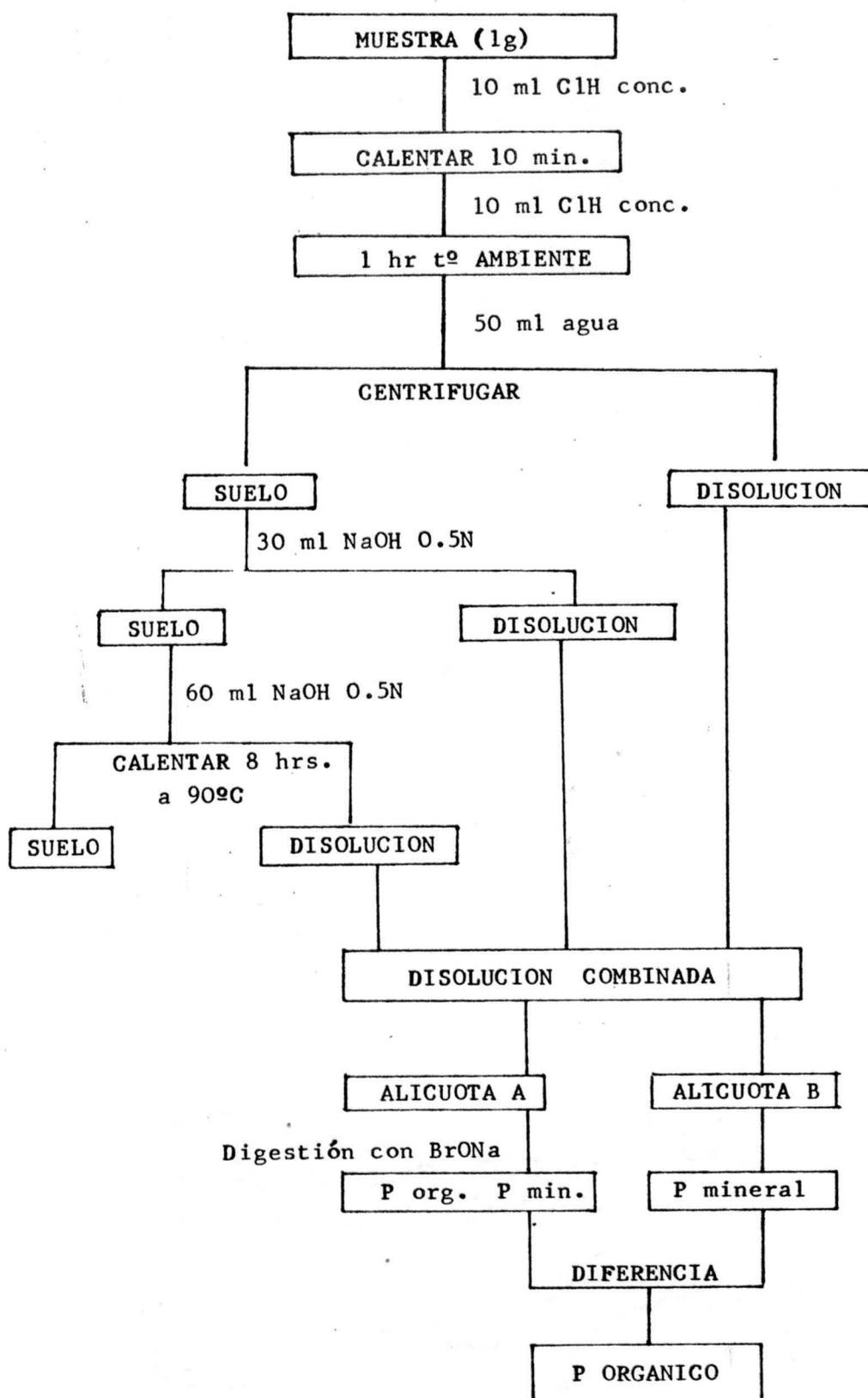
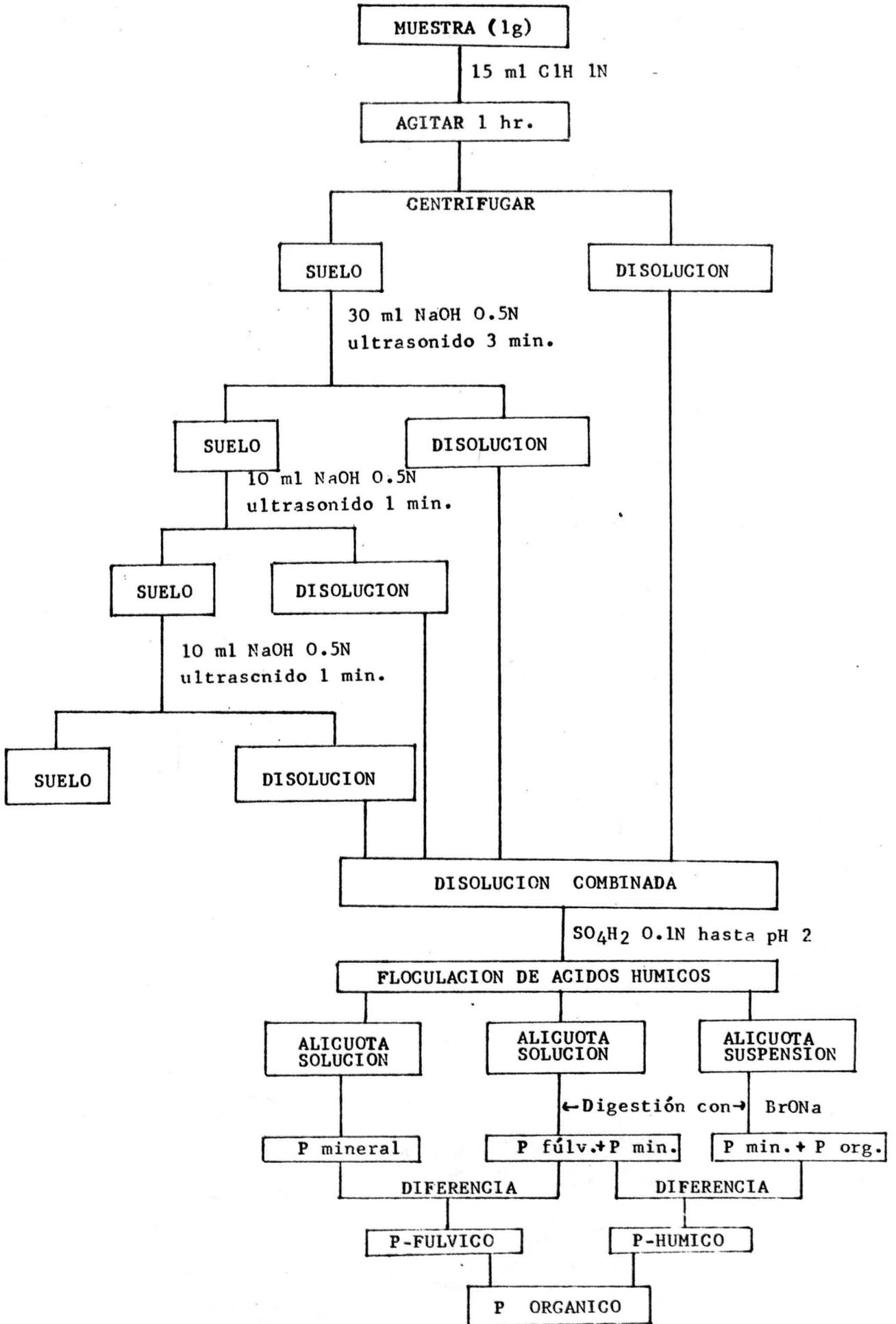


FIGURA Nº 4.- Esquema del método de Mehta et al. para determinar fósforo orgánico.

FIGURA Nº 5.- Esquema del método de Steward y Oades modificado para la determinación de P orgánico y sus fracciones



- **P-húmico y P-fúlvico:** Aprovechando la solución obtenida tras haber coagulado los ácidos húmicos (método de Steward y Oades), se determinó P inorgánico y en otra alícuota de la misma solución se destruyó la materia orgánica y se determinó P inorgánico nuevamente. La diferencia entre las dos determinaciones da cuenta del P-fúlvico.

Para el P-húmico, en una alícuota de la suspensión se destruye materia orgánica con solución de BrONa y en la solución resultante se determinó P total extraído. La diferencia entre este valor y los correspondientes a P inorgánico y P-fúlvico corresponde a P-húmico.

P-húmico: P total en el extracto - (P inorgánico-Pfúlvico) (Diagrama en Figura 5).

- **Relación C:P de ácidos húmicos:** Los ácidos húmicos precipitados se lavaron exhaustivamente con agua hasta pH neutro, se secaron a 40-50°C y en ellos se determinó el contenido de C y P. El C se determinó en carbómetro y el P colorimétricamente previa digestión con solución de BrONa.

P-fosfolipídico: Se determinó extrayendo 10 g de suelo con mezcla cloroformo-metanol (método de Bligh y Dyer, 1959) en homogenizador tal como describieron Navarro et al. (1972). Las fracciones lipídicas del extracto orgánico se separaron mediante cro-

matografía en capa fina sobre placas (20x20cm) recubiertas con sílica-gel G. Como solvente de desarrollo se utilizó la mezcla cloroformo-metanol-agua (65:25:4, v/v/v). Como sistema revelador se utilizaron: vapores de yodo, reactivo no-específico para lípidos; ninhidrina-lutidina para fosfolípidos con grupos amino libres; reactivo de Dragendorff para el grupo colina; cloruro férrico-ácido sulfosalicílico para grupos fosfato; reactivo de Vaskovsky-Kostetsky (Navarro et al., 1972), para fosfolípidos en general. Además se hizo uso de Rf patrones y Rf relativos.

Con el fin de determinar el contenido en ácidos grasos en los fosfolípidos, éstos se extrajeron de la sílica-gel mediante mezcla cloroformo-metanol, y una vez esterificados los ácidos grasos con mezcla BF_3 -metanol, se analizaron mediante cromatografía gas-líquido tal como lo realizan Navarro et al. (1972a). Conjuntamente, se determinó P en el extracto orgánico.

La preparación de los inositol fosfatos (INF) de Fe y Al se llevó a cabo partiendo del inositol fosfato cálcico. En el caso de la síntesis del INF-Fe, se compleja el INF-Ca con ácido cítrico hasta solubilización total y se precipita adicionando gota a gota solución de Cl_3Fe hasta precipitación total. En el caso del INF-Al, la complejación se realiza con ácido malónico y la precipitación

con solución de Cl_3Al . Los precipitados se lavan exhaustivamente hasta desaparición del catión precipitante y posteriormente son secados a baja temperatura.

Todas las determinaciones químicas que se acaban de reseñar se realizaron en duplicado, no habiendo diferencia sobre el 5%, y es el valor promedio el que aparece tabulado.

B.- Determinaciones enzimáticas, de desprendimiento de CO_2 y de poblaciones microbianas en suelos Trumaos.

a) Actividad fosfatásica ácida (E.C. 3.1.3.2).

Se procedió de acuerdo al método descrito por Tabatabai y Bremner (1969) con pequeñas modificaciones debido al tipo de suelos en estudio.

Reactivos:

- Tampón Universal tris (MUB), de pH 6.5 y preparado según Skujins (1962).
- Solución de p-nitrofenil fosfato (PNFF) 0.115M. Se disuelven 2,134 g de la sal sódica de p-nitrofenil fosfato hexahidrato (Merck) en el tampón MUB y se enrasa a 50 ml. La solución se guarda en refrigerador.
- Solución de Cl_2Ca 0.5M.
- Solución de NaOH 0.5M.
- Solución standard de p-nitrofenol (PNF).

Se disuelve en agua 1 g de p-nitrofenol y se diluye a un litro. Se guarda en refrigerador.

Procedimiento:

Se basa en la estimación en medio alcalino del p-nitrofenol liberado del suelo por acción enzimática. Para ello, se coloca 1 g de suelo finamente dividido en un matraz Erlenmeyer de 50 ml, se agrega 4 ml de tampón MUB y 1 ml de solución de PNFF; se mezcla el contenido, se tapa el matraz y se incuba 1 hora a 37°C. Posteriormente se agrega 1 ml de la solución de Cl_2Ca , se agita y rápidamente se filtra a través de papel Whatman Nº 12. El filtrado se recibe sobre 4 ml de NaOH 0.5N, se homogeniza, se decanta, y en una alícuota de la solución se determina espectrofotométricamente a 400 nm el p-nitrofenol liberado. El color es estable por más de 48 horas y la solución permite más diluciones. Se prepara una curva de calibración a partir del patrón de la solución de PNF.

Para cada suelo se realizaron dos controles: por una parte se agrega, en duplicado, el PNFF inmediatamente antes de filtrar el suelo con el fin de determinar la absorción neta del PNFF en medio alcalino, y de otra, se agrega al suelo antes de incubar, 1 ml de solución de PNF a dos concentraciones diferentes. Este último control, que no está prescrito en el método original, tiene como

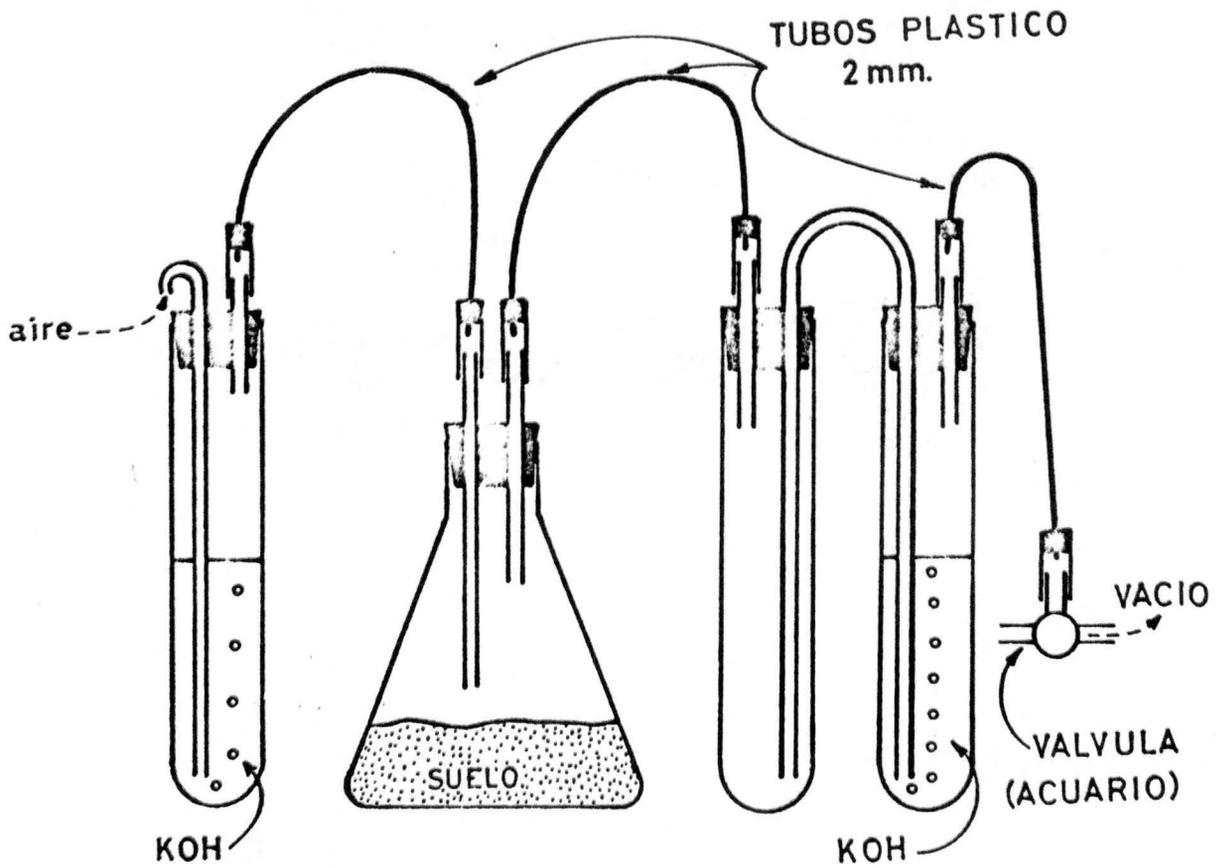
objeto el determinar la adsorción de PNF por los coloides del suelo, sobretodo en este tipo de suelos (andosoles) en que la fracción inorgánica del mismo tiene una gran capacidad adsortiva. Este control se realizó a dos concentraciones diferentes para estudiar si la adsorción es dependiente de la concentración del fenol.

La determinación enzimática propiamente tal se realizó en triplicado y el valor medio y corregido es el que aparece tabulado.

b) Desprendimiento de CO_2 de suelos incubados.

La determinación de la evolución de CO_2 a partir de los suelos se llevó a cabo utilizando el procedimiento descrito por Zunino el al.(1981) y que consiste en determinar el anídrido carbónico liberado por suelos mantenidos en condiciones de humedad y temperatura controlada. Para ello, se incuban aproximadamente 100 g de suelo a $22^\circ\text{C} \pm 1$ adicionados de agua hasta el 50% de la capacidad de campo. El CO_2 proveniente de la incubación de los suelos y arrastrado por una corriente de aire exenta de dióxido de carbono se recibe sobre una solución de KOH, de concentración conocida y se valora por retro-titulación con HCl 0.1N (Diagrama en Figura 6). El desprendimiento de CO_2 se determina a las 24 y 48 horas, 1, 2, 4, 8, 12 y 16 semanas. La determinación se realiza en duplicado.

FIGURA Nº 6.- Aparato para estudiar la descomposición de la materia orgánica del suelo



c) Población microbiana de los suelos.

Bacterias:

Se utilizó el método clásico de las diluciones suspensiones de suelo con inoculación de alícuotas en placa. El medio ensayado fué el siguiente:

Solución madre de Winogradsky	20 ml
Glucosa	4 g
Agar	6 g
Solución de oligoelementos	0.4 ml
Agua destilada	380 ml

La solución madre de Winogradsky y la de oligoelementos se prepararon de acuerdo a Pochon y Tardieux (1962).

Hongos:

La población fúngica se determinó mediante el mismo método utilizando el medio de Martin(1950):

Peptona	5 g
Glucosa	10 g
H_2PO_4K	1 g
SO_4Mg	0.5 g

Solución acuosa de Rosa de Bengala 1/3000	100 ml
Solución de oligoelementos	1 ml
Agua destilada	900 ml

Se funde el medio, se esteriliza, se lleva a tº de 50-55ºC y se agrega, en condiciones estériles, 30 mg de sulfato de streptomina por litro de medio.

C.- Ensayos con microorganismos del ciclo del P.

Estos estudios se diseñaron de acuerdo con el esquema que marcan los siguientes apartados:

a) Cuantificación de microorganismos implicados en el ciclo del P, en varios suelos Trumaos.

i) Evaluación de bacterias y hongos solubilizadores de fosfatos.

Para la determinación de la población de microorganismos solubilizadores de fosfatos se utilizaron los mismos medios nutritivos anteriormente empleados para el recuento de microorganismos totales, reemplazando la fuente de P por un fosfato insoluble agregado al 0.2%. Se utilizó fosfato tricálcico como fosfato inorgánico y fitato de calcio como orgánico. La siembra se realizó en superficie con la dilución-suspensión adecuada de suelo rizosférico y se estableció como criterio de solubilización la formación de halo de solubilización alrededor de la colonia. Se prepararon las placas por dilución y la cuantificación se llevó a cabo al quinto día de incubación a 28°C.

ii) Evaluación de micorrizas VA naturales:

Número de esporas, tipos predominantes de éstas y grado de micorrización en raíces de plantas presentes.

Se utilizaron seis pares de suelos Trumaos cultivados con trigo con sus correspondientes

homólogos sin cultivar además de otros seis suelos representativos. Para el aislamiento de las esporas, se empleó la técnica del tamizado húmedo y decantación ("wet sieving and decanting") descrita por Gerdemann y Nicolson (1963). Se parte de una suspensión de 50 a 100 g de suelo en 1 litro de agua tibia. Esta suspensión se deja decantar unos segundos, y se hace pasar, sucesivamente, tras nuevas agitaciones y decantaciones, a través de tamices de 700, 250 y 100 μm de poro. En el tamiz de 700 μm quedan retenidos trozos de raíz y esporocarpos. En el de 250 μm quedan los esporocarpos y algunas esporas y en el de 100 el resto de las esporas.

Las fracciones retenidas en los tamices de 100 y 250 μm , se resuspendieron en agua y se extendieron sobre una placa de plástico que tiene excavados surcos concéntricos (Doncaster, 1962). Estos surcos evitan el desplazamiento de las esporas una vez depositadas, facilitándose así el recuento, que se lleva a cabo en un microscopio binocular de disección (30 a 40 aumentos). Las esporas se identificaron de acuerdo con la "Clave de Identificación" de Mosse y Bowen (1968) y la Taxonomía de Gerdemann y Trappe (1974)

Para la cuantificación de la infección VA se utilizaron muestras representativas de raíces teñidas según el procedimiento de

tinción descrito por Phillips y Hayman (1970). Este método consiste en:

- Las raíces se sumergen en KOH al 10% y se mantienen en ebullición durante 1 hora con la finalidad de clarificarlas.
- Se elimina el KOH y las raíces se lavan con agua 4 ó 5 veces.
- Se acidifica con unos ml de ClH diluído (0.1N).
- Se adiciona una solución de azul tripán al 0.05% en lactofenol y se mantiene 5 minutos en ebullición. De esta forma se tiñen las estructuras del hongo del interior de la raíz, permaneciendo ésta traslúcida.
- Por último, se elimina el exceso de colorante y las raíces se conservan en lactofenol.

El lactofenol se prepara de la siguiente manera:

Acido láctico	100 ml
Fenol	20 g
Glicerol	50 ml
Agua	40 ml

De cada muestra se observan, mediante examen microscópico, alrededor de 100 trozos de raíz, de 1 cm de longitud aproximadamente. Los parámetros determinados fueron "% de incidencia" y "% de extensión, siendo incidencia el porcentaje de segmentos de raíz que poseen alguna infección. La extensión se calcula multiplicando la longitud de corteza infectada por la anchura.

- b) Ensayos de invernadero para estudiar el efecto de la inoculación de endofitos VA y fosfobacterias de colección sobre el crecimiento y nutrición de las plantas en un suelo Trumao tipo.

En todos los ensayos de invernadero con microorganismos del ciclo del P, se utilizó el suelo Osorno.

Las técnicas generales que se siguieron fueron las siguientes:

- Preparación del inóculo de fosfobacterias. Se utilizó una estirpe de Pseudomonas sp seleccionada por Azcón et al. (1973) de entre 50 fosfobacterias. Esta posee la capacidad de solubilizar fosfatos orgánicos y fosfato de roca en cultivo puro. Asimismo, es productora de hormonas vegetales de acuerdo con Barea et al. (1975). De otro lado, cumple los requisitos de persistencia en su capacidad para solubilizar fosfatos y de producir inmediato beneficio al vegetal, condiciones exigidas a las fosfobacterias para ser seleccionadas como inóculo (Ramos-Cormenzana, 1970). La conservación del inóculo se logró manteniendo la cepa de Pseudomonas sp en medio sólido de Ramos y Callao (1967) en nevera. Para la obtención de masa de bacterias suficiente para ser utilizada como inóculo se realizó cultivando las bacterias en medio líquido de Brown (1972), en agitación, durante 10 días a 28°C. En esas condiciones el

cultivo contiene del orden de 10^9 fosfobacterias/ml (Ocampo, 1976) y así fué confirmado.

La composición del medio líquido de Brown (1972) es la siguiente:

Sacarosa	10 g
NO_3K	0.5 g
Extracto de levadura	0.5 g
Solución A	5 ml
Solución B	5 ml
Extracto de suelo	250 ml
Agua destilada	740 ml

Se ajusta el pH a 7.

Solución A:

PO_4HK_2	25 g
$\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$	25 g
Agua dest.	250 ml

Solución B:

SO_4Mg	10 g
ClNa	0.5 g
SO_4Fe	0.5 g
SO_4Mn	0.5 g
Agua dest.	250 ml

El extracto de suelo se preparó dejando en maceración durante 24 horas mezcla de suelo y agua en partes iguales y filtrando posteriormente la suspensión en papel Whatman Nº1.

- Preparación del inóculo de micorrizas.

El inóculo consistía en una alícuota de rizosfera micorrizada procedente de un "stock" de inóculo. Estas micorrizas tipo (ver Tabla 27) proceden de la Estación Experimental de Rothamsted. De cada inóculo se aplicó 1 g, aproximadamente, por planta y consistía en una mezcla de esporas, hifas y fragmentos de raíz infectada.

La preparación de los "stocks" de inóculo fué como sigue: Al ser los hongos de la familia Endogonaceae simbioses obligados (Lewis, 1973), no han podido ser cultivados axénicamente. Por esta razón, el hongo tiene que ser mantenido en simbiosis con una planta adecuada. Para ello, se inoculó, en suelo estéril, una planta susceptible con esporas aisladas del hongo en cuestión. La infección se inicia a los pocos días, aunque conviene esperar a que el sistema radical de la planta se encuentre totalmente micorrizado (unos 6 meses) y el suelo posea una elevada población de esporas. Una mezcla de este suelo rico en esporas, y raíces infectadas, constituye un buen inóculo, utilizable para provocar nuevas infecciones. Estos "stocks" se mantienen en el invernadero en lugar reservado.

- Condiciones de cultivo:

- Planta: en todos los ensayos de invernadero se utilizó trigo como planta por a) ser el cultivo preferencial en los suelos bajo estudio; b) ser planta exigente en P, y c) es capaz de infectarse por hongos de las micorrizas VA. Las variedades utilizadas fueron Aurifén y SNA.

- Preparación de la experiencia en macetas.

Se utilizaron dos tipos de macetas, de 1/2 y 1 kg, respectivamente. Al momento del cultivo, se adiciona N al suelo como NO_3K en proporción de 1 g/Kg de suelo (Zunino et al., 1976). Se agregó agua hasta capacidad de campo y se mantuvo la humedad diariamente a peso constante.

El número de plantas y los fertilizantes usados, en su caso, se consignan en la Tabla de resultados correspondiente.

Las plantas se cultivaron en invernadero, a temperaturas que oscilaban entre 15 y 20°C de noche y 25 a 30°C de día. La humedad se mantuvo dentro de los límites 50 a 65%.

Cuando se pretende usar suelos desprovistos de endofitos VA naturales se procede como sigue:

Una vez esterilizado el suelo a vapor fluyente una hora, durante tres días consecutivos, se le adiciona un filtrado (por papel Whatman Nº1) del suelo natural. Este filtro retiene las esporas y propágulos de los endofitos VA y deja pasar los demás microorganismos que son así repuestos al suelo estéril. El producto obtenido se le llama "suelo parcialmente estéril" y en esencia es un suelo "vivo" pero Endogonaceae (-).

- c) Ensayos de invernadero para estudiar la interacción de endofitos VA nativos y fertilizantes químicos sobre el crecimiento de plantas de trigo en suelo Trumao tipo.

Para la preparación de inóculo de micorrizas, condiciones de cultivo, preparación de suelo y "stock" de inóculo de micorriza, se siguieron idénticas técnicas que en apartado anterior (C.-b.-).

Las dosis y tipo de fertilizante así como detalles adicionales, particulares de experiencias concretas, se especifican en las Tablas correspondientes (Resultados).

V.- RESULTADOS

V.- RESULTADOS

Características físico-químicas de los suelos Trumaos.

En la Tabla 1 aparecen las características físico-químicas de los suelos Trumaos sin cultivar utilizados a lo largo de este estudio. También se incluye, como referencia otro suelo no Trumao, derivado de cenizas volcánicas: Collipulli. Exceptuando a este último, que es un suelo rojo-arcilloso, se puede observar que son suelos con alto contenido de materia orgánica con valores que fluctúan entre 4.6 y 12%, expresado como C orgánico. Como consecuencia de ello, son suelos ácidos en general, con una media de pH del orden de 5.4.

La capacidad de retención de agua (C.R.A.) de estos suelos es, en general, bastante elevada, sobre el 100%, lo que hace que estos suelos tengan unas características de drenaje adecuadas como para soportar un régimen pluviométrico del orden de 1.5 a 3.5 metros/año. En cuanto al contenido de nitrógeno, éste es relativamente alto, con valores entre 0.40 y 0.94%.

La Tabla 2 indica las características físico-químicas de suelo bajo cultivo. Se hace necesario destacar que los suelos que aparecen como praderas habían sido cultivados con trigo en años anteriores. Al igual que los suelos sin cultivar, presentan pH ácido, alto contenido de carbono orgánico y elevada capacidad de retención de agua. No se hizo análisis de nitrógeno por la posible fertilización nitrogenada de los mismos.

TABLA 1

Características físico-químicas de suelos "Trumaos".

Suelo	C org. ¹ (%)	pH	C.R.A. ² (%)	N (%)
Corte Alto	5.7	5.3	200	
Corte Alto 2	12.0	5.2	103	0.51
Arrayán	4.6	6.4	170	0.45
Arrayán 2	5.3	6.3	86	0.40
Loncoche	5.5	5.1	160	
Malihue	5.9	5.7	175	0.52
Osorno	5.8	5.3	188	0.85
Osorno 2	7.3	5.6	120	0.87
San Pablo	5.0	5.3	191	0.55
Victoria	6.4	6.0	160	0.61
Victoria Púa	5.9	5.3	95	
Victoria 3	6.0	5.3	83	
Puerto Octay	6.5	6.1	100	0.52
Metrenco	4.9	5.0	168	0.61
Puerto Varas	9.6	4.7	188	
Metrenco 2	4.4	5.5	80	0.42
Purranque	9.3	4.9	116	0.84
Lican Ray	8.5	5.1	106	0.60
Río Bueno	6.5	4.9	116	0.47
Lastarria	6.9	4.9	85	0.94
Collipulli ³	1.8	5.3	90	

¹: C orgánico.

²: Capacidad de retención de agua.

³: Suelo rojo-arcilloso.

TABLA 2

Características físico-químicas de suelos "Trumaos" bajo cultivo

Suelo	Cultivo	C org. ¹ (%)	pH	C.R.A. ² (%)
Corte Alto	Trébol	7.6	5.3	198
Arrayán	Pradera	4.6	6.4	166
Loncoche	Trigo	6.0	5.2	150
Malihue	Trigo	6.3	4.8	197
Osorno	Pradera	6.5	5.3	183
Osorno 2	Pradera	7.7	5.2	131
San Pablo	Trigo	6.0	5.6	188
Victoria	Trébol	7.7	5.0	150
Victoria Púa	Trigo	5.5	5.3	90
Victoria 3	Trigo	5.8	5.2	90
Puerto Varas	Trigo	9.8	4.9	208
Metrenco	Trigo	5.8	4.6	160
Purranque	Trigo	9.2	4.8	116
Lican Ray	Trigo	8.0	5.6	102
Río Bueno	Trigo	4.7	4.8	116

¹: C orgánico.

²: Capacidad de retención de agua.

Contenido de fósforo total y fósforo asimilable.

Los resultados de las determinaciones correspondientes a fósforo total en los suelos en estudio que se exponen en la Tabla 3, ponen de manifiesto que la cantidad de este elemento en los suelos sin cultivar es bastante elevado, especialmente en los suelos Osorno, Río Bueno, Purranque y San Pablo, siendo menores en los suelos Puerto Octay, Victoria 3 y Puerto Varas. El suelo de referencia Collipulli presenta, sin embargo, un valor de 770 ppm, que es bastante más bajo que los correspondientes a suelos Trumaos.

En cuanto a los suelos bajo cultivo, los valores fluctúan entre 1422 ppm para el suelo Victoria 3 y 4011 ppm para el suelo Metrenco, con una media aproximada a los 2.610 ppm de fósforo.

También se encuentra en la misma tabla los valores correspondientes a P asimilable o P disponible, siendo, de acuerdo al extractante utilizado, excesivamente bajo en los suelos Corte Alto, Arrayán, Loncoche, Puerto Varas y Puerto Octay; Río Bueno y Metrenco presentan un buen nivel y el resto, entre regular y bajo. Los suelos bajo cultivo, en cambio, muestran niveles adecuados de P asimilable con respecto al cultivo que soportan, excepto Corte Alto y las series Victoria. Como se puede apreciar, existe una correlación significativa entre P total y P asimilable.

TABLA 3

Contenido de fósforo total (P_t) y asimilable (P_{as}) en suelos "Trumaos".

Suelo	CULTIVADO		SIN CULTIVAR	
	P_t (ppm)	P_{as} (ppm)	P_t (ppm)	P_{as} (ppm)
Corte Alto	2.387	19	1.513	3
Arrayán	1.982	47	1.562	4
Loncoche	3.102	37	1.503	5
Malihue	1.724	13	1.542	17
Osorno	3.560	73	3.000	20
Osorno 2	2.768	60	2.380	27
San Pablo	3.074	29	2.812	26
Victoria	2.380	12	1.950	5
Puerto Varas	2.175	49	1.371	6
Metrenco	4.011	165	2.135	9
Purranque	2.975	54	2.990	26
Río Bueno	3.561	32	3.243	41
Victoria Púa	1.762	14	1.720	17
Victoria 3	1.422	12	1.150	9
Lastarria			1.538	12
Puerto Octay			1.126	3
Arrayán 2			1.784	25
Metrenco 2			2.291	31
Lican Ray	2.224	14	1.773	17
Collipulli ¹			770	8

¹: Suelo rojo arcilloso.

Fósforo "residual" (ΔP) en los suelos "Trumaos".

La Tabla 4 pone de manifiesto el fósforo "residual" que se acumula en los suelos como producto de la fertilización fosfatada de los mismos. A este parametro se le designa por ΔP y corresponde a la diferencia entre el fósforo total del suelo bajo cultivo y su homólogo sin cultivar. De acuerdo a ello, los suelos Victoria-Púa y Purranque prácticamente no mostraron diferencias apreciables entre sus pares lo que indicaría que no han sido sometidos a cultivos en años anteriores. Sin embargo, Metrenco y Loncoche se elevan sobre los 1.600 ppm de fósforo "residual".

Para visualizar más globalmente el efecto residual de los fertilizantes fosfatados se ha calculado ΔP como Kg de P/ha. Para ello, se ha utilizado como densidad media 0.75 g/cc del horizonte superficial y una profundidad de la capa arable de 0-20 cm. Calculado de esta manera, el suelo Malihue presenta el menor valor correspondiente a 273 Kg de P residual/ha y el mayor al suelo Metrenco con 2.814 Kg de P residual/ha.

TABLA 4

Fósforo "residual" (ΔP) acumulado en diversos suelos como consecuencia del uso de fertilizantes.

Suelo	ΔP^1 ppm	ΔP^1 Kg P/ha
Corte Alto	874	1.311
Arrayán	380	570
Loncoche	1.600	2.400
Malihue	182	273
Osorno	560	840
Osorno 2	388	582
San Pablo	262	393
Victoria	430	645
Puerto Varas	804	1.206
Metrenco	1.876	2.814
Río Bueno	318	477
Victoria 3	272	408
Lican Ray	451	677

¹ ΔP : Diferencia entre el P del suelo cultivado y P del suelo sin cultivar.

Fósforo orgánico en suelos "Trumaos".

La Tabla 5 recoge los datos de contenido en formas orgánicas de fósforo en los suelos en estudio. De los valores obtenidos en suelos sin cultivar, se aprecia de que utilizando el método de Mehta et al., (1954) se obtiene en todos los suelos menor cantidad de formas orgánicas de P, concretamente entre 200 y 1.000 ppm menos que con el método de Steward-Oades. En los suelos bajo cultivo esta diferencia se hizo aún mayor.

Si se compara los valores de P orgánico de los suelos cultivados y sin cultivar obtenidos por cada método, se observará que, de acuerdo a Steward-Oades, todos los suelos cultivados presentan valores sensiblemente mayores que sus pares sin cultivar, a excepción del suelo Arrayán. Sin embargo, de acuerdo con el método de Mehta et al., ambos suelos tienen similar contenido en Arrayán, Malihue, Osorno, Puerto Varas y Victoria 3.

De acuerdo con estos resultados y partiendo del postulado básico de que el mejor método de determinación de P orgánico es aquél que extrae mayor cantidad del mismo, se optó por realizar el método de Steward-Oades sobre las muestras de suelos restantes, valores que se resumen en Tabla 6.

Finalmente, del análisis de las Tablas 5 y 6 se deduce que, a excepción del suelo Loncoche, en los 33 suelos restantes más del 50% de contenido en P está bajo formas orgánicas. De otra parte, se observa que el suelo Collipulli, no Trumao, solamente posee un 26% de P orgánico.

TABLA 5

Contenido en fósforo orgánico (ppm) en suelos "Trumaos" determinado por dos procedimientos .

Suelo	CULTIVADO				SIN CULTIVAR			
	S-O ¹	%Pt ²	M ³	%Pt ²	S-O ¹	%Pt ²	M ³	%Pt ²
Corte Alto	1.257	53	830	35	835	55	670	44
Arrayán	1.057	53	780	39	1.150	74	854	55
Loncoche	1.290	42	596	19	723	48	432	29
Malihue	1.280	74	721	42	973	63	707	46
Osorno	2.384	67	1.602	45	2.159	72	1.650	55
San Pablo	1.879	61	1.072	35	1.729	61	688	25
Victoria	1.409	59	740	31	1.063	55	662	34
Puerto Varas	1.560	72	814	37	1.040	76	835	61
Metrenco	3.197	80	1.150	29	1.145	54	742	35
Victoria 3	870	61	453	32	650	57	478	42

¹: P orgánico de acuerdo al método de Steward-Oades.

²: P total.

³: P orgánico de acuerdo al método de Mehta.

TABLA 6

Contenido en fósforo orgánico en varios suelos "Trumaos" determinado según el método de Steward-Oades.

Suelo	CULTIVADO		SIN CULTIVAR	
	Porg ¹ (ppm)	%Pt ²	Porg ¹ (ppm)	%Pt ²
Purranque	2.012	68	2.375	79
Lican Ray	1.734	78	1.383	78
Río Bueno	2.220	62	1.965	61
Victoria Púa	1.098	62	1.101	64
Osorno 2	2.039	74	1.552	65
Lastarria			1.215	79
Puesto Octay			1.421	59
Corte Alto 2			876	80
Collipulli ³			200	26

¹: P orgánico.

²: P total.

³: Suelo rojo-arcilloso.

El método de Mehta et al.(1954), debido a los reactivos que utiliza, y en especial las condiciones de tiempo y temperatura que conlleva, induce a suponer y así de hecho se ha demostrado, que puede provocar mineralización de algunas formas orgánicas de P en suelos. Con este objeto, se procedió a someter a los fitatos de Ca, Fe y Al, al igual que a lecitina, a los reactivos y condiciones que preconiza dicho método. Los resultados de tal determinación se aprecian en la Tabla 7. En ella se observa que el CIH concentrado produce un 38, 17, 9, y 2% de hidrólisis del fosfato en los fitatos de Ca, Fe, Al y lecitina, respectivamente. A su vez, el NaOH 0.5N a la temperatura y tiempo que recomiendan Mehta et al., produce un efecto hidrolítico mayor sobre el fitato de Fe (12.4%) que sobre el de Al (6.8%) ó Ca (2.8%). No fué posible determinar el efecto del NaOH sobre lecitina por formación de los jabones respectivos.

Por otra parte, se procedió a determinar el efecto hidrolítico del SO_4H_2 0.5N sobre los mismos compuestos con el fin de obtener antecedentes sobre la validéz de este reactivo para determinar P disponible (Jackson, 1958) en suelos. Los valores que se obtienen revelan que la hidrólisis es más drástica en el orden fitato de Al > fitato de Ca > fitato de Fe.

TABLA 7

Efecto hidrolítico de algunos reactivos sobre lecitina y fitatos de calcio, hierro y aluminio.

	%P	% hidrólisis		
		ClH conc.	NaOH 0.5N	SO ₄ H ₂ 0.5N
Fitato de calcio	10.9	38.6	2.8	68
Fitato de hierro	10.4	17.5	12.4	27
Fitato de aluminio	8.8	9.7	6.8	85
Lecitina	4.7	2.8		

Fósforo orgánico unido a las fracciones húmicas y fúlvicas.

Dado el alto contenido en formas orgánicas de P que es posible encontrar en suelos Trumaos, tanto bajo cultivo como sin cultivar, se estimó conveniente determinar si ese P se encontraba formando parte de substancias húmicas o por el contrario fuera un componente asociado a los ácidos fúlvicos de la materia orgánica. En la Tabla 8 se exponen los valores correspondientes a esas asociaciones, denominándolas P-húmico y P-fúlvico, respectivamente. De acuerdo a ello, se puede observar que, a excepción del suelo Malihue sin cultivar, en todo el resto de los suelos en que se hizo tal determinación, el P-húmico es mayoritario, con valores extremadamente altos como es el caso del suelo Metrenco cultivado que alcanza al 95% del P orgánico. Si se expresa ahora como % del P total se observa que 75% del P en el suelo Metrenco se encuentra asociado a la fracción húmica y el 50% del P de los suelos Puerto Varas, Osorno, Victoria y Corte Alto, también se encuentra en la misma forma.

Si se comparan los suelos homólogos se observa que prácticamente en todos ellos el suelo bajo cultivo contiene porcentualmente un mayor contenido en formas húmicas de P que el par correspondiente. Las formas fúlvicas de P son importantes sólo en los suelos Malihue y San Pablo.

TABLA 8

Fósforo orgánico unido a la fracción húmica y fúlvica de suelos "Trumaos"
bajo cultivo y sin cultivar.

Suelo	P orgánico (ppm)	P-húmico		P-fúlvico	
		%P _o ³	%P _t ⁴	%P _o ³	%P _t ⁴
Corte Alto c. ¹	1.257	85	45	15	8
Corte Alto s/c ²	835	81	45	19	10
Arrayán c.	1.057	65	34	35	19
Arrayán s/c	1.150	66	49	34	25
Loncoche c.	1.290	83	35	17	7
Loncoche s/c	723	66	32	34	16
Malihue c.	1.280	64	47	36	27
Malihue s/c	973	43	27	57	36
San Pablo c.	1.879	59	36	41	25
San Pablo s/c	1.729	56	34	44	27
Victoria c.	1.409	89	53	11	6
Victoria s/c	1.063	80	44	20	11
Puerto Varas c.	1.560	70	50	30	22
Puerto Varas s/c	1.040	65	49	35	27
Metrenco c.	3.197	95	76	5	5
Metrenco s/c	1.145	76	41	24	13
Osorno 2	1.552	79	51	21	14

¹ c.: Suelo bajo cultivo.

² s/c: Suelo sin cultivar.

³ : P orgánico.

⁴ : P total.

Relación C:P de ácidos húmicos.

Puesto que la mayor parte del P orgánico se encuentra asociado a los ácidos húmicos se creyó conveniente determinar los elementos C y P en los ácidos húmicos (AH) precipitados con el propósito de determinar la relación existente entre estos elementos y compararla con las correspondientes del suelo como conjunto. Sin embargo, la determinación de cada elemento por separado en los AH no refleja el contenido absoluto de los mismos debido a que, por la naturaleza de la metódica empleada en su separación, éstos se encuentran "impurificados", especialmente por los cationes Fe y Al existentes en solución. No obstante, la relación C:P es lícita al eliminar el problema anteriormente mencionado.

En la Tabla 9 se puede observar la relación C:P en los ácidos húmicos provenientes de 17 suelos bajo cultivo y sin cultivar. Esta relación, exceptuando los suelos Loncoche y Arrayán, es ligeramente superior en los suelos cultivados y los valores fluctúan entre 13.0 y 42.7 .

TABLA 9

Relación C:P en ácidos húmicos.

Suelo	CULTIVADO	SIN CULTIVAR
Arrayán	25.7	32.8
Osorno	23.2	17.8
San Pablo	22.8	18.5
Puerto Varas	33.0	31.1
Corte Alto	30.4	24.6
Loncoche	29.3	37.8
Metrenco	13.0	
Victoria	28.1	27.0
Malihue		25.5
Lastarria		42.7

Fósforo lipídico en suelos "Trumaos".

Como ya se ha indicado en Material y Métodos, el P lipídico se determinó haciendo extracción del suelo mediante la mezcla cloroformo-metanol (Bligh y Dyer, 1959). La cantidad de esta fracción fosforada en el extracto se muestra en la Tabla 10. Posteriormente, cada extracto se sometió a una separación cromatográfica en capa fina que, utilizando los reactivos generales y específicos de identificación de compuestos lipídicos, dió como resultado lo siguiente:

- a) los lípidos "neutros", entre los que se mencionan ácidos grasos libres, glicéridos, esteroides, etc. y que migran con el frente del solvente en el sistema utilizado, se encuentran en proporción elevada comparada con la cantidad de lípidos "polares" (fosfolípidos y otros).
- b) entre los fosfolípidos, las formas que predominan son la fosfatidiletanolamina y fosfatidilcolina, aunque no se logró su cuantificación.

Una vez metilados los ácidos grasos que esterifican al glicerofosfato se sometieron a su análisis cromatográfico en fase gaseosa, encontrándose que el ácido graso mayoritario es el palmítico. No se logró visualizar si el resto de los ácidos grasos que acompañan al palmítico son de tipo ramificado o cíclico.

Conjuntamente con ello, aparecen en Tabla 10 los valores de P-lipídico. Esta fracción del P orgánico se encuentra en pequeña cantidad (entre 1.1 y 7.0 ppm) y representa menos del 1% del P orgánico total.

Debido a que los componentes mayori-

tarios que se encontraron fueron la fosfatidiletanolamina y ácido palmítico, los fosfolípidos se expresan como palmitato de fosfatidiletanolamina.

TABLA 10

Evaluación del fósforo lipídico en suelos "Trumaos".

Suelo	Extracto lipídico (mg/g)	Fosfolípidos ⁴ % de extracto	P-lip. ³ ug/g	P-lip % de Po
Corte Alto c. ¹	3.1	1.8	2.3	0.18
Corte Alto s/c ²	3.1	2.5	3.0	0.36
Osorno c.	1.8	6.8	4.3	0.18
Osorno s/c	1.7	2.9	1.3	0.06
Arrayán c.	1.1	6.6	2.4	0.23
Arrayán s/c	1.1	2.8	1.1	0.095
Metrenco c.	3.5	5.2	6.4	0.20
Metrenco s/c	3.8	2.8	3.8	0.33
Victoria c.	1.3	6.1	2.8	0.20
Victoria s/c	1.6	6.6	3.8	0.36
Malihue c.	3.3	5.6	6.6	0.52
Malihue s/c	3.6	5.6	7.0	0.72
Puerto Octay s/c	2.4	3.8	3.2	0.37

¹ c : Suelo bajo cultivo.

² s/c : Suelo sin cultivar.

³ : P-lipídico.

⁴ : Expresado como palmitato de fosfatidiletanolamina.

Relaciones C-N-P orgánico en suelos "Trumaos".

Es común utilizar las relaciones entre C:N y C:N:P para visualizar mejor la tendencia que tiene un suelo para poder mineralizar el P y el N que contienen los mismos. En la Tabla 11 se exponen las relaciones anteriormente mencionadas en suelos Trumaos sin cultivar. En ella es posible observar que la relación C:N y C:P más bajas corresponde a suelo Osorno y las más altas las presenta el suelo Lican Ray; ello indica la presencia de carbono altamente humificado. Existe correlación entre C vs N (0.749, $P < 0.01\%$) indicando su origen común cual es la materia orgánica. También se exponen en la misma Tabla la relación C:N:P utilizando la nomenclatura con que habitualmente se designa a tal relación y que consiste en asignar el valor de 10 al N como patrón de referencia.

TABLA 11

Relaciones C-N-P orgánico en suelos "Trumaos" sin cultivar.

Suelo	C:N	C:P	C:N:P
Corte Alto	11.2	65	112:10:1.0
Arrayán	10.2	40	102:10:2.6
Malihue	11.3	61	113:10:1.9
Osorno	6.8	27	68:10:2.5
Osorno 2	8.4	47	84:10:1.8
San Pablo	9.1	29	91:10:1.6
Victoria	10.5	60	105:10:1.1
Puerto Octay	12.5	46	125:10:2.7
Metrenco	8.0	43	80:10:0.9
Purranque	11.1	39	111:10:2.6
Lican Ray	14.1	61	141:10:2.0
Río Bueno	13.8	33	138:10:2.7
Lastarria	7.3	57	73:10:0.9
Arrayán 2	13.2		
Metrenco 2	10.5		

Ensayo de incubación de suelos y medida del CO₂ desprendido como expresión relativa del ritmo de mineralización de la materia orgánica.

Los resultados de este ensayo se muestran en las Tablas 12 y 12b. Como puede observarse en la Tabla 12 el suelo Lastarria descompone su materia orgánica muy lentamente, hecho que también ocurre en los suelos Metrenco sin cultivar y Puerto Varas cultivado. No obstante, en los suelos Purranque, Paraguay, Río Bueno sin cultivar, Osorno y Malihue, se observan tasas más elevadas de desprendimiento de CO₂ (Los resultados se expresan como mg de C mineralizado).

Sin embargo, si se pretende evaluar la mineralización de la materia orgánica, el C desprendido como CO₂ debe relacionarse con el C orgánico original del suelo, término que se denomina "grado de mineralización" y que aparece en Tabla 12b, siendo mayor en los suelos de las series Osorno y Río Bueno. Se observa además, que el suelo Collipulli (suelo rojo-arcilloso) presenta también niveles relativamente altos de "grado mineralización". En un intento de comparar el "grado de mineralización" de la materia orgánica de los suelos Trumaos con un suelo agronómicamente aceptable, se ha incluido en la Tabla un suelo de jardín, determinándose en éste una tasa de mineralización del orden de 20% al año. Existen correlaciones positivas entre mineralización de la materia orgánica y C orgánico, P asimilable y P orgánico, y una correlación negativa con el P total.

TABLA 12

Carbono desprendido como CO₂ proveniente de la mineralización de la materia orgánica (mgC).

Suelo	Tiempo de incubación (días)							
	1	3	7	14	28	56	84	112
Lican Ray s/c ²	5.5	10.9	19.9	30.5	47.3	67.9	86.3	105.0
Lastarria s/c	2.6	8.3	15.2	20.8	30.6	41.4	50.7	57.6
Purranque s/c	7.8	22.9	37.0	69.6	89.1	113.2	135.5	158.0
Purranque c. ¹	7.2	17.0	33.0	50.6	70.1	98.6	124.6	149.1
Metrenco s/c	3.3	7.9	11.8	17.5	22.4	30.8	39.6	49.5
Arrayán s/c	3.7	8.0	13.7	19.6	27.8	42.0	52.9	66.8
Paraguay s/c	8.0	16.3	28.6	42.6	75.8	118.6	160.9	205.9
Frutillar s/c	5.0	10.8	21.1	29.2	39.8	51.3	68.4	83.0
Río Bueno s/c	8.6	18.6	34.9	56.6	80.4	110.5	137.7	163.6
Río Bueno c.	3.0	5.4	9.1	15.0	28.3	55.6	81.9	101.0
Puerto Varas s/c	3.0	5.0	11.1	19.5	29.3	47.6	62.9	83.6
Puerto Varas c.	1.1	5.2	7.0	9.7	13.5	22.9	42.2	57.7
Osorno c.	4.8	22.9	51.8	82.3	112.3	144.3	165.9	192.2
Malihue s/c	2.5	12.1	16.8	53.9	78.8	88.7	116.4	140.7
Osorno s/c	6.4	23.0	47.0	68.9	91.1	112.0	127.4	143.6
Collipulli ³	2.5	5.9	6.9	9.7	13.9	20.6	28.0	34.7

1: Suelo bajo cultivo.

2: Suelo sin cultivar.

3: Suelo rojo-arcilloso.

TABLA 12b

"Grado de mineralización" de la materia orgánica de suelos sometidos a cuatro meses de incubación.

Suelo	C desprendido como CO ₂ (mg)	C orgánico (%)	Grado de mineralización (%)
Lican Ray s/c ²	105.0	8.5	1.24
Lastarria s/c	57.6	6.9	0.83
Purranque s/c	158.0	9.3	1.70
Purranque c. ¹	149.1	9.2	1.62
Metrenco s/c	49.5	4.9	1.00
Arrayán s/c	66.8	4.6	1.45
Paraguay s/c	205.9	11.2	1.80
Frutillar s/c	83.0	8.8	0.90
Río Bueno s/c	163.6	6.5	2.52
Río Bueno c.	101.0	4.7	2.15
Puerto Varas s/c	83.6	9.6	0.87
Puerto Varas c.	57.7	9.8	0.59
Osorno c.	192.2	7.7	2.50
Malihue s/c	140.7	5.9	2.38
Osorno s/c	143.6	7.3	1.96
Collipulli ³	34.7	1.8	1.92
El Pillán ⁴	95.1	1.5	6.30

¹ c: Suelo bajo cultivo.

² s/c: Suelo sin cultivar.

³ : Suelo rojo-arcilloso.

⁴ : Suelo de jardín.

Actividad fosfatásica ácida en suelos "Trumaos" bajo cultivo y sin cultivar.

En la Tabla 13 aparecen los resultados de las determinaciones de la actividad fosfatásica ácida en suelos, cultivados y sin cultivar, así como el porcentaje de adsorción del p-nitrofenol en cada suelo. Los datos indican que los suelos sin cultivar presentan una actividad enzimática bastante alta, observándose que en los suelos bajo cultivo de trigo la actividad fosfatásica disminuye sobre el 50%. De acuerdo con Material y Métodos se realizaron dos tipos de controles: el primero, para determinar la absorbancia del p-nitrofenilfosfato (PNFF) en medio alcalino, y el segundo, para determinar, a dos concentraciones extremas, la sorción del p-nitrofenol por los coloides del suelo. En relación con el primer control, no se obtuvo absorbancia del PNFF y en cuanto al segundo control, aparece en la misma Tabla y fluctúa entre 32 y 50% siendo esta sorción independiente de la concentración.

En la Tabla 14 se exponen los valores de actividad enzimática obtenidos con otros suelos Trumaos y otros horizontes. Los resultados indican, como era de esperar, que la actividad enzimática disminuye con la profundidad del perfil del suelo. Se incluye además un suelo rojo-arcilloso, en que la actividad es bastante más baja, igual que ocurre con la adsorción. Menor aún lo es la del suelo agronómico patrón (El Pillán), con una adsorción del 15%

Existen correlaciones positivas entre la actividad enzimática y C org. y N. Existe una correlación negativa con pH. De otro lado, el grado de adsorción del p-nitrofenol correlaciona directamente con el contenido en C orgánico.

TABLA 13

Actividad fosfatásica en suelos "Trumaos" bajo cultivo y sin cultivar.

Suelo	P-nitrofenol liberado por g.h ⁻¹ a 37°C (mg)	Adsorción de p-nitrofenol (%)
Purranque c. ¹	2.7	49
Purranque s/c ²	5.5	50
Río Bueno c.	2.4	43
Río Bueno s/c	5.5	40
Lican Ray c.	1.7	46
Lican Ray s/c	5.1	41
Puerto Varas c.	3.2	46
Puerto Varas s/c	6.5	45
Victoria Púa c.	1.6	32
Victoria Púa s/c	2.2	36
Osorno c.	1.6	32
Osorno s/c	5.0	32

¹c: Suelo bajo cultivo.

²s/c: Suelo sin cultivar.



TABLA 14

Actividad fosfatásica en otros suelos "Trumaos" sin cultivar.

Suelo	P-nitrofenol liberado por g.h ⁻¹ a 37°C (mg)	Adsorción de p-nitrofenol (%)
Corte Alto	6.0	44
Malihue	2.7	35
Lastarria	4.7	39
Arrayán	1.4	27
Metrenco	2.4	34
Puerto Octay	3.3	32
Osorno (horiz.B)	1.3	32
Puerto Octay (horiz.B)	1.3	31
Corte Alto B (horiz.B)	2.7	37
Collipulli ¹	0.9	24
El Pillán ²	0.65	15

1: Suelo rojo-arcilloso.

2: Suelo de jardín.

En las Tablas 15, 16 y 17 se recogen resultados de los recuentos de bacterias (en las que se incluyeron ac tinomicetos, lógicamente) y hongos en suelos Trumaos. Los resultados son media de 4 determinaciones y la "desviación típica" no superó en caso alguno el 15% del valor medio. En la mayoría de los casos fué inferior al 10%. Es evidente que por tratarse de suelos ácidos las poblaciones fúngicas están relativamente incrementadas.

Las Tablas 16 y 17 recogen así mismo la información obtenida sobre el porcentaje de bacterias y hongos capaces de mineralizar fosfatos orgánicos y solubilizar los inorgánicos. Se observa una gran variabilidad en las cifras relativas de microorganismos de vida libre implicados en el ciclo del P en estos suelos Trumaos. Las poblaciones en general son considerables y en algunos casos representan valores muy altos. Concretamente, en suelo Osorno no cultivado, el 80% de los 58 millones de las bacterias existentes por g de suelo, son porcentualmente capaces de solubilizar fosfatos.

TABLA 15

Población de bacterias y hongos en suelos "Trumaos!"

Suelo	Bacterias x 10 ⁶ Por g suelo	Hongos x 10 ⁵ Por g suelo
Puerto Varas c. ¹	17.0	1.7
Puerto Varas s/c ²	24.0	5.5
Malihue c.	52.0	8.7
Malihue s/c	9.3	12.0
Victoria c.	3.9	1.7
Victoria s/c	1.1	0.9
Metrenco c.	9.7	1.3
Corte Alto c.	7.4	1.8
Frutillar	4.0	2.0
Osorno 2 s/c	2.0	2.2
Arrayán 2 s/c	1.3	0.7

1: Suelo bajo cultivo.

2: Suelo sin cultivar.

TABLA 16

Bacterias totales y solubilizadoras de fosfatos orgánicos e inorgánicos en suelos "Trumaos".

Suelo	Bacterias x 10 ⁶ por g suelo	Solubilizadoras de P-org.(%)	Solubilizadoras P-inorg.(%)
Lican Ray c. ¹	20.0	16	16
Lican Ray s/c ²	30.4	25	20
Purranque c.	30.0	33	33
Purranque s/c	65.8	13	12
Río Bueno c.	2.5	10	5
Río Bueno s/c	22.3	10	<5
Victoria Púa c.	10.0	20	<5
Victoria Púa s/c	14.2	20	<5
Osorno c.	55.7	25	<5
Osorno s/c	58.0	80	80
Corte Alto s/c	12.2	20	<5
Lastarria s/c	6.5	10	<5
Arrayán s/c	1.1	20	<5
Puerto Octay s/c	3.0	<5	<5
Metrenco s/c	3.0	<5	<5

1: Suelo bajo cultivo.

2: Suelo sin cultivar

TABLA 17

Hongos totales y solubilizadores de fosfatos orgánicos e inorgánicos en suelos "Trumaos".

Suelo	Hongos x 10 ⁵ Por g suelo	Solubilizadores P-org. (%)	Solubilizadores P-inorg. (%)
Lican Ray c. ¹	60.0	33	35
Lican Ray s/c ²	22.2	7	10
Purranque c.	21.5	65	45
Purranque s/c	7.0	7	< 5
Río Bueno c.	20.3	20	15
Río Bueno s/c	40.8	10	5
Victoria Púa c.	3.0	25	25
Victoria Púa s/c	3.1	50	30
Osorno c.	50.0	60	< 5
Osorno s/c	34.6	30	60
Corte Alto s/c	25.2	33	< 5
Lastarria s/c	5.5	66	< 5
Metrenco s/c	1.8	80	60
Arrayán s/c	1.7	50	50
Puerto Octay s/c	3.5	< 5	< 5

1: Suelo bajo cultivo.

2: Suelo sin cultivar

Los resultados de cuantificar el número de esporas e identificación de los tipos (Mosse y Bowen, 1968) o especies (Gerdemann y Trappe, 1974) de hongos VA en los diferentes suelos Trumaos estudiados, se resumen en las Tablas 19 a 26.

Se deduce que los hongos VA estaban presentes como esporas de resistencia (18-210 esporas por 100 g de suelo) y como típica infección en raíces (3-69% de infección del cortex de la raíz) en todos los sitios examinados (Tabla 18). No se encontró relación aparente entre el porcentaje de infección por micorizas VA, número de esporas, vegetación y contenido de P disponible en los diferentes sitios examinados. Identificadas de acuerdo con la semejanza en caracteres morfológicos de especies conocidas, se encontró que en la mayor parte de los suelos la espora predominante fué Glomus sp. aunque en algunos suelos examinados también se encontró como predominante Acaulospora laevis.

TABLA 18

Presencia de propágulos de micorrizas VA en suelos "Trumaos" bajo cultivo y sin cultivar.

Suelo	Esporas por 100 g suelo	Espora predominante (Gerdemann-Trappe)	Infección (% Raíz)
Río Bueno c. ¹	85	Glomus macrocarpus	23
Río Bueno s/c ²	165	Glomus macrocarpus	50
Purranque c.	88	Glomus	68
Purranque s/c	106	Glomus	69
Lican Ray c.	130	Glomus	64
Lican Ray s/c	91	Acaulospora laevis	67
Victoria c.	51	Glomus macrocarpus	31
Victoria s/c	66	Glomus macrocarpus	41
Las Quemadas c.	210	Glomus	26
Las Quemadas s/c	160	Glomus mosseae	24
La Unión c.	112	Glomus mosseae	39
La Unión s/c	126	Glomus	17
Frutillar	105	Acaulospora laevis	53
Osorno	121	Glomus macrocarpus	29
Corte Alto	84	Glomus mosseae	16
Metrenco	52	Glomus	4
Arrayán	39	No identificadas	6
Lastarria	18	No identificadas	3

¹c : Suelo bajo cultivo.

²s/c: Suelo sin cultivar

TABLA 19

Identificación de esporas de hongos de las micorrizas VA en suelos de la serie Purranque.

Mosse-Bowen ¹	Gerdemann-Trappe ²	Esporas ³ (%)	Otras características
<u>Cultivado</u>			
Honey coloured	Acaulospora laevis	5	Micelio abundante
Laminate	Glomus macrocarpus	5	
White reticulate		13	
	Gigaspora margarita	9	
	Glomus sp	45	
No identificadas		23	
<u>Sin cultivar</u>			
Honey coloured	Acaulospora laevis	36	Micelio abundante
Laminate	Glomus macrocarpus	8	
	Gigaspora calospora?	2	
	Glomus sp	42	
No identificadas		12	

1: Mosse y Bowen(1968).

2: Gerdemann-Trappe(1974).

3: % con respecto al total de esporas.

TABLA 20

Identificación de esporas de hongos de las micorrizas VA en suelos de la serie Lican Ray.

Mosse-Bowen ¹	Gerdemann-Trappe ²	Esporas ³ (%)	Otras características
<u>Cultivado</u>			
Laminate	Glomus macrocarpus	40	Restos de esporocarpos
	Glomus sp	50	Micelio abundante
No identificadas		10	
<u>Sin cultivar</u>			
Laminate	Glomus macrocarpus	29	Micelio moderado
Honey coloured	Acaulospora laevis	29	
No identificadas		48	

1: Mosse-Bowen(1968)

2 : Gerdemann-Trappe(1974)

3: % con respecto al total de esporas.

TABLA 21

Identificación de esporas de hongos de las micorrizas VA en suelos de la serie Victoria.

Mosse-Bowen ¹	Gerdemann-Trappe ²	Esporas ³ (%)	Otras características
<u>Cultivado</u>			
	Glomus sp	14	Abundante micelio
Laminate	Glomus macrocarpus	58	
Honey coloured	Acaulospora laevis	14	
No identificadas		14	
<u>Sin cultivar</u>			
Laminate	Glomus macrocarpus	27	Abundante micelio
	Glomus sp	9	
	Gigaspora	19	
Yellow vacuolate	Glomus mosseae	9	
E ₃ (Gilmore,1968)	Glomus fasciculatus	9	
No identificadas		27	

1: Mosse-Bowen(1968).

2: Gerdemann-Trappe(1974).

3: % con respecto al total de esporas.

TABLA 22

Identificación de esporas de hongos de las micorrizas VA en suelos de la serie Las Quemadas.

Mosse-Bowen ¹	Gerdemann-Trappe ²	Esporas ³ (%)	Otras características
<u>Cultivado</u>			
White reticulate		27	Abundante micelio
	Glomus sp	30	Esporocarpos activos
Yellow vacuolate	Glomus mosseae	3	
E ₃ (Gilmore, 1968)	Glomus fasciculatus	3	
No identificadas		37	
<u>Sin cultivar</u>			
Honey coloured	Acaulospora laevis	4	Micelio moderado
Yellow vacuolate	Glomus mosseae	18	Restos de esporas
	Glomus sp	13	
White reticulate		9	
No identificadas		56	

1: Mosse-Bowen(1968).

2: Gerdemann-Trappe(1974).

3: % con respecto al total de esporas.

TABLA 23

Identificación de esporas de hongos de las micorrizas VA en suelos de la serie La Unión.

Mosse-Bowen ¹	Gerdemann-Trappe ²	Esporas ³ (%)	Otras características
<u>Cultivado</u>			
Yellow vacuolate?	Glomus mosseae	19	Abundante micelio
	Glomus sp	19	Restos de esporocarpos
Honey coloured	Acaulospora laevis	6	
White reticulate		6	
No identificadas		50	
<u>Sin cultivar</u>			
Honey coloured	Acaulospora laevis	11	Abundante micelio
Yellow vacuolate?	Glomus mosseae	11	Restos de esporas
R.B. Lamineate	Glomus macrocarpus	11	Restos de esporocarpos
	Glomus microcarpus?	11	
No identificadas		56	

1: Mosse-Bowen(1968).

2: Gerdemann-Trappe(1974).

3: % con respecto al total de esporas.

TABLA 24

Identificación de esporas de hongos de las micorrizas VA en suelos de la serie Río Bueno.

Mosse-Bowen ¹	Gerdemann-Trappe ²	Esporas ³ (%)	Otras características
<u>Cultivado</u>			
Laminate	Glomus macrocarpus	49	Micelio abundante
	Glomus sp	5	
	Gigaspora margarita?	6	
White reticulate		12	
Honey coloured	Acaulospora laevis	6	
E ₃ (Gilmore, 1968)	Glomus fasciculatus	5	
No identificadas		17	
<u>Sin cultivar</u>			
Laminate	Glomus macrocarpus	68	Micelio abundante
	Gigaspora margarita	9	
White reticulate		5	
No identificadas		18	

¹: Mosse-Bowen(1968).

²: Gerdemann-Trappe(1974).

³: % con respecto al total de esporas.

TABLA 25

Identificación de esporas de hongos de las micorrizas VA en suelos sin cultivar de las series Frutillar y Osorno.

Mosse-Bowen ¹	Gerdemann-Trappe ²	Esporas ³ (%)	Otras características
<u>Frutillar</u>			
Laminate	Glomus macrocarpus	27	Restos de esporocarpos
	Glomus sp	13	Abundante micelio
	Gigaspora	13	
Honey coloured	Acaulospora laevis	40	
No identificadas		7	
<u>Osorno</u>			
Laminate	Glomus macrocarpus	76	Abundante micelio
	Glomus sp	6	
White reticulate		6	
No identificadas		12	

1: Mosse-Bowen(1968).

2: Gerdemann-Trappe(1974).

3: % con respecto al total de esporas.

TABLA 26

Identificación de esporas de hongos de las micorrizas VA en suelos sin cultivar de las series Corte Alto, Metrenco, Arrayán y Lastarria.

Mosse-Bowen ¹	Gerdemann-Trappe ²	Esporas ³ (%)	Otras características
<u>Corte Alto</u>			
Yellow vacuolate	Glomus mosseae	20	Micelio moderado
	Glomus sp	24	
No identificadas		46	
<u>Metrenco</u>			
Honey coloured	Acaulospora laevis	25	Micelio escaso
	Glomus sp	48	
No identificadas		26	
<u>Arrayán</u>			
No identificadas		100	Escaso micelio
<u>Lastarria</u>			
No identificadas		100	Abundante micelio

1: Mosse-Bowen(1968).

2: Gerdemann-Trappe(1974).

3: % con respecto al total de esporas.

Los datos correspondientes al 2º grupo de ensayos con microorganismos del ciclo del P se recogen en las Tablas 27 a 32, ambas inclusive. Como se recordará (ver Material y Métodos) el objeto de este grupo de estudios es investigar las interacciones de endofitos VA y fosfobacterias de colección con microorganismos indígenas y fertilizantes químicos, sobre el crecimiento y nutrición de las plantas en un suelo Trumao típico.

Los resultados de Tabla 27 se refieren al efecto sobre el crecimiento de plantas de trigo, en suelo "parcialmente estéril", de esporas típicas procedentes de la colección de la Estación Experimental de Rothamsted (Inglaterra). Es evidente la ausencia de efecto de la inoculación de estas esporas sin adicionar fertilizante. En presencia de, solamente, una dosis equivalente a 20 Kg de P_2O_5 /ha tiene lugar un efecto significativo de la inoculación de los tipos de espora "Yellow vacuolate" y "Laminate". Es obvio que el control "no estéril", que se diferencia del control "estéril" solamente en que el primero posee los endofitos VA naturales, tuvo un claro efecto positivo en la estimulación del crecimiento de las plantas, efecto más acusado, en presencia de la dosis subagronómica de fosfato.

Los resultados de Tabla 28, referentes a micorrización, están de acuerdo con los de crecimiento de las plantas (Tabla 27). Es de destacar la ausencia de infección en el caso de inoculación con esporas de los tipos "Honey coloured" y E₃, así como la infección VA que los endofitos nativos provocaron de forma adecuada.

TABLA 27

Efecto de distintos "tipos de espora" de colección sobre el crecimiento de plantas de trigo en suelo Trumao (Osorno).

"Tipo de espora" ¹	Cosecha (mg/maceta) ²	
	Sin fertilizante	20 Kg P ₂ O ₅ /ha
Control ³	330 ± 35	410 ± 43
"Yellow vacuolate"	341 ± 32	540 ± 50
"Laminate"	375 ± 40	530 ± 51
"Honey coloured"	338 ± 35	383 ± 41
"E ₃ "	365 ± 41	428 ± 40
Control no estéril	515 ± 61	824 ± 79

1: Se mantienen las denominaciones originales de Mosse y Bowen(1968).

El tipo E₃ corresponde a Gilmore(1968).

2: Los datos se refieren a peso seco de parte aérea (3 plantas/maceta).

3: Posee la microflora nativa excepto hongos VA.

TABLA 28

Efecto de los distintos "tipos de esporas" de colección sobre la micorrización de plantas de trigo en suelo Trumao (Osorno).

"Tipo de espora" ¹	Micorrización (Incidencia %)	
	Sin fertilizante	20 Kg P ₂ O ₅ /ha
Control ²		
"Yellow vacuolate"	19 ± 2	63 ± 7
"Laminate"	17 ± 2	45 ± 5
"Honey coloured"		
"E ₃ "		
Control no estéril	87 ± 5	85 ± 7

1: Se mantienen las denominaciones originales de Mosse y Bowen(1968).

El tipo E₃ corresponde a Gilmore (1968).

2: Posee la microflora nativa excepto los hongos VA.

A la vista del claro efecto de los en dofitos nativos y la influencia de los fertilizantes químicos se decidió a investigar la interacción de estos factores entre sí y con la inoculación del tipo de espora "Yellow vacuolate". Se investigó así mismo el efecto de la inoculación de una bacteria solubilizadora de fosfatos y capaz, a su vez, de producir fitohormonas.

El efecto sobre el crecimiento de las plantas como consecuencia de la interacción de los factores aludidos se resume en Tablas 29 y 31 mientras que los datos de micorrización se expone en Tablas 30 y 32.

La Tabla 29 corresponde al crecimen to de las plantas y captación de P en la primera cosecha. Es evidente la ausencia de efectos que, de manera significativa, superen al del control respectivo, aunque el tratamiento YV+ Pb, en el que concurren microorganismos nativos e introducidos (hongos VA y solubilizadores de fosfato), producen un incremento apreciable del crecimiento, con respecto al control, que solo posee microorganismos nativos.

Se pone de manifiesto (Tabla 30) que la fosfobacteria facilita la formación de la micorriza, aunque este efecto, aún no se traduce en el crecimiento (Tabla 29) probablemente por falta de tiempo, ya que la cosecha se practicó a los 30 días de la siembra.

TABLA 29

Efectos de la inoculación de micorrizas(YV) y fosfobacterias de colección sobre el crecimiento y captación de P por plantas de trigo en suelo Osorno (1ª cosecha, 30 días de cultivo) no esterilizado.

Tratamientos	Sin fertilizante químico.		150 Kg P ₂ O ₅ /ha como fitato	
	Peso seco ¹ mg/maceta	P ² %	Peso seco ¹ mg/maceta	P ² %
Control	832 ± 79	0.076	900 ± 87	0.074
Micorriza (YV)	806 ± 85	0.075	996 ± 85	0.073
Fosfobacteria (Pb)	871 ± 70	0.072	978 ± 91	0.085
YV + Pb	911 ± 73	0.078	1.059 ± 90	0.073

¹: Corresponden a parte aérea de las plantas (6 plantas/maceta).

²: Contenido en P de parte aérea de las plantas.

TABLA 30

Efecto de la inoculación de una fosfobacteria productora de fitohormonas sobre la micorrización de plantas de trigo inoculadas con micorriza YV en suelo Osorno (1ª cosecha, 30 días. Ref. Tabla 29).

Tratamientos microbianos	Sin fertilizante químico		150 Kg P ₂ O ₅ /ha como fitato	
	Incidencia %	Extensión %	Incidencia %	Extensión %
Micorriza (YV)	20 ± 1.3	15 ± 1.4	20 ± 1.8	20 ± 2.1
YV + Fosfobacteria	30 ± 2.5	30 ± 3.2	40 ± 3.5	35 ± 3.9

Los datos de segunda cosecha se muestran en Tablas 31 y 32, correspondiendo la primera a crecimiento y captación de P y la segunda a micorrización. Es patente el hecho de que la inoculación con YV refuerza de forma significativa la acción de los endofitos nativos (YV vs control: YV+ Pb vs Pb), tanto sin adicionar fertilizante como en el caso de agregar fitato. La adición de este fosfato, difícilmente utilizable por la planta, estimuló el crecimiento vegetal, probablemente por acción de los microorganismos. Las fosfobacterias estimulan el establecimiento de la micorriza (Tabla 32) y sus efectos (Tabla 31). Es patente el incremento en el % de P provocado por la micorrización, en ausencia de fertilizante (Tabla 31).

Los resultados obtenidos en estos ensayos sugieren investigar más a fondo la acción de los endofitos VA nativos, y la repercusión de la utilización de inóculos obtenidos con ellos en el crecimiento de las plantas y recuperación de fertilizantes fosforados acumulados o recién adicionados a los suelos.

TABLA 31

Efectos de la inoculación de micorrizas (YV) y fosfobacterias de colección sobre el crecimiento y captación de P por plantas de trigo en suelo Osorno natural -no esterilizado- (2ª cosecha, 60 días de cultivo).

Tratamientos	Sin fertilizante químico		150 Kg P ₂ O ₅ /ha como fitato	
	Peso seco ¹ mg/maceta	P ² %	Peso seco ¹ mg/maceta	P ² %
Control	1.127 ± 120	0.14	1.552 ± 140	0.18
Micorriza (YV)	1.605 ± 130	0.19	1.811 ± 175	0.18
Fosfobacteria(Pb)	1.236 ± 115	0.16	1.924 ± 187	0.18
YV + Pb	1.479 ± 157	0.18	2.303 ± 190	0.19

1: Corresponden a parte aérea de las plantas (6 plantas/maceta).

2: Contenido en P de parte aérea de las plantas.

TABLA 32

Efecto de la inoculación de una fosfobacteria productora de fitohormonas sobre la micorrización de plantas de trigo inoculadas con micorriza YV en suelo Osorno (2ª cosecha, 60 días. Ref. Tabla 31).

Tratamientos microbianos	Sin fertilizante químico		150 Kg P ₂ O ₅ /ha como fitato	
	Incidencia %	Extensión %	Incidencia %	Extensión %
Micorriza (YV)	40 ± 3.2	20 ± 2.1	40 ± 5.3	40 ± 6.1
YV + Fosfobacteria	70 ± 6.9	40 ± 5.1	90 ± 8.2	40 ± 3.9

Para evaluar el efecto de los hongos de las micorrizas VA nativos, se diseñaron una serie de ensayos que se conjuntan en el tercer grupo de estudios de inoculación de microorganismos. Estos ensayos se recogen en las Tablas 33 a 37, ambas inclusive. Como se recordará (ver Material y Métodos), el objeto de estos estudios es investigar la interacción de los hongos de la micorriza VA nativos y los fertilizantes químicos, contrastándose el resultado de tales interacciones tanto en lo referente a la formación de la micorriza en plantas de trigo, como en la estimulación del crecimiento de dichas plantas, cultivadas en el suelo Trumao seleccionado (Osorno).

Las Tablas 33 y 34 corresponden al primer ensayo de este grupo. Las diferencias en cosecha, para cada nivel de fosfato adicionado, entre suelo no estéril y "estéril" es bien indicativa (y estadísticamente significativa) de la influencia de los hongos VA indígenas (Tabla 33). Es notorio el efecto de las micorrizas en el caso del control no fertilizado: multiplicaron la cosecha por 6; y en el nivel más bajo de fosfato: multiplicaron la cosecha por 4. En los restantes tratamientos, duplicaron la cosecha.

Las dosis más bajas de fosfato adicionado, equivalente a 100 Kg de P_2O_5 /ha, estimuló el proceso de micorrización (Tabla 34), probablemente, porque las plantas estaban fisiológicamente más adecuadas para formar, desarrollar y establecer la simbiosis VA. Dosis superiores de fosfato hacen disminuir el grado de micorrización.

Queda demostrado de forma patente que las micorrizas nativas desempeñan un papel importante en el crecimiento de las plantas en estos suelos, y que dosis moderadas de fosfato interaccionan muy positivamente con los hongos formadores de micorrizas VA naturalmente existente en este suelo Trumao.

TABLA 33

Evaluación de la eficacia de las micorrizas naturales del suelo Osorno en interacción con fertilizantes químicos.

Fertilizante (Kg de P ₂ O ₅ /ha	Cosecha (mg/maceta) ²	
	Suelo "estéril" ¹	Suelo no estéril
Control no fertilizado	350 ± 33	1.820 ± 208
100	830 ± 79	3.240 ± 345
300	2.340 ± 294	4.330 ± 410
600	2.550 ± 271	5.730 ± 329

1: Suelo "estéril", es el suelo desprovisto de propágulos de Endogonaceae aunque posee los demás microorganismos (ver Material y Métodos).

2: Los datos se refieren a Peso seco de parte aérea (6 plantas/maceta).

TABLA 34

Efecto de los fertilizantes fosforados sobre la infectividad (micorizas VA naturales) del suelo Osorno.

Fertilizante (Kg P ₂ O ₅ /ha)	Grado de micorrización ¹	
	Incidencia (%)	Extensión (%)
Control no fertilizado	53.3 ± 4.9	19.3 ± 2.1
100	83.3 ± 7.6	31.0 ± 3.1
300	63.3 ± 7.5	30.3 ± 2.6
600	57.3 ± 5.0	21.0 ± 2.5

¹: Se trata del nivel de micorrización que alcanzaron las plantas de trigo, crecidas durante dos meses en invernadero.

Teniendo en cuenta el potencial infeccioso natural del suelo Osorno, se procedió a obtener plantas micorrizadas con endofito natural, para poder adicionar tal micorriza como inóculo masivo en posteriores ensayos. Los resultados de valorar la efectividad de tales inóculos, obtenidos en raíces de cebolla y trigo se recogen en Tablas 35 y 36 que resumen, respectivamente, los datos obtenidos con los cultivares SNA-79 y Aurifén-79 de trigo (como planta de prueba). Estos datos indican que el inóculo obtenido en plantas de cebolla es más efectivo que el obtenido con plantas de trigo, y que el cultivar de trigo, como planta de prueba, más idóneo es el SNA-79. Es obvio que los hongos VA contenidos en el inóculo de cebolla cooperarán, aditivamente, con los nativos del suelo (de los cuales proviene el inóculo aludido)(Tabla 37).

TABLA 35

Evaluación de la infectividad de inóculos de micorriza preparados con endofitos nativos sobre el crecimiento de plantas de trigo SNA-79 y su interacción con los endofitos naturales del suelo Osorno.

Tipo de micorriza	Cosecha (mg/maceta) ²	
	Suelo "estéril" ¹	Suelo no estéril
Control	300 ± 29	395 ± 40
Micorriza de cebolla	475 ± 35	573 ± 67
Micorriza de trigo	272 ± 29	423 ± 37

¹: Suelo "estéril", es el suelo desprovisto de propágulos de *Endogona* *ceae* aunque posee los demás microorganismos (ver Material y Métodos)

²: Los datos se refieren a Peso seco de parte aérea (3 plantas/maceta).

TABLA 36

Evaluación de la infectividad de inóculos de micorriza preparados con endofitos nativos sobre el crecimiento de plantas de trigo Aurifén-79 y su interacción con los endofitos naturales del suelo Osorno.

Tipo de micorriza	Cosecha (mg/maceta) ²	
	Suelo "estéril" ¹	Suelo no estéril
Control	275 ± 26	370 ± 35
Micorriza de cebolla	395 ± 39	508 ± 47
Micorriza de trigo	424 ± 50	427 ± 39

¹: Suelo "estéril", es el suelo desprovisto de propágulos de Endogonaceae aunque posee los demás microorganismos (ver Material y Métodos).

²: Los datos se refieren a Peso seco de parte aérea (3 plantas/maceta).

TABLA 37

Incrementos en el crecimiento de plantas de trigo producidos por los endofitos presentes en suelo Osorno y los inoculados (Micorriza de cebolla) (Referencia a Tablas 35 y 36).

Efecto de los endofitos VA	% de incremento sobre el control en cosecha	
	SNA-79	Aurifén-79
1) Endofito en suelo ($C_{no\ est.}$ vs $C_{est.}$)	31.6	34.5
2) Inoculados ($M_{est.}$ vs $C_{est.}$)	58.3	43.6
Endofitos presentes inoculados:		
Calculado (1+2)	89.9	78.1
Experimental	91.0	84.7

C : Suelo control.

M : Suelo micorrizado.

no est. : Suelo no estéril.

Est. : Suelo parcialmente estéril.

Finalmente, la Tabla 38 muestra los resultados de la interacción del inóculo de micorriza preparado con inóculo nativo y fertilizantes químicos en presencia y ausencia de endofitos propios del suelo Osorno. Es indudable que la inoculación con micorrizas incrementa la cosecha, con respecto al efecto de los endofitos nativos presentes, a todos los niveles ensayados. Este efecto es significativo a dosis moderadas de fertilizante. Queda de manifiesto, un papel decisivo de la micorrización en la estimulación del crecimiento de las plantas y en la recuperación del fertilizante fosforado adicionado a este suelo.

TABLA 38

Efectos de la interacción de endofitos VA naturales, inoculados y fertilizantes químicos sobre el crecimiento de plantas de trigo (SNA-79) en suelo Osorno.

Fertilizante (Kg de P_2O_5 /ha)	Cosecha (mg/planta) ¹	
	Control ²	Micorriza ³
Control no fertilizado	372 ± 40	490 ± 47
100	560 ± 59	742 ± 81
300	900 ± 87	1.020 ± 91

¹: Peso seco de parte aérea (3 plantas/maceta).

²: Endofitos naturales.

³: Endofitos naturales + inoculados.

VI.- DISCUSION

VI.- DISCUSION

Es un hecho incuestionable que la mayor parte de las investigaciones llevadas a cabo referentes al problema del P en los suelos Trumaos, se han centrado casi exclusivamente sobre los aspectos físico-químicos que gobiernan su dinámica, relegando a un segundo plano el estudio de los fenómenos bioquímicos que la afectan. Sin embargo, con el devenir de los años y el avance de otras ramas de la ciencia que conforman las llamadas Ciencias del Suelo, se ha llegado al convencimiento de que se hace necesario, además, abordar el problema desde otro punto de vista, el biológico, con el fin de tener una perspectiva más amplia. Cuestiones tan importantes como el determinar la o las formas bajo las cuales se acumula el P en andosoles sin cultivar como también en los que han sido sometidos a fertilización fosfatada, o el estudio de la acción de los microorganismos de vida libre y simbiótica en el aprovechamiento del P o el efecto de la mineralización de la materia orgánica sobre el movimiento del P, son interrogantes a las cuales se tratará de responder en el presente estudio y discutir a la luz de los resultados obtenidos.

El primer estudio básico que se estima necesario abordar es el problema de la acumulación de P, o como dicen otros autores, el problema del "P residual", proveniente de las sucesivas fertilizaciones. Partiendo del supuesto que el material parental es edáficamente similar en los suelos sin cultivar y bajo cultivo, se puede deducir que las diferencias en P total obtenidas se deberían exclusivamente a efectos de los fertilizantes.

Al observar la Tabla 5 se concluye que el contenido en fosfato residual es notoriamente elevado en algunos suelos, concretamente, en Metrenco y Loncoche, toda vez que Volke (1973) apunta como fertilización fosfatada óptima para el trigo en algunos andosoles del Sur de Chile entre 70 a 90 Kg de P/ha por cosecha. La preocupación mundial del problema del fósforo residual y su eventual aprovechamiento se ha visto reflejado en numerosas publicaciones, siendo relevantes, en el último tiempo, las de Larsen(1976) e Hilford (1976).

Una vez conocido el "status" de P en los suelos bajo estudio y su acusada acumulación en algunos de ellos, cabría preguntarse la forma bajo la cual se encuentra dicho elemento. Se estudió el contenido de P orgánico en ellos partiendo del conocimiento que durante el desarrollo y mantención de los suelos hay generalmente adición, en cuantía variable, de materiales orgánicos cuyo origen puede ser vegetal, animal y microbiológico y de los informes de algunos estudios que indican la rápida transformación del fertilizante fosforado inorgánico en formas orgánicas de P. Como un tercer elemento de juicio está el hecho de que últimamente ha habido un considerable aumento en el interés del conocimiento del P orgánico como fuente potencial de P disponible.

Los resultados de este estudio indican la existencia de un contenido en P orgánico superior al 50% en todos los suelos de acuerdo con el método de Steward y Oades (1972), y cantidades sensiblemente inferiores mediante el método de Mehta et al., (1954), método que es utilizado normalmente como de "referencia" (Saunders y Williams, 1955; Anderson, 1960; Mac Lean, 1965; Bornemisza e Igue, 1967). En efecto, se ha comprobado que ácidos y álcalis concentrados y durante prolongado tiempo de contacto producen hidrólisis de ésteres fosfóricos (Anderson, 1967) y rupturas de enlaces en los fosfatos órgano-minerales (Lévesque, 1969; Sinha, 1971; Kowalenko, 1978). Así, Anderson (1967) señala que los ácidos nucleicos se hidrolizan fácilmente en medio ácido y alcalino. Por otra parte, el inositol fosfato sufre hidrólisis del 47% y 35% cuando se les somete durante 6 horas a calentamiento con $\text{ClH } 5\text{N}$ y $\text{SO}_4\text{H}_2 \text{ } 5\text{N}$, respectivamente (Anderson, 1967). Bornemisza e Igue (1967) informan haber obtenido un promedio de 13.5% de hidrólisis utilizando fitina como patrón interno en la determinación de P orgánico en suelos de Costa Rica por el método de Mehta et al.

Estos antecedentes, conjuntamente con el efecto hidrolítico observado en los inositol fosfatos de Ca, Fe y Al al utilizar la técnica de Mehta et al. (Tabla 7) permiten descartar lo como método útil en este tipo de andosoles, toda vez que la dispersión ultrasónica con NaOH provoca un acceso inmediato del reactivo al interior de la arcilla solubilizando en forma rápida y sencilla la materia orgánica asociada al coloide inorgánico. De otro lado, Pérez Méndez et al. (1979), en un estudio comparativo entre diversos métodos para determinar P orgánico, encontraron que el método de Steward y Oades proporcionó los resultados más satisfactorios sobre andosoles de las Islas Canarias.

Una vez puesto de manifiesto el efecto hidrolítico que pueden provocar tanto ácidos como álcalis concentrados, se hace necesario hacer una crítica con respecto al fraccionamiento clásico del P inorgánico mediante la técnica de Chang y Jackson (1957). En efecto, la determinación de la fracción del P unido al Fe se efectúa mediante la extracción con NaOH, seguida por coagulación de los ácidos húmicos mediante SO_4H_2 concentrado y valoración posterior del P inorgánico en el sobrenadante. Podría suceder, por lo tanto, que estos reactivos tuviesen algún efecto hidrolítico sobre el P orgánico obteniendo un error por exceso en la determinación de esta fracción en suelos con alto contenido en materia orgánica, como son los suelos alófanicos. Por ello, en el método de Steward y Oades (1972), la coagulación de los ácidos húmicos se realiza bajando el pH cuidadosamente hasta pH₂ con SO_4H_2 diluido con el fin de minimizar la hidrólisis (Ver Tabla 7).

Llegado a este punto y antes de comentar con más profundidad los estudios relativos al contenido en P orgánico de los suelos en estudio, se hace necesario aclarar que en adelante se entenderá como P orgánico todo aquel P unido a la materia orgánica aunque estructuralmente no tenga una composición definida, como es el caso de los inositol fosfatos, fosfolípidos o ácidos nucleicos.

De acuerdo al análisis de las Tablas 5 y 6, se puede decir que gran parte del P inorgánico agregado como fertilizantes a estos suelos se ha ido acumulando a través de los años como P orgánico especialmente en los suelos Metrenco, Río Bueno, Victoria y Lican Ray. Estos resultados concuerdan con los estudios de Rixon (1966) que indican que entre 82 al 100% del fertilizante inorgánico agregado en dosis de 172 Kg/ha a praderas de regadío se transformó en corto tiempo en P orgánico. Por otra parte, Blair et al. (1976), mediante estudios con trazadores han demostrado una rápida incorporación del P del superfosfato en formas orgánicas en suelos

de pradera, concretamente, una transformación del 28% a los siete días y 40% después de 28 días.

No se observó correlación entre P total y P orgánico, lo cual concuerda con las apreciaciones de Bornemiza e Igue (1967). Sin embargo, se obtuvo una correlación altamente significativa entre el contenido de C orgánico y P orgánico (0.954, $P < 0.001$) lo cual está indicando una acumulación del P sobre la materia orgánica mediante algún tipo de interacción desconocida. La información que se posee hasta el momento demuestra que la mitad o más del P orgánico en la mayor parte de los suelos no se ha logrado identificar. Varios investigadores (Halstead y Anderson, 1970; Omotoso y Wild, 1970; Steward y Tate, 1971; Anderson y Malcolm, 1974; Tinsley y Oszavasci, 1974) han informado haber separado cantidades significativas de formas orgánicas de P pero no han logrado dilucidar si es uno o varios compuestos similares o bien se trata de artefactos producidos por las técnicas utilizadas.

Se ha sugerido que no todo el P orgánico está íntimamente asociado a la materia orgánica debido a la facilidad de extraerlo en comparación con el C y el N (Kowalenko, 1978). Por otra parte, las estructuras teóricas de los ácidos húmicos y fúlvicos no contienen P (Schnitzer, 1978) aunque algunos autores sostienen que se exceptúan los suelos alofánicos (Fares et al., 1974). Sin embargo, parece ser que se forman complejos estables entre las arcillas, materia orgánica y fosfato; así, Dormaar (1963) sugiere que parte del Al activo en suelos está asociado con una parte relativamente uniforme de materia orgánica en forma de complejos que son activos en la retención de P. Por su parte, Veinot y Thomas (1972) demostró la existencia de una forma orgánica de P de alto peso molecular estabilizada a través de Fe y Al y, más recientemente, Wada y Gunjigake (1980), postulan que la adsorción de P en horizontes

superficiales de andosoles está gobernada por el contenido de Fe y Al, ambos unidos al humus, y en horizontes más profundos por la presencia de alofana e imogolita. Appelt (1975) estudiando las características adsorptivas hacia el P de ácidos húmicos y fúlvicos extraídos de suelos Trumaos, postula que las interacciones ácidos húmicos-alofana pueden explicarse por interacciones partícula-partícula y formación de complejos estables entre AH y iones Al extraídos de la alofana y que dichos complejos serían muy reactivos con respecto a la adsorción de P.

Con el fin de tener una idea global de la distribución del P en el seno de la materia orgánica se realizó la determinación del P asociado a las fracciones húmicas y fúlvicas. Los resultados indican la predominancia del P-húmico sobre el P-fúlvico en 16 de los 17 suelos estudiados, efecto que está de acuerdo con los resultados obtenidos por Baker (1977) en suelos de Nueva Zelanda. Por su parte, Somani y Saxena (1977), en suelos de la India, encontraron que la relación P-húmico/P-fúlvico fluctuaba entre 0.43 y 5.78. De otro lado, Fares et al.(1974) y Gutiérrez et al.(1979) describen que el P-fúlvico es mayoritario en los andosoles que ellos estudiaron.

En este aspecto, los resultados contradictorios que se informan se deben, a nuestro juicio, entre otros, a dos tipos de problemas: la edad del suelo y los métodos analíticos utilizados para la extracción del P orgánico. En efecto, Baker (1976), indica que la naturaleza química del P orgánico cambia durante la pedogénesis y que tanto el P-húmico como los fosfolípidos e inositol fosfatos siguen la dirección del P orgánico. De otro lado, extractantes suaves de la materia orgánica utilizados por algunos autores (Fares et al.,1974; Hong y Yamane,1980), no son capaces de extraer totalmente los ácidos húmicos desde los complejos órgano-minerales del suelo; de ahí la importancia del ultrasonido como coadyuvante de los métodos

de extracción al permitir la ruptura de uniones físicas involucradas. No obstante, se hace necesario profundizar más en los estudios relacionados con la extracción más real y menos drástica posible del P orgánico a fin de sacar conclusiones valederas en lo concerniente a la dinámica de este elemento en suelos.

Por último, la relación C:P de un compuesto orgánico fosforado puede orientar, en términos globales, sobre el peso molecular del mismo; así, la relación C:P es del orden de 4, 20 y 10 para inositol fosfatos, fosfolípidos y ácidos nucleicos, respectivamente, y que son las formas orgánicas fosforadas más comunes encontradas en suelos. Los ácidos nucleicos no representan un porcentaje superior al 3% del total del P orgánico (Cosgrove, 1977; Dalal, 1977; Kowalenko, 1978) y por el origen microbiano de los mismos, no cabría esperar en los andosoles una cantidad muy diferente. Por otra parte, los fosfolípidos representan en estos suelos un porcentaje ínfimo y se discutirán con mayor profundidad más adelante. Los valores obtenidos en Tabla 9 sobre la relación C:P de los ácidos húmicos sugieren que las formas orgánicas encontradas serían compuestos fosforados de relativamente elevado peso molecular. Esto podría estar indicando que la acumulación del P podría deberse a las fuertes interacciones del fosfato con los complejos órgano-metálicos de estos suelos (Appelt, 1975) o a una acumulación de inositol fosfatos sobre las arcillas, como lo demostrara Anderson et al. (1974) o a una combinación de ambos mecanismos. No obstante, dadas las características de estas formas orgánicas de P y en especial su cuantía, hacen aconsejable continuar profundizando su estudio tanto desde el punto de vista de su origen como de su estabilidad.

Fósforo lipídico en suelos Trumaos

Si se expresa como porcentaje el contenido de lípidos totales extraídos por el método de Bligh y Dyer (1959) de los horizontes superficiales de suelos Trumaos, éstos varían entre 0.11 y 0.38%. Aunque los métodos de extracción no son estrictamente comparables, estos valores concuerdan con los de Fridland (1976), que cita que el contenido de lípidos en el horizonte A₁ de la mayor parte de los suelos rusos varían entre 0.06 y 1.4%, siendo lo más común 0.2 a 0.5%. Por otra parte, Chae y Lowe (1980), utilizando el mismo extractante sobre suelos con similares contenidos en C orgánico y P total describen valores entre 0.06 y 0.38%. Sin embargo, no se encuentran correlaciones con C orgánico como postulan Fridland (1976), Kowalenko (1978), Chae y Lowe (1980), ni con pH (Stevenson, 1966). Ello tal vez se deba a que, a pesar de que la mezcla extractante es la utilizada comúnmente en la extracción de lípidos desde sistemas biológicos, las fuertes interacciones con los coloides orgánicos e inorgánicos del suelo, en especial la alofana, harían incompleta la remoción de estos componentes indicando que ciertos lípidos podrían estar formando parte de formas húmicas altamente estabilizadas. Así, Schnitzer (1978) informa haber encontrado hasta un 10% de ácidos grasos en ácidos húmicos y fúlvicos extraídos del suelo. No obstante, según Kowalenko (1978), los materiales lipídicos se encuentran en el suelo en formas "libres" o formando parte de la biomasa y no como constituyente del humus.

Una cantidad muy pequeña de los lípidos totales se encuentran a la forma de fosfolípidos, concretamente, entre 1.8 y 6.6%, siendo la fosfatidil etanolamina y fosfatidil colina los que se lograron identificar plenamente. Precisamente, estos son los compuestos que informan haber encontrado mayoritariamente en suelos Hance y Anderson (1963) y Kowalenko y McKercher (1971).

De otro lado, Simoneaux y Caldwell (1965) identifican, además, fosfatidil serina.

El contenido de P-lipídico varía entre 1.1 a 7.0 ppm y está dentro del rango descrito en la mayor parte de los suelos minerales, tal como lo demuestra la tabla adjunta.

TABLA 39

Contenido de fosfolípidos de suelos superficiales

Origen	P-lipídico ug/g	% P org.	Referencia ¹
U.R.S.S.	0.6-9.0		Burangulova (1959)
Alemania	5.7-10.1		Wenzel (1961)
Gran Bretaña	3.0-7.0	0.6-0.9	Hance y Anderson (1963)
U.S.A.	0.24-1.70	0.06-1.02	Simoneaux-Caldwell(1965)
Canadá (S.Alberta)	0.32-13	0.1-7.0	Dormaar (1970)
Canadá (Saskat.)	0.6-14.6	0.4-4.6	Kowalenko-McKercher(1971)
Bangladesh	0.5-11.0	0.5-7.0	Islam y Ahmed (1973)
Nueva Zelandia	1.6-2.1		Baker (1975)
Canadá (Columbia Br.)	1.4-11.3	0.19-0.81 ^{&}	Chae y Lowe (1980)
Chile	1.1-7.0	0.06-0.72	Este estudio

¹: Las referencias anotadas pueden extraerse de Kowalenko (1978).

[&]: Pcentaje del P total.

Sin embargo, se hace necesario destacar que las comparaciones no son estrictamente válidas debido a los diferentes sistemas extractantes utilizados. Aunque los lípidos, por definición, son extraídos por solventes orgánicos "ad-hoc", su extracción

desde los tejidos se hace difícil cuando están combinados a otros constituyentes, como proteínas, carbohidratos, etc. Si a ello se agrega que la naturaleza exacta de la mayoría de los lípidos del suelo se ignora, se puede concluir que es imposible predecir el uso del solvente más apropiado a cada suelo. Se ha observado que la extractabilidad de los lípidos disminuye cuando aumenta la cantidad de arcilla (Goring y Bartholomew, 1952) y también se reduce con el secado del suelo, sugiriéndose cambios en los constituyentes ácidos grasos (Hance y Anderson, 1963; Kowalenko y McKercher, 1978).

Entre los ácidos grasos que esterifican al glicerol en los fosfolípidos solamente se logró identificar al ácido palmítico, ácido que apareció mayoritariamente, entre el 30 y 35%; el resto, podría corresponder a ácidos grasos ramificados, cíclicos o hidroxiácidos, propio de restos vegetales. Si esos ácidos grasos pudieran tener origen microbiano o vegetal es imposible de dilucidar a la luz de los resultados. Sin embargo, tal vez sea posible diferenciar el origen de los lípidos a través del fraccionamiento de los lípidos "neutros" que son mayoritarios en estos suelos (sobre el 90% de los lípidos del extracto). Schnitzer (1978) informa haber encontrado ácidos grasos lineares en hidrolizados de ácidos húmicos y fúlvicos, desde C_{14} hasta C_{22} , siendo mayoritarios los ácidos palmítico y esteárico, concretamente, 70 y 15% de los ácidos grasos totales, respectivamente.

Por último, es preciso dejar establecido que si bien es cierto la cantidad de P-lipídico parece ser muy baja en suelos, podría llegar a ser fuente importante de P y C tanto para la planta como para los microorganismos si el ciclado fuera lo suficientemente rápido. Los niveles de P-fosfolipídico cambian durante un período de incubación en laboratorio o durante un período de cosecha (Kowalenko, 1978), sugiriendo su dinamismo en el suelo.

Mineralización de la materia orgánica

La importancia del P orgánico en nutrición vegetal se ha demostrado ampliamente (Friend y Birch, 1960; Acquaye, 1963; Halstead y McKercher, 1975; Dalal, 1977) y su cuantía y ciclado adquiere especial interés en situaciones donde las formas orgánicas de P son la principal reserva de reposición del fosfato utilizado por las cosechas. Bajo estas circunstancias, el significado de la fracción orgánica de P depende de la velocidad de su mineralización puesto que las plantas obtienen este elemento en forma inorgánica y este proceso, siendo un fenómeno preferentemente microbiano, está influenciado por todos los factores que afectan la actividad y número de los microorganismos presentes. De esos factores, la temperatura, humedad, reactividad del suelo y presencia de un sustrato energético adecuado adquieren especial relevancia.

Tradicionalmente se ha medido la mineralización del P orgánico mediante la diferencia entre el P orgánico o inorgánico antes y después de una incubación de los suelos. Sin embargo, en algunos suelos ello puede traer consigo dos tipos de problemas: de una lado, la carencia de un método analítico adecuado que sea confiable en la medida del aumento o disminución del P mineralizado y de otra, la recuperación incompleta del P mineralizado en suelos con alta capacidad de adsorción de fosfato.

Como consecuencia de haber visto a lo largo de este estudio que los suelos Trumaos poseen alto contenido de P asociado íntimamente con la materia orgánica, así como la dificultad de determinar el P orgánico y, la significativa correlación existente entre P orgánico y C orgánico, se pensó en la utilidad de estudiar la mineralización de la materia orgánica y su relación con las diferentes formas de P.

La descomposición de la materia orgánica nativa (humus) refleja la disponibilidad biológica del C del suelo y se sitúa dentro del rango de 5-50 mg de CO₂ desprendido por Kg de suelo por día (Alexander, 1977). Al analizar la Tabla 15, se observa que para los andosoles en estudio la mineralización cae dentro de los límites inferiores. No obstante, para afirmar que la mineralización del C de un suelo está deprimida, se hace necesario compararla con la mineralización en un suelo agrónomicamente aceptable. Al analizar los resultados comparativamente con el suelo El Pillán, se observa que la mineralización está francamente deprimida y explica el porqué de la acumulación de la materia orgánica en estos suelos. Que la descomposición de la materia orgánica ocurra más lentamente en suelos alofánicos que en otros tipos de suelos ha sido comprobado por Jackman (1964), Tejeda y Gogan (1970) y Aomine (1972) y se debe, probablemente, a un inadecuado nivel de P disponible para el crecimiento microbiano (Stotzki y Norman, 1961) ya que la adición de P provoca incrementos en la evolución de CO₂ y actividad deshidrogenasa (Urbina et al., 1969; Schaeffer et al., 1971). La mayor tasa de mineralización de un andosol de Colombia informada por Munevar y Wollum (1977), podría ser debida a una renovación de la microflora, al reinocular el suelo bajo estudio con cepas de otro suelo diferente. Por su parte, Enwezor (1967) encontró valores menores de 100 mg de CO₂ desprendido por Kg y día al estudiar la mineralización en 28 suelos de Nigeria por incubación a 30°C.

Se ha dicho anteriormente que existe una estrecha relación entre C orgánico y P orgánico indicando que gran parte del P está íntimamente asociado al humus. Como consecuencia de ello, también se encuentra una estrecha y significativa correlación entre P orgánico y el "grado de mineralización" de la materia orgánica (0.954, P < 0.001), para el P orgánico determinado por el método de Steward y Oades (1972). No se demostró relación alguna cuando el P

orgánico es determinado por el método de Mehta et al.(1954). Sin embargo, Kaila (1963), Acquaye (1963), Enwezor (1967), Uriyo y Kesseba (1975) y Pérez Méndez et al.(1979), encuentran correlación positiva entre C y P orgánicos pero no observan correlación para la mineralización de la materia orgánica.

El C mineralizado se incrementa a medida que aumenta el contenido de C orgánico de cada suelo (0.543, $P < 0.1$); sin embargo, si la mineralización se expresa como porcentaje del C orgánico total, tal correlación se hace no significativa indicando que en los suelos bajo estudio existe C altamente humificado que es resistente a la degradación, hecho que también es posible de observar a la luz de las relaciones C:P y C:N en Tabla 11. Las bajas relaciones C:P encontradas en estos andosoles indicarían un bajo estado de intemperización de los suelos. De otro lado, las relaciones C:N:P están desviadas de la relación que indica Black y Goring (1953) de 110:9:1 como la más común en suelos, pero están más cercanas de las relaciones informadas por Pérez Méndez et al.(1979) en andosoles canarios.

Siendo la mineralización del C un proceso eminentemente microbiano es fundamental la presencia del sustrato energético y elementos nutritivos para la formación de nuevo material celular. En este sentido, es importantísima la cantidad de sustratos carbonados fácilmente descomponibles y también de la presencia adecuada de P disponible. Si se relaciona el "grado de mineralización" de los andosoles en estudio con el P asimilable se logra una buena correlación (0.966, $P < 0.001$), hecho que también comprobaron Munevar y Wollum (1977) y Schaeffer et al.(1971), en andosoles colombianos y chilenos, respectivamente. De otro lado, que los suelos Trumaos necesitan un sustrato fácilmente degradable para descomponer la materia orgánica altamente humificada ha sido comprobada recientemente por

Zunino et al. (1981;1981a) trabajando con sustratos marcados con C^{14} . El efecto "priming" en los suelos en estudio, es decir, el efecto que causa en la mineralización de la materia orgánica original la adición de pequeñas cantidades de un material orgánico fácilmente descomponible, (Glucosa- C^{14}), fué francamente positivo en todos ellos aunque lo fué menos en las series Lican-Ray y Lastarria (Zunino et al., datos sin publicar).

El P como el N es mineralizado e inmovilizado simultáneamente. El proceso que predomina en los suelos bajo vegetación natural está gobernado por el porcentaje de P en los residuos vegetales que caen al suelo y por los requerimientos nutritivos de las poblaciones responsables. Black y Goring (1953) sugirieron que ocurriría mineralización si la relación C:P orgánico es 200 o menos y habría inmovilización si la relación es superior a 300. Puesto que el comportamiento del humus estable en los suelos puede diferir bastante del proveniente de material fresco, es completamente posible que las relaciones mencionadas no sean aplicables a suelos con materia orgánica estabilizada (Enwezor, 1967; Bornemisza, 1971), como es el caso de los andosoles chilenos (Ver Tabla 17).

Finalmente, y a la luz de los resultados aquí obtenidos, es posible que los efectos beneficiosos sobre trigo observados por Zunino et al.(1976) en suelos Trumaos adicionados de algas marinas pueda deberse a un aumento de la mineralización de la materia orgánica original con la consiguiente liberación de P, conjuntamente con el efecto complejante de los productos de degradación del alga, como anota el autor en referencia.

Actividad fosfatásica.

En el estudio llevado a cabo sobre la actividad fosfatásica de suelos Trumaos bajo cultivo y sin cultivar se encontró que esta enzima se encuentra bastante elevada, de acuerdo con estudios llevados a cabo en otros suelos. Se estudió solamente la actividad de la fosfatasa ácida, ya que de acuerdo a Eivasi y Tabatabai (1977), ésta es predominante en suelos ácidos mientras que la fosfatasa alcalina prevalece en suelos alcalinos.

Antes de discutir los resultados obtenidos, se hace necesario discutir brevemente los métodos utilizados hasta ahora para determinar la actividad fosfatásica. Básicamente puede medirse por una de las dos metodías:

a) estimación del fosfato inorgánico liberado por incubación del suelo con un sustrato fosforado orgánico (por ej. glicerofosfato, fitina, fenolftaleínfosfato, etc.), y

b) por estimación de la mitad orgánica liberada por incubación del suelo con fosfatos orgánicos (ej. β -naftilfosfato, fenil fosfato, p-nitrofenilfosfato, etc.).

Los métodos del primer tipo no permiten realizar medidas seguras por la gran capacidad de los suelos de adsorber fosfatos inorgánicos y el gran número de parámetros que condicionan tal adsorción (Skujins, 1967; Tabatabai y Bremner, 1969). Los métodos del tipo b) son más seguros y confiables cuando se utilizan adecuadamente (Eivasi y Tabatabai, 1977; Speir y Ross, 1978) y el más recomendado es el de Tabatabai y Bremner (1969), que estima el p-nitrofenol liberado al incubar suelo a 37°C durante 1 hora con p-nitrofenilfosfato como sustrato. Debido a las diferentes metodías utilizadas hay bastante información que es contradictoria (Speir y Ross, 1978) y es por eso que los resultados obtenidos en este estudio se relacionarán solamente con aquellos obtenidos al utilizar el mismo procedimiento y las mismas condiciones.

La actividad fosfatásica en los suelos Trumaos sin cultivar es extremadamente alta (desde 1.4 a 6.5 mg de p-nitrofenol por hora y por g suelo) comparado con los valores obtenidos por Tabatabai y Bremner (1969) quienes, en 8 suelos neutros y bajo contenido de materia orgánica encuentran desde 0.23 hasta 0.83 mg de p-nitrofenol liberado. De otra parte, Gerritse y McGill (1978), encontraron hasta 0.3 mg en 4 suelos arenosos y no más de 0.4mg informan Eivasi y Tabatabai (1977) en sus suelos; sin embargo, en suelos con mayor contenido de C orgánico (6%), Speir y McGill (1979) citan una actividad equivalente a 1.26 mg de p-nitrofenol liberado.

Aunque en la década de los años 60 se pensaba que la acumulación de enzimas en los suelos era producto de intensas interacciones de tipo físico-químico entre las proteínas y las arcillas, a medida del avance de los estudios de localización de la actividad enzimática dentro de la matriz del suelo, se ha llegado a establecer que las enzimas se estabilizan por formación de complejos "humus-enzima" a través de enlaces iónicos, covalentes o de hidrógeno (Ladd y Buttler, 1975). Esta estabilización impediría la actuación de microorganismos y sus enzimas proteolíticas, permitiendo su acumulación a través del tiempo (Speir y Ross, 1978). Debido a ello, es posible encontrar correlaciones entre actividades enzimáticas y C orgánico, hecho que se produce en los Trumaos, concretamente, entre actividad fosfatásica y C orgánico (0.835, $P < 0.001$). Esta significativa correlación estaría indicando que en estos suelos la acumulación de enzimas se debería a la formación de complejos estables entre la proteína y la materia orgánica altamente humificada. Se ha encontrado correlaciones altamente significativas entre estos dos parámetros en suelos de Irán (Hoffmann y Elis-Azar, 1965), Italia (Nannipieri et al., 1973; Nigro y Scandella, 1978) y Nueva Zelandia (Speir, 1977), aunque también existen en la literatura informes que no encuentran correlación (Sanikidze et al., 1973), e incluso, correlaciones negativas (Kozlov et al., 1973).

El efecto de disminución de la actividad enzimática con respecto a la profundidad del perfil que se observa en los suelos bajo estudio, parece ser debido principalmente a la disminución del contenido de materia orgánica y como consecuencia, a una disminución de la actividad biológica. La relación estrecha encontrada entre actividad fosfatásica y N total ($0.809, P < 0.05$) sería de tipo indirecto debido a que este elemento se encuentra en estos suelos íntimamente ligado a la materia orgánica; tal correlación también ha sido informada por Hoffmann y Elías-Azar (1965) y Speir (1977).

El estudio de la relación entre el pH del suelo y la actividad fosfatásica indica que hay una correlación negativa ($-0.911, P < 0.001$) prueba de una mayor actividad enzimática en los suelos más ácidos. Herlihy (1972), en un estudio sobre turbas midió la actividad enzimática a pH óptimo y a pH natural del suelo, encontrando que, a medida que esta diferencia se hace mayor el rango de pH óptimo de la actividad de la enzima se hace menor. Esto demuestra que las fosfatasas pueden acumularse en el suelo y no ejercer su función hidrolítica al estar demasiado lejos del pH óptimo (Speir y Ross, 1978).

Aunque muchas de las propiedades de las fosfatasas se han atribuido, en parte, a cambios en número y poblaciones microbianas, el tratar de relacionar esta actividad enzimática con microorganismos ha dado como resultado opiniones contradictorias. Mientras Pukhidskaya y Kovrigo, (1974) entre muchos, encuentran correlaciones significativas, otros, como Beck (1974) y Ramírez-Martínez y McLaren (1966) no encuentran tal relación. De otro lado, Faurel y Rouquerol (1970) informan que en suelos en que prevalece la fosfatasa ácida poseen poblaciones fúngicas elevadas, lo que parece obvio dado la acidez del suelo. En los Trumaos bajo estudio no se logró correlacionar la actividad enzimática con el número y calidad de los microorganismos debido a que la actividad enzimática medida corresponde a la

suma de las fosfatasas libres y acumuladas por lo que cabe esperar muy poca variación de la enzima al variar la población microbiana de estos suelos.

La relación entre actividad fosfatásica y el contenido en P orgánico de los suelos ha sido objeto de intensos estudios encontrándose todo tipo de correlaciones. No obstante, en la mayor parte de ellos se han encontrado correlaciones positivas entre estos dos parámetros (Hoffmann y Elias-Azar, 1965; Gavrilova et al., (1974). En los andosoles, objeto de este estudio, no se encontró correlación entre la actividad enzimática y alguna forma determinada de P . De otro lado, Speir y Ross (1978), informan que el P soluble actúa como activador de la enzima hasta 200 ppm y como inhibidor total a niveles de 600-800 ppm de P soluble.

En cuanto a los suelos cultivados, la actividad fosfatásica aunque alta se mantiene a niveles más bajos que los suelos sin cultivar. Ello podría deberse a un efecto indirecto del trigo a través de sus exudados radiculares que harían bajar la actividad de esta enzima, efecto que también observaron en estos suelos Borie y Fuentealba (1981), al estudiar la actividad ureásica en los mismos. Speir y Ross (1978) postulan que los efectos del tipo de plantas sobre la actividad fosfatásica, básicamente están relacionados con la variación en contenido de materia orgánica y población microbiana inducida por las plantas, y generalmente se traducen en un aumento de la actividad enzimática.

Desde el punto de vista de las fosfatasas acumuladas en suelo, Kiss et al. (1975), le asignan un papel primordial en la mineralización de compuestos orgánicos aunque su importancia es limitada para el caso de fitatos y ácidos nucleicos. De acuerdo a Jackman y Black (1952) y Martin(1973), los fitatos del suelo, al tener baja solubilidad, no son buenos sustratos tanto para las

enzimas acumuladas como para las producidas por proliferación de microorganismos. Debido a ello, los suelos contienen cantidades relativamente elevadas de inositol fosfatos los que podrían hidrolizarse con mayor facilidad si se aumenta la solubilidad y disminuye su fijación al suelo. De otra parte, en algunos suelos es posible que se acumulen ácidos nucleicos por la reducida cantidad de enzimas presentes (fosfato diéster hidrolasa, E.C.3.1.4) o por la formación de complejos muy estables con lignina, que impiden el ataque enzimático. Fosfodiesterasas en suelos, que catalizan la hidrólisis de ácidos nucleicos y fosfolípidos han sido recientemente puestas en evidencia por Eivasi y Tabatabai (1977), Kiss et al.(1975), Skujins (1976), y Browman y Tabatabai (1978).

Los datos obtenidos en el estudio que aquí se comenta, debieron ser corregidos para cada suelo debido a la adsorción del producto de la reacción. Se encuentra buena correlación entre el porcentaje o grado de adsorción del p-nitrofenol y el contenido de materia orgánica de estos suelos (0.783, $P < 0.01$). Gerritse y Van Dijk (1978), encuentran las mismas relaciones en suelos con gran contenido de materia orgánica proveniente de residuos animales; sin embargo, se hace difícil establecer una función exacta sin un conocimiento de la estructura y área específica del coloide orgánico de diferentes suelos; por lo tanto, la adsorción ha de determinarse en cada caso en particular.

Finalmente, se hace imprescindible puntualizar que, si bien es cierto la actividad enzimática en los suelos Trumaos es elevada, no necesariamente la mineralización del P orgánico ocurre con intensidad, debido a que en este complejo proceso concurren simultáneamente innumerables otros factores químicos, bioquímicos y microbiológicos.

Actividad de los microorganismos de vida libre

Existen en la literatura científica innumerables referencias en relación con la actividad de los microorganismos del suelo en los ciclos de los elementos nutritivos de las plantas, particularmente Nitrógeno y Fósforo; sin embargo, es muy escasa la información que se posee sobre estos aspectos microbiológicos en suelos alofánicos y más concretamente, en suelos Trumaos.

Es indudable que los suelos Trumaos estudiados poseen un considerable número de microorganismos, y que gran parte de estas poblaciones son, potencialmente, capaces de movilizar fosfatos en el suelo. Dado el pH del suelo, es lógico el relativamente elevado número de hongos, hecho también observado por Schaefer et al. (1969), Urbina et al. (1969; 1972), Longeri (1973), Moriyón et al. (1978), Martínez y Ramírez (1978) y Zunino et al. (1981b) en suelos alofánicos. Lo que es más cuestionable es estimar si estos microorganismos desarrollan o no un papel decisivo en estos suelos, basándose en las características físico-químicas de los mismos, especialmente el contenido de materia orgánica, iones aluminio y alofana. Es sabido que los Trumaos son suelos con alto contenido de materia orgánica, lo cual, a priori, es adecuado para que la microflora heterótrofa se encuentre en actividad y la fracción de ésta con capacidad de solubilizar fosfato, prospere y desarrolle tal actividad (Alexander, 1977). Sin embargo, la presencia de azúcares metabolizables, uno de los factores decisivos en las transformaciones del fósforo hacia formas asimilables (Hayman, 1975) no parece ocurrir en cantidades suficientes como para que la actividad microbiana opere en este sentido, debido, por una parte, a la elevada humificación del C existente y por otra, a la elevada estabilidad de los complejos Al-humus-alofana formados en estos suelos (Kle-

ner y Schaefer,1972). Esta observación, no obstante, es sólo aplicable al suelo como conjunto, aunque es muy probable, la existencia de innumerables microhabitats donde sí concurren las condiciones que permitan una substancial liberación de fosfato asimilable. Sin embargo, la translocación de esos iones hacia la planta, dadas las características del suelo, debe estar, probablemente, muy dificultada (Hayman,1975; Tinker y Sanders,1975).

Es evidente que por ser los andosoles suelos con elevada capacidad de fijación de fósforo, la posible acción solubilizadora de los microbios de vida libre sea de dudosa efectividad, al menos, si ésta ocurre fuera de la rizosfera. La existencia de microhabitats donde sí se esté liberando fosfato podría ser un hecho de sumo interés ya que a esos sitios pueden llegar las hifas de las micorrizas y canalizar el fosfato al interior de la planta, evitando los problemas inherentes a la fijación del ión en su camino hacia las raíces a través de la solución del suelo (Hayman,1975). A la discusión de tal circunstancia se volverá más adelante.

Hay que hacer constar que se han tratado de identificar las especies de hongos de vida libre existentes en estos suelos y que, junto a las especies más comunes (Ramos et al., 1968; Alexander,1977) se desarrollan un gran número de otras de difícil identificación, ya que sus características no concuerdan con las especies habitualmente descritas (A. Rex, com. pers.). La caracterización de esas interesantes especies es objeto de estudio que nos ocupa actualmente, en especial, aquéllas que son capaces de solubilizar fosfatos como así mismo aquéllas que son capaces de producir polímeros pigmentados semejantes a ácidos húmicos y ligninas.

Micorrizas vesículo-arbusculares

El número de propágulos de Endogonaceae es sumamente variable en los diversos suelos estudiados, pero, en todos los casos, caen dentro del margen de 10 a 500 esporas por 100 g de suelo descritas en la mayor parte de los estudios (Hayman, 1975a).

Los numerosos estudios que tratan de correlacionar el número de clamidosporas de Endogonaceae con régimen de fertilización, tipo de cultivo y cantidad de nutrientes en suelos, especialmente fosfato asimilable, etc., revisados por Kruckelmann (1975) y Hayman (1975a), ponen de manifiesto la ausencia de correlación entre todos esos factores. El presente estudio es una muestra más de tal ausencia de correlación. Tampoco pudo establecerse relación entre el número de clamidosporas y porcentaje de infección V-A en las raíces presentes en las muestras estudiadas. Este es un hecho también reconocido así en la bibliografía (Hayman, 1978).

Independientemente de estos hechos, es de interés hacer notar la omnipresencia de las micorrizas VA en todos los suelos estudiados. La universalidad de esta simbiosis ampliamente reconocida en diversas obras de revisión (Gerdemann, 1975; Hayman, 1978; Azcón-G. de Aguilar, 1980; Ocampo, 1981) se refleja una vez más en el presente estudio, en unos habitats nunca estudiados y con unas características tan especiales como las que poseen estos suelos derivados de cenizas volcánicas. La ubicuidad de esta simbiosis deriva como se sabe, de sus connotaciones evolutivas en el desarrollo de las especies vegetales sobre la superficie terrestre (Pirozynski y Malloch, 1975; Malloch et al., 1980).

Como dato anecdótico creemos oportuno señalar que en uno de los muestreos realizados, en la falda del volcán Villarrica, donde había ocurrido recientemente una erupción, la ausencia de vegetación era manifiesta. No obstante, se encontró una planta, primer vestigio del inicio de la colonización de ese "suelo". Las raíces de esta planta poseían ya la simbiosis VA.

Una vez demostrada la presencia de micorrizas VA en los suelos Trumaos en plantas que crecen en ellos, tanto vegetación natural como cultivada, cabe hacerse varias preguntas como las que siguen: ¿ Es efectiva, desde el punto de vista de nutrición vegetal, esta simbiosis en los suelos Trumaos? , ¿ es posible manipular esta asociación con el fin de aumentar su eficacia?, ¿ es necesario inocular en estos suelos?, etc.. A estas preguntas tratan de contestar los ensayos desarrollados en el presente estudio, los resultados de los cuales se recogen en las Tablas 27 y siguientes.

Es usual en este tipo de estudios investigar, en primer lugar, el papel de los endofitos indígenas comparativamente con el de diversos tipos de esporas VA procedentes de colección.

Existe una norma generalmente aceptada en relación con la introducción de endofitos VA. Esta norma indica que los principios que justifican la necesidad de inocular derivan del hecho de que la selección natural no ha conducido a la dominancia de las estirpes de hongos de las micorrizas más efectivas en una zona dada, ya que, de acuerdo con Bowen (1980), la tendencia de la evolución ha sido dirigida primordialmente a lograr la supervivencia más que obtener una alta productividad. Por ello, los simbiosistas VA han evolucionado para ser compatibles y adaptados con

su medio ambiente, pero en la mayoría de los casos solucionan su supervivencia al precio de perder eficacia (Barea y Azcón-G.de Aguilar, 1981).

Los resultados obtenidos en este particular estudio en suelo Trumao no cumple la norma general antes aludida, ya que, al menos las esporas ensayadas procedentes de colección, y normalmente empleadas en la mayoría de los estudios sobre inoculación de hongos VA, no superaron la acción de los endofitos indígenas. Lo más probable es que las drásticas condiciones de pH y el exceso de iones aluminio no fueran favorables para la actividad de las ya clásicas esporas *Glomus mosseae* (YV), *Laminada*, *Glomus fasciculatus* (E₃), etc.. La adición de una dosis moderada de fósforo favoreció la acción de estos hongos de colección, hecho que encuentra apoyos bibliográficos (Powell, 1977; Hayman y Mosse, 1979), aunque nunca estos hongos superaron la infectividad y eficacia de los nativos (Tablas 27, 28). No obstante, siendo el tipo de espora YV el más efectivo de los estudiados, se decidió ensayar su inoculación, en suelo natural para estudiar su interacción con los endofitos nativos. El experimento se completó con un estudio de la influencia de dosis adecuadas de fosfato y de la inoculación de una fosfobacteria, que a su vez produce fitohormonas (Barea et al., 1976). Todo ello daba lugar a un completo cuadro de interacciones, de acuerdo con los efectos sobre el crecimiento de las plantas, tanto por endofitos indígenas como por los introducidos. Es muy probable que tal efecto sea debido a las fitohormonas que produce la fosfobacteria inoculada, un *Pseudomonas* sp (Barea et al., 1976). En efecto, estudios llevados a cabo en la Estación Experimental del Zaidín (Azcón et al., 1976; Azcón et al., 1978a; Azcón-G.de Aguilar y Barea, 1978), han demostrado que dicha bacteria estimula la formación de micorrizas, y que ello es debido, al menos en gran parte, a las fitohormonas.

Las hormonas vegetales, fundamentalmente auxinas y citoquininas, aplicadas como producto puro, a las concentraciones que se encuentran en cultivos de bacterias del suelo, estimulan la formación, y como consecuencia de ello, la eficacia, de las micorrizas (Azcón-G.de Aguilar,1980). El papel de las fitohormonas en el desarrollo de diversos órganos y procesos en plantas, tales como formación de raíces, orgánulos fotosintéticos, etc. (Thimann,1977) explica las causas del efecto de las hormonas sobre la micorrización. Además, las auxinas parecen influir el desarrollo del micelio formado a partir de esporas VA germinadas axénicamente (Azcón-G.de Aguilar,1980), por lo que cabría asignar a estas sustancias fitoactivas un cierto papel en el desarrollo del micelio externo del hongo, hechos todos éstos, que explicarían el efecto encontrado en los presentes ensayos (Tablas 30 y 32).

Si las fosfobacterias inoculadas actúan, además, como tales en la rizosfera, es decir, liberan fosfato asimilable para la planta, cooperando sinérgicamente con la micorriza, es objeto de gran controversia y discusiones (Azcón et al.,1976; Tinker y Sanders,1975; Azcón-G.de Aguilar y Barea,1978). El reciente estudio de Raj et al. (1981) con P^{32} , parece abogar por una activa participación de las fosfobacterias en la liberación de P, colaborando así con las micorrizas.

Los resultados de Tabla 31 sugieren que las fosfobacterias parecen solubilizar el fosfato insoluble adicionado (fitato), hecho demostrado " in vitro ", pero nó el existente en el suelo. Es de resaltar también (Tabla 31) que los endofitos VA inoculados refuerzan la acción de los indígenas, probablemente, porque se incrementa el número de propágulos (Tinker, 1978) ya que los resultados de Tabla 27 no indicaron que el tipo de spora introducido (YV) superara en eficacia a los endofitos nativos.

Circunstancia importante a comentar en estudios sobre micorrización es la interacción de endofitos VA y el fósforo adicionado como fertilizante. En este sentido, merecen especial atención en este capítulo de Discusión, los resultados expuestos en las Tablas 33, 34 y 38.

Es un hecho conocido que dosis elevadas de fertilizantes fosforados tienden a inhibir la formación de micorrizas y a reducir los beneficios que las plantas obtienen de esta simbiosis (Mosse, 1973a; Sanders, 1975; Azcón et al., 1978; Powell y Daniels, 1978; Menge et al., 1978). Evidentemente, existen unas dosis óptimas de fósforo en cuanto a la interacción con la micorriza. Dosis moderadas de fertilizante (100 Kg P_2O_5 / ha) estimulan la micorrización en suelo natural, con sus poblaciones de endofitos autóctonos no modificados. Ello concuerda con los estudios de Powell (1977a) y Hayman y Mosse (1979) en sus trabajos sobre suelos naturales. No obstante, al incrementar la dosis de fósforo encontramos que, paulatinamente, se afectaba negativamente la formación de micorrizas (Tabla 34). El crecimiento de las plantas no alcanzó los efectos de una concentración crítica de P (Mosse, 1973a), es decir, no se inhibió el crecimiento vegetal por dosis elevadas (supraóptimas) del nutriente. Posiblemente, la alta capacidad de fijación de P de estos suelos tamponó la "toxicidad" al exceso de fósforo.

Nuestros resultados sugieren que, si tenemos en cuenta el precio del fertilizante y el poder de fijación de fósforo de los Trumaos, sería recomendable utilizar dosis moderadas del fósforo, que no inhiban la micorrización, ese resorte biológico natural que, en estos suelos, parece desempeñar un papel crucial y efectivo en el ciclo del P y en nutrición vegetal. Si comparamos el efecto de micorrizas nativas frente al control no estéril en la dosis de 100 Kg de P_2O_5 /ha (Tabla 33) se puede deducir

que el incremento de cosecha obtenido es superior que en el caso de adicionar dosis superiores (300 ó 600 Kg P₂O₅/ha).

Si aceptamos la eficacia de los endofitos VA nativos del suelo Osorno, parece lógico proceder a obtener inóculos masivos con ellos para poder realizar introducciones y conseguir incrementar el nivel de propágulos en el suelo (Tinker, 1978). Estos inóculos se obtuvieron, tanto sobre plantas de cebolla como de trigo, y su efectividad sobre dos cultivares de la planta de prueba (trigo) usada en el presente estudio doctoral, se recoge en las Tablas 35 y 36. Los resultados indican una mayor efectividad del inóculo de cebolla, hecho que se acerca a las recomendaciones de diversos autores (ver Hayman 1978 para referencias) de que es mejor utilizar, para la obtención de inóculo, plantas diferentes de aquéllas que se van a micorrizar posteriormente. Ello eliminaría posibilidades de introducción de patógenos propios de los cultivos a micorrizar.

El hecho de que lo conseguido con estos inóculos es reforzar el número de propágulos VA en el suelo (Tinker, 1978) se deduce del efecto aditivo entre endofitos naturales y los introducidos (naturales multiplicados en planta "stock"). De acuerdo con los criterios morfológicos utilizados para identificar el endofito multiplicado, éste resultó ser Glomus sp., posiblemente del tipo de espora Laminada (Mosse y Bowen, 1968).

Es evidente que los resultados obtenidos en estos ensayos llevados a cabo en una cámara de cultivo, bajo condiciones naturales de luz y temperatura, indican un decisivo papel de las micorrizas en suelos Trumaos. Es obvio que la producción de inóculo de gran calidad y libre de patógenos es un factor limitante para la aplicación masiva de las micorrizas, toda

vez que el hongo VA es un simbiote obligado y no ha sido aún cultivado axénicamente. Aunque las esporas pueden ser germinadas "in vitro", el micelio no ha podido ser aislado y reproducido en condiciones viables (ver Azcón-G.de Aguilar y Barea, 1978 y Hepper, 1979 para referencias).

Debido a que el hongo VA depende de la raíz del huésped para su crecimiento, el inóculo a utilizar consiste en raíces limpias infectadas o, lo más utilizado, alcuotas de suelo rizosférico de planta "stock" que contiene esporas, hifas y raíces infectadas. Las técnicas para la aplicación en campo de estos inóculos es laboriosa y depende si el cultivo es anual o perenne. En plantas anuales el inóculo puede ser introducido mediante "pellets" de semillas (Hall, 1979; Powell, 1979) o aplicado directamente bajo la semilla (Azcón-G.de Aguilar y Barea, 1981). Obviamente, desde el punto de vista agronómico es crucial asegurar una infección fuerte y temprana puesto que los requerimientos en fósforo son más necesarios en los primeros estadios del vegetal en plantas anuales. Las plantas perennes en cambio, son pre-inoculadas en pequeñas superficies y cuando el sistema radicular está fuertemente micorrizado, las plantas pueden ser trasplantadas.

Es lógico pensar que los problemas derivados de la obtención de inóculo limitan la experimentación práctica con estos hongos, y la utilización en mayor escala sólo será posible cuando se obtenga el crecimiento del hongo VA en condiciones de cultivo axénico. El potencial comercial de algunos inóculos de micorrizas están siendo evaluados últimamente (Daniels y Menge, 1981).

VII.- CONCLUSIONES

VII.- CONCLUSIONES

Los Resultados obtenidos en el presente estudio permiten deducir las siguientes conclusiones generales:

- 1º.- El fósforo agregado como fertilizante a los suelos Trumaos que se fija a lo largo del tiempo, se acumula, fundamentalmente, bajo formas orgánicas de alto peso molecular. Entre éstas, los fosfolípidos sólo representan una ínfima parte del fósforo orgánico en estos suelos.
- 2º.- El método de Mehta, tradicionalmente utilizado para determinar fósforo orgánico, produce la hidrólisis manifiesta de formas orgánicas fosforadas por lo que se propone el método de Steward y Oades como el más apropiado para tal determinación en los citados suelos.
- 3º.- La mineralización de la materia orgánica ocurre muy lentamente y está directamente relacionada con la cantidad de fósforo disponible que poseen estos suelos.

- 49.- El número de microorganismos de vida libre-solubilizadores de fosfato (hongos y bacterias) y la actividad fosfatásica, se encuentran en niveles relativamente elevados. Sin embargo, la operatividad " in situ " de los mecanismos de acción correspondientes es dudosa, dadas las características de reactividad de los coloides orgánicos e inorgánicos de estos suelos.
- 59.- En todos los suelos Trumaos se detectaron esporas de hongos formadores de micorrizas VA. Tanto en la vegetación natural como cultivada se observan estas micorrizas, aunque no se encontró correlación entre infectividad, número de esporas y niveles de fósforo disponible en cada suelo.
- 69.- El efecto de la micorrización natural fué significativamente reforzado por la inoculación de micorrizas obtenidas a partir de los propios endofitos autóctonos efectivos. Tal práctica dió lugar a un mejor aprovechamiento del fósforo natural así como también del fertilizante agregado a estos suelos. Se observó, además, un efecto beneficioso inoculando conjuntamente fosfobacterias y micorrizas.

Perspectivas de investigación de acuerdo con los resultados obtenidos en el presente estudio.

Después de haber puntualizado las conclusiones que derivan de este trabajo de Tesis, creemos de suma importancia hacer algunas consideraciones sobre la necesidad de complementar o profundizar, en un futuro próximo, ciertos aspectos relacionados con la bioquímica del fósforo en los suelos Trumaos y su biodisponibilidad. Dichos aspectos se refieren a investigación básica así como también a aplicaciones prácticas que son posibles de llevar a cabo en este tipo de suelos. Primeramente nos referiremos a los estudios de tipo básico para derivar, posteriormente, en el terreno aplicado.

En efecto, hemos visto que el P en los suelos Trumaos se encuentra, en su mayor proporción asociado íntimamente con la materia orgánica bajo la forma de compuestos fosforados de elevado peso molecular y que del destino de ésta dependerá, en última instancia, la posibilidad de tornar disponible para las plantas parte de ese P. Por ello, se hace necesario encauzar la investigación hacia dos líneas bien definidas: por una parte, y mediante el uso de trazadores del tipo ^{32}P ó ^{33}P , estudiar la dinámica de formación de las estructuras orgánicas fosforadas y por otro, continuar con los estudios relacionados con la síntesis y degradación de la materia orgánica mediante la utilización de sustratos marcados con ^{14}C , tal como iniciara Zunino et al. (1981) y (1981a). Paralelamente a esto último, es importante definir el papel ecológico que desempeñan en la síntesis de materiales húmicos tanto la enzima polifenoloxidasas como los microorganismos productores de compuestos policondensados del tipo de los ácidos húmicos y ligninas.

En el aspecto aplicado, creemos de utilidad el seleccionar "in vitro" microorganismos autóctonos eficaces en la solubilización de fosfatos insolubles, concretamente hongos, por estar éstos mejor adaptados a las condiciones de acidez y exceso de iones aluminio que caracterizan a estos suelos. Los hongos de vida libre seleccionados podrían ser inoculados, en invernadero, asociados con hongos de las micorrizas eficaces obtenidos a base de los extraídos de los mismos suelos. En cuanto a las micorrizas, pensamos que el cultivar de trigo normalmente utilizado en estos andosoles es fuertemente dependiente de ellas. En este sentido, últimamente se ha informado que cultivares de trigo difieren considerablemente en su grado de dependencia de las micorrizas y junto a aquéllos que no se micorrizan, otros son fuertemente dependientes (Azcón, R. y Ocampo, J.A., *New Phytol.*, 87, 677-685, 1981). También es importante el estudiar la posibilidad - a la luz del efecto positivo de las micorrizas en la mejor utilización del superfosfato agregado - de reemplazar parte del superfosfato por fertilizantes más económicos, como el fosfato de roca.

Finalmente, y desde el punto de vista ecológico, es imprescindible tomar conciencia del efecto beneficioso de los microorganismos de estos suelos a fin de no alterar el equilibrio existente, especialmente con el uso de biocidas y la práctica habitual del "roce a fuego". En el supuesto de ser necesarias tales prácticas, debería estudiarse el tiempo que demora ese suelo en volver a ser colonizado.

VIII.- BIBLIOGRAFIA

VIII.- BIBLIOGRAFIA

- ABBOTT, L.K. y ROBSON, A.D. (1977). Growth stimulation of subterranean clover with vesicular-arbuscular mycorrhizas. *Aust. J. Agric. Res.*, 28, 639-649.
- ABEDAYO, A.A. (1973). Mineralization of organic phosphorus of Nigerian soils. Ph D. Thesis, University of Wisconsin (Diss. Abstr. Int. B., 34, 1822-1823.
- ACQUAYE, D.K. (1963). Some significance of soil organic phosphorus mineralization in the phosphorus nutrition of cocoa in Ghana. *Plant and Soil*, 19, 65-80.
- ADEPETU, J.A. y COREY, R.B. (1976). Organic phosphorus as a predictor of plant-available phosphorus of Southern Nigeria. *Soil Sci.*, 122, 159-164.
- AGNIHOTRI, H.P. (1970). Solubilization of insoluble phosphate by some soil fungi isolated from nursery seedbeds. *Can. J. Microbiol.*, 16, 877-880.
- ALAMOS, P., BEHRENS, H., ACEVEDO, E., LOPEZ, A. y PALMA, T. (1967). Relación suelo-fósforo en suelos derivados de cenizas volcánicas. *Agricultura Técnica*, 27 (3), 120-129.
- ALEXANDER, M. (1977). Introduction to soil microbiology. Wiley & Sons. New York, 467 p.

- ANDERSON, G. (1960). Factors affecting the estimation of phosphate. *J. Sci. Food Agric.*, 11, 497-503.
- ANDERSON, G. (1967). Nucleic acids, derivatives and organic phosphates. En "Soil Biochemistry". Cap. 3. McLaren y Peterson (Editores), Marcel Dekker Inc., New York.
- ANDERSON, G. (1970). The isolation of nucleoside diphosphates from alkaline extracts of soil. *J. Soil Sci.*, 21, 96-102.
- ANDERSON, G. y HANCE, R.J. (1963). Investigation of an organic phosphorus component of fulvic acid. *Plant and Soil*, 19, 296-303.
- ANDERSON, G. y BLACK, C.A. (1965). Separation of organic and inorganic phosphorus in soils extracts by mechanical and chromatographic filtration. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 29, 255-259.
- ANDERSON, G. y MALCOLM, R.E. (1974). The nature of alkali-soluble soil organic phosphorus. *J. Soil Sci.*, 25, 282-297.
- ANDERSON, G., WILLIAMS, E.G. y MOIR, J.O. (1974). A comparison of the sorption of inorganic orthophosphate and inositol hexaphosphate by six acid soils. *J. Soil Sci.*, 25, 51-62.
- ANTHEUNISSE, J. (1972). Decomposition of nucleic acids and some of their degradation products by microorganisms. *Antonie van Leeuwenhoek*, 38, 311-327.
- AOMINE, S. (1972). Nitrogen fertility and humic matter of Chilean andosols. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 18, 105-113.
- APPELT, H. (1974). Interactions between organic compounds, minerals and ions in volcanic-ash derived soils. Ph D. Thesis. University of California, Riverside.
- APPELT, H. y SCHALSCHA, E.B. (1970). Effect of added phosphate on the inorganic phosphorus fractions of soils derived from volcanic ash. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 34, 599-602.
- APPELT, H., COLEMAN, N.T. y PRATT, P.F. (1975). Interactions between organic compounds, minerals and ions in volcanic ash-derived soils. II.- Effects of organic compounds on the adsorption of phosphate. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 39, 628-630.
- APPIAH, M.R. y THOMPSON, E.J. (1974). The effect of successive croppings on soil organic phosphorus. *Ghana Jnl Agric. Sci.*, 7, 25-30.
- ASIMI, S., GIANINAZZI-PEARSON, V., OBATRON, M., BERTHEAU, I. y GIANINAZZI, S. (1978). Interactions entre les endomycorhizes à vesicules et arbuscules (VA) et le *Rhizobium* chez le soja. *Congrès Société Savantes, Nancy*, 1-10.

- AZCON-G.de AGUILAR, C. (1980). Fertilizantes microbianos: Interacciones de Rhizobium y hongos de las micorrizas VA en la formación y eficacia de sus respectivas simbiosis con leguminosas. Tesis Doctoral, Facultad de Ciencias, Universidad de Granada.
- AZCON-G.de AGUILAR, C. y BAREA, J.M. (1978). Effects of interactions between different culture fractions of "phosphobacteria" and Rhizobium on mycorrhizal infection, growth and nodulation of medicago sativa. *Can. J. Microbiol.*, 24, 520-524.
- AZCON-G.de AGUILAR, C., AZCON, R. y BAREA, J.M. (1979). Endomycorrhizal fungi and Rhizobium as biological fertilisers for medicago sativa in normal cultivation. *Nature*, 279 (5711), 325-327.
- AZCON-G.de AGUILAR, C. y BAREA, J.M. (1980). Micorrizas. *Investigación y Ciencia*, 47, 8-16.
- AZCON-G.de AGUILAR, C. y BAREA, J.M. (1978). An improved procedure for the study of axenic growth of the endomycorrhizal fungus Glomus-mosseae. *Microbios Letters*, 9, 127-131.
- AZCON-G.de AGUILAR, C. y BAREA, J.M. (1981). Field inoculation of medicago with V-A mycorrhiza and Rhizobium in phosphate-fixing agricultural soil. *Soil Biol. Biochem.*, 13, 19-22.
- AZCON, R., BAREA, J.M. y CALLAO, V. (1973). Inoculación conjunta de microorganismos movilizadores de fósforo y Rhizobium en cultivos enarenados de judía. II. *Microbiol. Españ.*, 26, 135-147.
- AZCON, R., BAREA, J.M. y HAYMAN, D.S. (1976). Utilization of rock phosphate in alkaline soils by plants inoculated with mycorrhizal fungi and phosphate-solubilizing bacteria. *Soil Biol. Biochem.*, 8, 135-138.
- AZCON, R. y BAREA, J.M. (1977). Interactions between endomycorrhizae and azotobacter on plant growth and nutrition. *Proc. Third North Am. Conference on Mycorrhizae*. Athens, Georgia 100.
- AZCON, R., MARIN, A.D. y BAREA, J.M. (1978). Comparative role of phosphate in soil or inside the host on the formation and effects on endomycorrhiza. *Plant and Soil*, 49, 561-567.
- AZCON, R., AZCON-G.de AGUILAR, C. y BAREA, J.M. (1978a). Effects of plant hormones present in bacterial cultures on the formation and responses to V-A endomycorrhiza. *New Phytol.*, 80, 359-364.
- BAGYARAJ, D.I. y MENGE, J.A. (1978). Interaction between a V-A mycorrhiza and azotobacter and their effects on rhizosphere microflora and plant growth. *New Phytol.*, 80, 567-573.

- BAKER, R.T. (1976). Changes in the chemical nature of soil organic phosphate during pedogenesis. *J. Soil Sci.*, 27 (4), 504-512.
- BAKER, R.T. (1977). Humic acid-associated organic phosphate. *N. Z. J. Sci.*, 20, (4), 439-441.
- BARBER, D.A. (1966). Effect of micro-organisms on nutrient absorption by plants. *Nature*, 212, 638-640.
- BARBER, D.A. (1968). Micro-organisms and the inorganic nutrition of higher plants. *Ann. Rev. Pl. Phys.*, 19, 71-88.
- BAREA, J.M., RAMOS, A. y CALLAO, V. (1970). Contribución al estudio "in vitro" de la mineralización bacteriana de fosfatos. *Microbiol. Españ.*, 23, 253-270.
- BAREA, J.M. y MONTOYA, E. (1975). Producción de hormonas vegetales por microorganismos. *Anal. Edaf. Agrobiol.*, 34, 1075-1096.
- BAREA, J.M., AZCON, R. y HAYMAN, D.S. (1975). Possible synergistic interactions between Endogone and phosphate-solubilizing bacteria in low-phosphate soils. En "Endomycorrhizas", F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.). Academic Press, London, 409-417.
- BAREA, J.M., NAVARRO, E. y MONTOYA, E. (1976). Plant growth regulators produced by phosphate solubilizing bacteria. *J. Appl. Bacteriol.*, 40, 129-140.
- BAREA, J.M., OCAMPO, J.A. y MONTOYA, E. (1977). Estudio crítico sobre la utilización de azotobacter y fosfobacterias como fertilizantes microbianos. *Anales de Edaf. y Agrobiol.*, 36 (11-12), 1197-1208.
- BAREA, J.M., ESCUDERO, J.L. y AZCON-G.de Aguilar, C. (1980). Effects of introduced and indigenous mycorrhizal fungi on nodulation, growth and nutrition of *medicago sativa* in phosphate fixing soils as affected by P fertilizers. *Plant and Soil*, 54, 283-296.
- BAREA, J.M. y AZCON-G.de Aguilar, C. (1981). The role of plant-symbiotic microorganisms (*Rhizobium* and V-A mycorrhizal fungi) in the ecology, growth and nutrition of legumes. *Agric. Environm.*, in press.
- BAREA, J.M., AZCON-G.de Aguilar, C. y AZCON, R. (1981). Effects of microorganisms on nutritional requirements of plants. En *CRC Handbook Series in Nutrition and Food*, in press.
- BARBER, W.D. y THOMAS, W.J. (1972). Evaluation of the genetics of relative phosphorus accumulation by corn (*Zea Mays L.*) using chromosomal translocations. *Crop Sci.*, 12, 755-758.

- BARLETT, E.M. y LEWIS, D.H. (1973). Surface phosphatase activity of mycorrhizal roots of beech. *Soil Biol. Biochem.*, 5, 249-257.
- BARROW, N.J., MALAJCZUK, N. y SHAW, T.C. (1977). A direct test of the ability of vesicular-arbuscular mycorrhiza to help plants take up fixed soil phosphate. *New Phytol.*, 78, 269-276.
- BAYLIS, G.T.S. (1970). Roots hairs and phicomitaceous mycorrhizas in phosphorus-deficient soil. *Plant and Soil*, 33, 713-716.
- BESOAIN, E. (1969). Clay mineralogy of volcanic-ash soils. Panel on volcanic-ash soils in Latin America, Sect. B.1.1 B. 1.16, Turrialba, Costa Rica.
- BEZAMA, N. y AOMINE, S. (1977). Phosphate retention on soils in the Central Valley of Chile. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 23, 427-435.
- BHAT, K.K.S. y NYE, P.H. (1973). Diffusion of phosphate to plant roots in soil. I.- Quantitative autoradiography of the depletion zone. *Plant and Soil*, 38, 161-175.
- BIELISKY, R.L. (1973). Phosphate pools, phosphate transport and phosphate availability. *Ann. Rev. of Plant Phisiol.*, 24, 205-252.
- BIELISKY, R.L y JOHNSON, P.N. (1971). The external location of phosphatase activity in the phosphorus-deficient Spirodella Oligorrhiza. *Austr. J. Biol. Sci.*, 25, 707-720.
- BLACK, C.A. y GORING, C.A.I. (1953). Organic phosphorus in soils. En " Soil and Fertilizer Phosphorus " W.H. Pierre y A.G. Norman (Edts.), *Agronomy* 4, 123-152.
- BLACK, R.L.B. y TINKER, P.B. (1977). Interaction between effects of vesicular-arbuscular mycorrhiza and fertilizer phosphorus on yields of potatoes in the field. *Nature*, 267, 510-511.
- BLAIR, G.J., TILL, A.R. y SMITH, R.C.G. (1977). The phosphorus cycle- What are the sensitive areas? En " The efficiency of phosphorus utilization ", 9-19. Proceeding of a symposium. University of New England, Armindale, N.S.W. Australia.
- BLIGH, E.G. y Dyer, W.J. (1959). A rapid method of total lipid extraction and purification. *Can. J. Biochem. Phisiol.*, 37, 911-917.
- BORIE, F. y FUENTEALBA, R. (1981). Bioquímica de suelos derivados de cenizas volcánicas. 3.- Actividad ureásica. *Agricultura Técnica*, en prensa.
- BORNEMISZA, E. e IGUE, K. (1967). Comparison of three methods for determining organic phosphorus in Costa Rican soils. *Soil Sci.*, 103, 347-353.

- BOSWALL, G.W. y DE LONG, W.A. (1959). The use of 8-hydroxyquinoline (oxine) in the extraction of soil organic phosphorus. *Canad. J. Soil Sci.*, 39, 20-26.
- BOWEN, C.D., SKINNER, M.F. y BEVEGE, D.I. (1974). Zinc uptake by mycorrhizal and uninfected roots of *Pinus Radiata* and *Araucaria Cunninghamii*. *Soil Biol. Biochem.*, 6, 141-144.
- BOWEN, C.D., BEVEGE, D.I. y MOSSE, B. (1975). Phosphate physiology of vesicular-arbuscular mycorrhizas. En " *Endomycorrhizas* ", F.E Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.), Academic Press, London, p. 241-260.
- BOWEN, C.D. (1980). Misconception, concepts and approaches in rhizosphere biology. En " *Contemporary Microbial Ecology* ", Ellwood (Editor), Academic Press, London, p. 283-304.
- BRADY, N.C. (1974). The nature and properties of soils. MacMillan, New York, 639 p.
- BREMNER, J.M. y HO, C.L. (1962). Use of Dowex A-1 chelating resin for extraction of soil organic matter. *Agron. Abstr. Am. Soc. Agron.*, 15.
- BROWN, M.E. (1972). Plant Growth substances produced by microorganisms of soil and rhizosphere. *J. Appl. Bacteriol.*, 35, 443.
- BROWN, M.E. (1974). Seed and root bacterisation. *Ann. Rev. Phyt.*, 12, 311-331.
- BROWMAN, M.G. y TABATABAI, M.A. (1978). Phosphodiesterase activity in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 42, 284-290.
- CASIDA, L.E. Jr. (1959). Phosphatase activity of some common soil fungi. *Soil Sci.*, 87, 305-309.
- CHAE, Y.M. y LOWE, L.E. (1980). Distribution of lipid sulphur and total lipids in soils of British Columbia. *Can. J. Soil Sci.*, 60, 633-640.
- CHANG, S.C. Y JACKSON, M.L. (1957). Fractionation of soil phosphorus. *Soil Sci.*, 84, 133-144.
- CHAPMAN, D. (1969). Introduction to lipids. Mc Graw Hill, London.
- CHESCHIRE, M.V. y ANDERSON, G. (1975). Soil polysaccharides and carbohydrate phosphates. *Soil Sci.*, 111 (5), 356-362.
- CHHONKAR, P.K. y SUBBA-RAO, N.S. (1967). Phosphate solubilization by fungi associated with legume root nodules. *Can. J. Microbiol.*, 13, 749.
- COOPER, R. (1959). Bacterial fertilizers in the Soviet Union. *Soils and Fertilizers*, 22, 327-333.

- COSGROVE, D.J. (1966). Detection of isomers of phytic acid in some Scottish and Californian soils. *Soil Sci.*, 102, 42-43.
- COSGROVE, D.J. (1970). Inositol phosphate phosphatases of microbiological origin. Inositol phosphate intermediates in the dephosphorylation of the hexaphosphates of myo-inositol, scyllo-inositol, and D-chiro-inositol by a bacterial (*Pseudomonas* sp) phytase. *Austr. J. Biol. Sci.*, 23, 1207.
- COSGROVE, D.J. (1977). Microbial transformations in the phosphorus cycle. En " *Advances in microbial ecology* ", Vol. 1. M. Alexander, Editor. Plenum Press, New York, p. 95-134.
- COX, G. y TINKER, P.B. (1976). Translocation and transfer of nutrients in vesicular-arbuscular mycorrhizas. I.- The arbuscule and phosphorus transfer: A quantitative ultrastructural study. *New Phytol.*, 77, 371-378.
- DAFT, M.J. y NICOLSON, T.H. (1966). Effect of *Endogone* mycorrhiza on plant growth. II.- Influence of soluble phosphate on endophyte and host in maize. *New Phytol.*, 65, 343-350.
- DAFT, M.J. y HASCKAYLO, E. (1977). Growth of endomycorrhizal and non-mycorrhizal red maple seedlings in sand and anthracite spoil. *Forest Sci.*, 23, 207-216.
- DALAL; r.C. (1977). Soil organic phosphorus. En *Advances in Agronomy*, Vol.29, 83-117.
- DANIELS, B.A. y TRAPPE, J.M. (1979). *Glomus-epigeaus* sp-nov., a useful fungus for vesicular-arbuscular mycorrhizal research. *Can. J. Bot.*, 57, 539-542.
- DANIELS, B.A. y MENGE, J.A. (1981). Evaluation of the commercial potential of the vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus *Glomus epigaeus*. *New Phytol.*, 87, 345-354.
- DAUGHTREY, Z.W., GILLIAM, J.W. y KAMPRATH, E.J. (1973). Phosphorus supply characteristics of acid organic soils as measured by desorption and mineralization. *Soil Sci.*, 115, 18-24.
- DICK, W.A. y TABATABAI, M.A. (1977). An alkaline oxidation method for determination of total phosphorus in soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41 (3), 511-514.
- DOMMERMUES, Y. y MANGENOT, F. (1970). Transformations microbiennes du phosphore. En *Ecologie microbienne du sol*, Ed. Masson et Cie., Paris, p. 259-270.
- DONCASTER, C.C. (1962). A counting dish for nematodes. *Nematologica*, 7, 334-337.

- DORMAAR, J.F. (1961). Humic acid associated phosphorus in some soils of Alberta. *Can. J. Soil Sci.*, 43, 235-241.
- DORMAAR, J.F. (1964). Evaluations of methods for determination of total organic phosphorus in chemozonic soils of Southern Alberta. *Can. J. Soil Sci.*, 41, 265-271.
- DORMAAR, J.F. y WEBSTER, G.R. (1963). Determination of total organic phosphorus in soils by extraction methods. *Can. J. Soil Sci.*, 43, 35-43.
- DORMAAR, J.F. (1970). Phospholipids in chemozonic soils of northern Alberta. *Soil Sci.*, 110, 136-139.
- ESPINOZA, W. (1972). Physical, chemical and organic properties of volcanic ash soils from Chile as related to NO_3 retention. Ph D. Thesis, Universidad de Minnesota, St. Paul.
- EIVASI, F. y TABATABAI, M.A. (1977). Phosphatase in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 9, 167-172.
- ENWEZOR, W.O. (1967). Significance of the C: organic P ratio in the mineralization of soil organic phosphorus. *Soil Sci.*, 103, 62-66.
- FARES, F., FARDEAU, J.C y JACQUIN, F. (1974). Etude quantitative du phosphore organique dans differents types de sols. *Phosphore et Agriculture*, 63, 25-41.
- FAUVEL, B. y ROUQUEROL, T. (1970). The phosphatase test considered as an index of soil activity and evolution. *Revue Ecol. Biol. Sol*, 7, 393-406.
- FEDER, J. (1973). The phosphatases. En "Environmental Phosphorus Handbook". E.J. Griffith, A. Beeton, J.M. Spencer y D.T. Mitchell (Edts.), p. 475-508. J.Wiley & Sons, New York.
- FINKL, C. y SIMONSON, R.W. (1979). Phosphorus Cycle. En "The encyclopedia of soil science". Part 1. Fairbridge, R. y Finkl, C.W. (Edts.) Dowden, Hutchinson & Ross, Inc., p. 370-376.
- FRIEND, M.T. y BIRCH, J.F. (1960). Phosphate responses in relation to soil taste and organic phosphorus. *J. Agric. Sci.*, 54, 341-347.
- FRIDLAND, V. (1976). Lipid (alcohol-benzene) fraction of organic matter in different soil groups. *Soviet Soil Sci.*, 8, 548-557.
- GALINDO, G. (1974). Electric charges, sorption of phosphate and cation exchange equilibria in chilean Dystrandepts. Ph D. Thesis. Univ. de California, Riverside.
- GALINDO, G., OLGUIN, C. y SCHALSCHA, E.B. (1972). Phosphate-sorption capacity of clay fractions of soils derived from volcanic ash. *Geoderma*, 7 (3/4), 225-232.

- GAVRILOVA, A.N., SAVCHENKO, N.I. y SHIMKO, N.A. (1975).
Forms of phosphorus and phosphatase activity of the chief soil types of the Belorussian S.S.R.
Trans. 10 th. Int. Congr. Soil Sci., 4, 281-288.
- GERDEMANN, J.W. (1968). Vesicular-arbuscular mycorrhiza and plant growth. *Ann. Rev. Phytopath.*, 6, 397-418.
- GERDEMANN, J.W. (1975). Vesicular-arbuscular mycorrhizae. En "The development and function of roots". Torrey y Clarkson (Edts.) Academic Press, London, p. 575-591.
- GERDEMANN, J.W. y NICOLSON, T.H. (1963). Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 46, 235-244.
- GERDEMANN, J.W. y TRAPPE, J.M. (1974). The Endogonaceae of the Pacific Northwest. *Mycologia Memoir* nº 5.
- GERRITSE, R.G. y van DIJK, H. (1978). Determination of phosphatase activities of soils and animal wastes. *Soil Biol. Biochem.*, 10, 545-551.
- GIANINAZZI-PEARSON, V. (1976). Les mycorrhizes endotrophes: état actuel des connaissances et possibilités d application dans la pratique culturale. *Ann. Phytopath.*, 8, 249-256.
- GIESEKING, J.E. (1979). En "The encyclopedia of soil science". Part 1. Fairbridge, R.W. y Finkl, C.W.(Edts). Dowden, Hutchinson & Ross Inc. Penn.p. 442.
- GIOVANETTI, M. y MOSSE, B. (1980). An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *New Phytol.*, 84, 489-500.
- GORING, C.A.I. y BARTHOLOMEW, W.V. (1952). Adsorption of mononucleotides, nucleic acids and nucleoproteins by clays. *Soil Sci.*, 74, 149-164.
- GRAUD, L.F. (1969). A beaded endotrophic mycorrhiza of northern and southern red oak. *Mycologia*, 61, 408-409.
- GRAW, D. (1979). Influence of soil pH on the efficiency of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.*, 82, 687-695.
- GREAVES, M.P. y WEBLEY, D.M. (1965). A study of the breakdown of organic phosphates by micro-organisms from the root region of certain pastures grasses. *J. Appl. Bacteriol.*, 28, 454.
- GREAVES, M.P. y WEBLEY, D.M. (1967). The hydrolysis of inositol-phosphates by aerobacter aerogenes. *Biochim. Bioph. Acta*, 132, 412-418.
- GREAVES, M.P. y WEBLEY, D.M. (1969). Hydrolysis of myo-inositol hexaphosphate by soil micro-organisms. *Soil Biol. Biochem.*, 1, 37-43.

- GREAVES, M.P. y WILSON, M.J. (1970). The degradation of nucleic acids and montmorillonite-nucleic acid complexes by soil microorganisms. *Soil Biol. Biochem.*, 2, 257-268.
- GREB, B.W. y OLSEN, S.R. (1967). Organic phosphorus in calcareous colorado soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 31, 85-89.
- GREENLAND, D.J. (1971). Interactions between humic acids and fulvic acids and clays. *Soil Sci.*, 111, 34-41.
- GREENLAND, D.J. y HAYES, M.H.B. (1978). En "The chemistry of soil constituents". John Wiley & Sons, New York, p. 15-20.
- GUTIERREZ JEREZ, F., PEREZ MENDEZ, J.A., FERNANDEZ CALDAS, E. y TRUJILLO JACINTO DEL CASTILLO, I. (1979). Fraccionamiento de los fosfatos orgánicos en andosoles de las Islas Canarias. *Anales Edaf. y Agrobiol.*, 38 (7-8), 1209-1219.
- HALL, I.R. (1977). Effect of applied nutrients and endomycorrhizas on metrosideros *umbellata* and *Leptospermum seoparium*. *N.Z.J. Bot.*, 15, 481-484.
- HALL, I.R. (1979). Soil pellets to introduce vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi into soil. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 85-86.
- HALM, B.J., STEWART, J.W.B. y HALSTEAD, R. L. (1972). The phosphorus cycle in a native grassland ecosystem. *Isotopes and Radiation in Soil-Plant Relationships including Forestry*. I.A.E.A., Vienna. Proc. Symp., p. 571-586.
- HALSTEAD, R.L., ANDERSON, G. y SCOTT, N.M. (1966). Extraction of organic matter from soils by means of ultrasonic dispersion in aqueous acetylacetone. *Nature, Lond.*, 211, 1430-1431.
- HALSTEAD, R.L. y ANDERSON, G. (1970). Chromatographic fractionation of organic phosphates from alkali, acid and aqueous acetylacetone extracts of soils. *Can. J. Soil Sci.*, 50, 111-119.
- HALSTEAD, R.L. y MCKERCHER, R.B. (1975). Biochemistry and cycling of phosphorus. En "Soil Biochemistry", Vol. 4, 31-63. E.A. Paul y A.D. McLaren (Édts.). Marcel Dekker, New York.
- HANCE, R.J. y ANDERSON, G. (1963). Extraction and estimation of soil phospholipids. *Soil Sci.*, 96, 94-98.
- HARLEY, J.L. y MCGREADY, C.C. (1952). The uptake of phosphate by excised mycorrhizal roots of the beech. III.- The effect of fungal sheet on the availability of phosphorus to the core. *New Phytol.*, 51, 342-348.
- HARLEY, J.L. (1972). *The Biology of Mycorrhiza*. Leonard Hill, London.
- HARLEY, J.L. (1973). Symbiosis in the ecosystem. *J. Nat. Sci. Council Sri-Lanka*, 1, 31-48.

- HARRAP, F.E.G. (1963). Use of sodium EDTA in the determination of soil organic phosphorus. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 26 (3), 383-390.
- HATTINGH, M.J., GRAY, L.E. y GERDEMANN, J.W. (1973). Uptake and translocation of ³²P-labelled phosphate to onion roots by endomycorrhizal fungi. *Soil Sci.*, 116, 383-387.
- HAYMAN, D.S. (1970). Endogone spore numbers in soil and vesicular-arbuscular mycorrhiza wheat as influenced by season and soil treatment. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 54, 53-63.
- HAYMAN, D.S. (1975). Phosphorus cycling by soil micro-organisms and plant roots. En "Soil Microbiology" p. 67-89. Walker, N., Editor, Butterworths (London).
- HAYMAN, D.S. (1975a). The occurrence of mycorrhizas in crops as affected by soil fertility. En "Endomycorrhizas", F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.). Academic Press, London, 495-509.
- HAYMAN, D.S. (1977). Mycorrhizal effects on white clover in relation to hill land improvement. *ARC Res. Rev.*, 3, 82-85.
- HAYMAN, D.S. (1978). Endomycorrhizae. En "Interactions between non-pathogenic soil microorganisms and plants". Y. Dommergues y S. Krupa (Edts.). Elsevier Publ., Amsterdam, p. 401-442.
- HAYMAN, D.S. (1980). Mycorrhiza and crop production. *Nature* Nº 287, 487-488.
- HAYMAN, D.S. y MOSSE, B. (1972). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. III.- Increased uptake of labile P from soil. *New Phytol.*, 71, 41-47.
- HAYMAN, D.S. y MOSSE, B. (1971). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. I.- Growth of Endogone-inoculated plants in phosphate deficient soils. *New Phytol.*, 70, 19-27.
- HAYMAN, D.S., JOHNSON, A.M. y RUDDLESDIN, I. (1975). The influence of phosphate and crop residues on Endogone spores and vesicular-arbuscular mycorrhiza under field conditions. *Plant Soil*, 43, 489-495.
- HAYMAN, D.S. y DAY, J.M. (1978). Uptake of molybdenum. Rothamsted Report for 1977. Part I, p. 240.
- HAYMAN, D. S. y Mosse, B. (1979). Improved growth of white clover in hill grassland by mycorrhizal inoculation. *Ann. Appl. Biol.*, 93, 141-148.
- HAYMAN, D.S. y STOVOLD, G.E. (1979). Spore populations and infectivity of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi in New South Wales. *Aust. J. Bot.*, 27, 227-233.

- HAU, T.V y LAUDELOUT, H. (1966). Absorption of phosphate by rice roots. *Ann. Physiol. Vég.*, 8, 13-24.
- HEPPER, C.M. (1979). Germination and growth of Glomus Caledonius spores: The effects of inhibitors and nutrients. *Soil Biol. & Biochem.*, 11, 269-277.
- HERLIHY, M. (1972). Microbial and enzyme activity in peats. *Tech. Commun. Int. Soc. Hort. Sci., Acta Horticulturae* (26), 45-50.
- HIRREL, M.C., MEHRAVAR, H. y GERDEMANN, J.W. (1978). Vesicular-arbuscular mycorrhizae in Chenopodiaceae and Cruciferae. Do they occur?. *Can. J. Bot.*, 56, 2813-2817.
- HOFFMAN, G. y ELIAS-AZAR, K. (1965). Various soil fertility factors of North Persian soils and their connections with the activity of hydrolytic enzymes. *Z. Pflanzenernähr. Düng Bodenkd.*, 108, 199-217.
- HOLEVAS, C.D. (1966). The effect of a vesicular-arbuscular mycorrhiza on the uptake of soil phosphorus by strawberry (*Fragaria* sp. var. Cambridge Favourite). *J. Hort. Sci.*, 41, 57-64.
- HOLFORD, I.C.R. (1976). Effects of phosphate buffer capacity of soil on the phosphate requirements of plants. *Plant and Soil* 45, 433-444.
- HOLFORD, I.R.C. (1977). Factors affecting accumulation and availability of residual fertilizer phosphate. En "Efficiency of phosphorus utilization" p. 41-45, *Proceedings of a Symp. held at the Univ. of New England, Armindale, N.S.W., Australia, Agosto 1976.*
- HONG, J.K. y YAMANE, I. (1980). Proposal for a more suitable method to extract soil organic phosphorus. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 26 (3), 383-390.
- IGUE, K., FUENTES, R. y BORNEMISZA, E. (1971). Mineralización de P orgánico en suelos ácidos de Costa Rica. *Turrialba* 21 (1), 47-52.
- INO, Y. y MONSI, M. (1964). On the decomposition of soil organic matter in humic allophane soils of Mount Kirigamine. *Bot. Mag. (Tokio)* 77, 168-175.
- IPINMIDUM, W.B. (1973). Comparison of some methods for determining organic phosphorus in some Nigerian soils. *Soil Sci.*, 115, 324-325.
- ISLAM, A. y ASHMED, B. (1973). Distribution of inositol phosphates, phospholipids, and nucleic acids and mineralization of inositol phosphates in some Bangladesh soils. *J. Soil Sci.*, 24, 193-198.

- ISLAM, A. y MANDAL, R. (1976). Amounts and mineralization of organic phosphorus compounds and derivatives in some surface soils of Bangladesh. *Geoderma* 17, 57-68.
- JACKMAN, R.H. y BLACK, C.A. (1951). Solubility of iron, aluminium, calcium, and magnesium inositol phosphates at different pH values. *Soil Sci.*, 72, 179-186.
- JACKSON, M.L. (1958). *Soil chemical analysis*. Constable and Co., London.
- JACKSON, N.E., FRANKLIN, R.E. y MILLER, R.H. (1972). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on growth and phosphorus content of three agronomic crops. *Soil Sci. Am. Proc.*, 36, 64-67.
- JANOS, P.P. (1980). Vesicular-arbuscular mycorrhizae effect lowland tropical rainforest plant growth. *Ecology*, 61, 151-162.
- JAYAYARNAN, K.N. y PRASSAD, N.N. (1972). Production of phosphatase by soil *Aspergilli*. *Madras Agric. J.*, 59, 640-641.
- KAILA, A. (1962). Determination of total organic phosphorus in samples of mineral soil. *J. Sci. Agr. Soc. Finland*, 34, 187-196.
- KAILA, A. (1963). Organic phosphorus in Finnish soils. *Soil Sci.*, 95, 38-44.
- KAILA, A. y VIRTAANEN, O. (1955). Determination of organic phosphorus in samples of peat soils. *J. Sci. Agric. Soc. Finland*, 27, 104-115.
- KISS, S., DRAGAN-BULARDA, M. y RADULESCU, D. (1975). Biological significance of enzymes accumulated in soil. *Adv. Agron.*, 27, 25-87.
- KHAN, A.G. (1975). Growth effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on crops in the field. En "*Endomycorrhizas*", F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.), Academic Press, London, p. 419-435.
- KLENNER, N. y SCHAEFER, R. (1972). Humification and mineralization of plants remains as steps of ecosystem regulation in Ñadi soils of Southern Chile. *Symp. biol. Hung.*, 11, 109-115.
- KO, W.H. y HORA, F.K. (1970). Production of phospholipases by soil microorganisms. *Soil Sci.*, 110, 355-358.
- KOSKE, R.E., SUTTON, J.C. y SHEPPARD, B.R. (1975). Ecology of Endogone in Lake Huron sand dunes. *Can. J. Bot.*, 53, 87-93.
- KOWALENKO, C.G. (1970). M. Sci. Thesis. Univ. of Saskat., 106 p.

- KOWALENKO, C.G. (1978). Organic Nitrogen, Phosphorus and Sulfur in soils. En " Soil organic matter ", Cap. 3, Schnitzer y Khan (Edts), Elsevier Publ., New York.
- KOWALENKO, C.G. y McK ERCHER, R.B. (1970). Phospholipid P content of Saskatchewan soils. *Soil Biol. Biochem.*, 2, 269-272.
- KOWALENKO, C.G. y MCKERCHER, R.B. (1971). Phospholipid components extracted from Saskatchewan soils. *Can. J. Soil Sci.*, 51, 19-22.
- KOZLOV, K.A., KISLITSINA, V. y MARKOVA, Y.V. (1973). Enzymic activity and humus content in Eastern Siberian soils. *Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Abt. II*, 128, 144-148.
- KRUCKELMAN, H.W. (1975). Effect of fertilizers, soils, soil tillage and plant species on the frequency of Endogone chlamydospores and mycorrhizal infection in arable soils. En "Endomycorrhizas", F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.), Academic Press, London, p. 511-525.
- LARSEN, S. (1967). Soil phosphorus. *Adv. Agron.*, 19, 151-210.
- LA RUE, J.H., McLELLAN, W.D. y PEACOCK, W.L. (1975). Mycorrhizal fungi of peach nursery nutrition. *Calif. Agric.*, 29, 6-7.
- LEGG, J.O. y BLACK, C.A. (1955). Determination of organic phosphorus in soils. II.- Ignition method. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 19, 139-143.
- LEVESQUE, M. (1969). Characterization of model and soil organic matter-metal-phosphate complexes. *Can. J. Soil Sci.*, 49, 365-373.
- LEWIS, D.H. (1973). Concepts in fungal nutrition and the origin of biotrophy. *Biol. Rev.*, 48, 261-278.
- LEWIS, D.H. (1975). Comparative aspects of the carbon nutrition of mycorrhizas. En " Endomycorrhizas ". F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.), Academic Press, London, p. 119-148.
- LINDSAY, W.L. y MORENO, E.C. (1960). Phosphate phase equilibria in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 24, 177-182.
- LINK, H.F. (1809). *Observatione in ordine plantarum naturales*. Ges Naturforsch Freunde, Berlin, 3, 3-42.
- LONGERI, L. (1973). Contribución al estudio microbiológico de algunos suelos chilenos. Boletín Técnico Nº 48. Escuela de Agronomía, Univ. de Concepción.

- LOUW, H.A. (1970). A study of the phosphate-dissolving bacteria in the root region of wheat and lupin. *Phytophylactica*, 2, 21-26.
- MAC LEAN, A.A. (1965). Extraction of organic phosphorus from soils with sodium bicarbonate. *Can. J. Soil Sci.*, 45, 165-170.
- MALLOCH, D.W., PIROZYNSKI, K.A. y RAVEN, P.H. (1980). Ecological and evolutionary significance of mycorrhizal symbiosis in vascular plants (A Review). *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 77, 2113-2118.
- MARTIN, J.P. (1950). Use of acid, rose bengal, and streptomycin in the plate method for estimating soil fungi. *Soil Sci.*, 69, 215-232.
- MARTIN, J.K. (1973). The influence of rhizosphere microflora on the availability of ^{32}P -myoinositol hexaphosphate phosphorus to wheat. *Soil Biol. Biochem.*, 5, 473-483.
- MARTINEZ, A.T. y RAMIREZ, C. (1978). Microfungal biomass and number of propagules in an andosol. *Soil Biol. Biochem.*, 10, 529-531.
- MARX, D.H. (1973). Mycorrhizae and feeder root diseases. En "Ectomycorrhizae". G.C. Marks y T.T. Kozlowski (Edts.), Academic Press, New York, p. 351-382.
- MATTINGLY, G.E.G. (1975). Labile phosphate in soils. *Soil Sci.*, 119 (5), 369-375.
- MEHTA, N.C., LEGG, J.O., GORING, C.A.I. y BLACK, C.A. (1954). Determination of organic phosphorus in soils. I.- Extraction method. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 15, 443-449.
- MENGE, J.A., LEMBRIGHT, H. y JOHNSON, E.L.V. (1977). Utilization of mycorrhizal fungi in citrus nurseries. *Proc. Int. Soc. Citriculture*, 1, 129-132.
- MENGE, J.A. y JOHNSON, E.L.V. (1978). Commercial production of mycorrhizal inoculum may benefit citrus growers. *Citrograph*, 139-143.
- MENGE, J.A., STEIRLE, D., BAGYARAJ, D.J., JOHNSON, E.L.V. y LEONARD, R.T. (1978). Phosphorus concentrations in plants responsible for inhibition of mycorrhizal infection. *New Phytol.*, 80, 575-578.
- MENGEL, K. y KIRKBY, E.A. (1978). Principles of Plant Nutrition. International Potash Institute (Editor), Switzerland.
- MEYER, F.H. (1975). Distribution of ectomycorrhizae in native and man-made forest. En "Ectomycorrhizae". Their ecology and physiology, G.C. Marks y T.T. Kozlowski (Edts.), Academic Press, New York, p. 79-105.

- MOGHIMI, A. y TATE, M.E. (1979). Does 2-ketogluconate chelate calcium in the pH range 2.4 to 6.4? *Soil Biol. Biochem.*, 10 (4), 289-292.
- MORIYON, I., MARTINEZ, A. y RODRIGUEZ-BURGOS, A. (1978).
Microbiological study of an andosol.
Anal Edaf. y Agrobiol., 37 (5-6), 479-483.
- MORTLAND, M.M. (1970). Clay-organic complexes and interactions. *Adv. Agron.*, 22, 75-117.
- MOSHI, A.O., WILD, A. y GREENLAND, D.J. (1974). Effect of organic matter on phosphate adsorption of Kikuyu red clay from Kenia. *Geoderma* 11, 275 -285.
- MOSSE, B. (1967). Effects of host nutrient status on mycorrhizal infection. *Rep. Rothamsted Exp. Sta.* 1966, 79-80.
- MOSSE, B. (1972). The influence of soil type and Endogone strain on the growth of mycorrhizal plants in phosphate deficient soils. *Rev. Ecol. Biol. Sol* 9, 529-537.
- MOSSE, B. (1973). Advances in the study of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 11, 171-196.
- MOSSE, B. (1973a). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IV.- In soil given additional phosphate. *New Phytol.*, 72, 127-136.
- MOSSE, B. (1977). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. X.- Responses to *Stylosanthes* and maize to inoculation in unsterile soils. *New Phytol.*, 78, 277-288.
- MOSSE, B. (1977a). The role of mycorrhiza in legume nutrition on marginal soils. En " Exploiting the legume-*Rhizobium* symbiosis in Tropical agriculture ". College of Tropical Agriculture, Univ. of Hawai, Miscellaneous Publication, 145, 275-292.
- MOSSE, B. (1978). Mycorrhiza and plant growth. En " Structure and functioning of plant population ". *Verhaud. der Koninklijke Neder. Akad. van Wetenschappen, Afdeling Natuurkunde, Tweede Reeks*, deel 70, 269-298.
- MOSSE, B. y BOWEN, G.D. (1968). A key to recognition of some Endogone spore types. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51, 469-483.
- MOSSE, B. y PHILLIPS, J.M. (1971). The influence of phosphate and other nutrients on the development of vesicular-arbuscular mycorrhiza in culture. *J. Gen. Microbiol.*, 69, 157-166.
- MOSSE, B., POWELL, C. Ll. y HAYMAN, D.S. (1976). Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. IX.- Interactions between VA mycorrhiza, rock phosphate and symbiotic nitrogen fixation. *New Phytol.*, 76, 331-342.

- MUNEVAR, F. y WOLLUM, A.G. (1977). Effects of the addition of phosphorus and inorganic nitrogen on carbon and nitrogen mineralization in andepts from Colombia. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 540-544.
- MUNK, H. (1972). Vertical migration of inorganic phosphate under conditions of a high phosphate application. *Landw. Forsch.* 27/ I. Sonderh., 192-199.
- MURDOCH, C.L., JACKOBS, J.A. y GERDEMANN, J.W. (1967). Utilization of phosphorus sources of different availability by mycorrhizal and non-mycorrhizal maize. *Plant Soil*, 27, 329-334.
- NANNIPIERI, P., CERVELLI, S. y PERNA, A. (1973). Enzyme activities in some Italian soils. *Agric. Ital. Pisa* 73, 367-376.
- NAVARRO, J.G., BORIE, F. y CAIOZZI, M. (1972). Influence of dietary fish meal on egg fatty acid composition. *J. Sci. Fd. Agric.*, 23, 1287-1292.
- NAVARRO, J.G., BORIE, F., SAAVEDRA, J.C. y CAIOZZI, M. (1972a). Extraction of lipid-protein complexes from egg yolk. *Journal of the A.O.A.C.*, 55 (1), 975-978.
- NICOLSON, T.H. (1967). Vesicular-arbuscular mycorrhiza. An universal plant symbiosis. *Sci. Prog. Oxford*, 55, 561-581.
- NICOLSON, T.H. y SCHENCK, N.C. (1979). Endogonaceous mycorrhizal endophytes in Florida. *Mycologia*, 71, 178-198.
- NIGRO, C. y SCANDELLA, P. The phosphatase activity in soil. *Annali dell Istituto Sperimentale per la Nutrizione delle Piante* 8, (1978).
- OCAMPO, J.A. (1976). Investigación de los factores ecológicos que afectan el establecimiento en la rizosfera de microorganismos utilizados como fertilizantes biológicos: Azotobacter y fobac erias. Tesis Doctoral, Univ. de Granada.
- OCAMPO, J.A. (1980). Micorrizas VA. I.- Características generales. *Anal. Edaf. Agrob.*, 39, 1-2, 351-365.
- OCAMPO, J.A. (1981). Micorrizas VA. II.- Efecto sobre el crecimiento de las plantas. *Anal. Edaf. Agrob.* (en prensa).
- OCAMPO, J.A., BAREA, J.M. y MONTOYA, E. (1975). Interactions between Azotobacter and "phosphobacteria" and their establishment in the rhizosphere as affected by soil fertility. *Can. J. Microbiol.*, 21 (8), 1160-1165.
- OCAMPO, J.A., BAREA, J.M. y MONTOYA, E. (1977). Estudio de los factores ecológicos que afectan a las poblaciones microbianas en la rizosfera. *Anal. Edaf. Agrobiol.* 36, (11), 1281-1297.

- OLSEN, S.R. y WATANABE, F.S. (1970). Diffusive supply of phosphorus in relation to soil texture variation. *Soil Sci.*, 110, 318-327.
- OMOTOSO, T.I. y WILD, A. (1970). Content of inositol phosphates in some English and Nigerian soils. *J. Soil Sci.*, 21, 216-223.
- OWUSU-BENNOOAH, E. y WILD, A. (1979). Auto-radiography of the depletion zone of phosphate around onion roots in the presence of vesicular-arbuscular mycorrhiza. *New Phytol.*, 82, 133-141.
- PAIRUNAN, A.K., ROBSON, A.D. y ABBOTT, L.K. (1980). Effectiveness of vesicular-arbuscular mycorrhizae in increasing growth and phosphorus uptake of subterranean clover from phosphorus sources of different solubilities. *New Phytol.*, 84, 327-338.
- PARFITT, R.L. (1977). Phosphate adsorption on an oxisol. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 1064-1067.
- PARFITT, R.L. (1978). Anion adsorption in soils. *Adv. Agron.*, 30, 1-42.
- PATRICK, W.H.Jr., GOTOH, S. y WILLIAMS, B.G. (1973). Strengite dissolution in flooded soils and sediments. *Science*, 179, 564-565.
- PAUL, N.B. y SUNDARA RAO, W.V.B. (1971). Phosphate-dissolving bacteria in the rhizosphere of some cultivated legumes. *Plant and Soil*, 35, 127-132.
- PEARSON, V. y TINKER, P.B. (1975). Measurement of phosphorus fluxes in the internal hyphae of endomycorrhizas. En "Endomycorrhizas", F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.), Academic Press, London, p. 277-288.
- PEREZ MENDEZ, J.A., GUTIERREZ JEREZ, F., FERNANDEZ CALDAS, E. y TRUJILLO JACINTO DEL CASTILLO. (1979). Fósforo orgánico en andosoles y su relación con otros parámetros del suelo. *Anal. Edaf. Agrobiol.*, 38 (7-8), 1199-1208.
- PHILLIPS, J.M. y HAYMAN, D.S. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi for rapid assessment of infection. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 55, 158-161.
- PIROZYNSKY, K.A. y MALLOCH, D.W. (1975). The origin of land plants: A matter of mycotrophism. *Biosystems*, 6, 153-164.
- POCHON, J. y TARDIEUX, P. (1961). Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Editions de la Tourelle (Seine).

- POWELL, C. Ll., 1975. Plant growth responses to vesicular-arbuscular mycorrhiza. VIII.- Uptake of P by onion and clover infected with different Endogone spore types in ^{32}P labelled soils. *New Phytol.*, 75, 563-566.
- POWELL, C. Ll. (1975a). Potassium uptake by endotrophic mycorrhizas. En " *Endomycorrhizas* ", F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker, (Edts.), Academic Press, London, p. 461-468.
- POWELL, C. Ll. (1976). Development of mycorrhizal infections from Endogone spores and infected root segments. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 66, 439-445.
- POWELL, C.Ll. (1977). Mycorrhizas in hill-country soils. II.- Effect of several mycorrhizal fungi on clover growth in sterilised soils. *N.Z.J.Agric. Res.*, 20, 59-62.
- POWELL, C.Ll. (1977a). Mycorrhizas in hill-country soils. III.- Effect of inoculation on clover growth in unsterile soils. *N. Z. J. Agric. Res.*, 20, 343-348.
- POWELL, C. Ll. (1979). Inoculation of white clover and ryegrass seed with mycorrhizal fungi. *New Phytol.*, 83, 81-85.
- POWELL, C.Ll. (1980). Mycorrhizal infectivity of eroded soils. *Soil Biol. Biochem.*, 12, 247-250.
- POWELL, C.Ll. y DANIEL, J. (1978). Mycorrhizal fungi stimulate uptake of soluble and insoluble phosphate fertilizer from a phosphate deficient soil. *New Phytol.*, 80, 351-358.
- PUKHIDSKAYA, N.S. y KOVRIGO, V.P. (1974). Enzyme activity of basic types of soils of the Udmart Autonomous SSR. (*Chem. Abstr.*, 84, 16069z)
- RAJ, J., BAGYARAJ, D.J. y MANJUNATH, J. (1981). Influence of soil inoculation with vesicular-arbuscular mycorrhiza and a phosphate dissolving bacterium on plant growth and ^{32}P uptake. *Soil Biol. Biochem.*, 13, 105-108.
- RAJAN, S.S.S. (1973). Phosphorus adsorption characteristics of Hawaiian soils and their relationship to equilibrium phosphorus concentration required for maximum growth of millet. *Plant Soil*, 39, 519-532.
- RAJAN S.S.S. y FOX, R.L. (1975). Phosphate adsorption by soils. II.- Reactions in tropical acid soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 39 (5), 846.
- RAMBELLI, A. (1972). The rhizosphere of mycorrhizae. En " *Ectomycorrhizas* ", G.C. Marks y T.T. Kozlowski (Edts.), Academic Press, New York, p. 299-343.
- RAMIREZ-MARTINEZ, J.R. y McLAREN, A.D. (1966). Determination of soil phosphatase activity by a fluorimetric technique. *Enzymologia*, 30, 243-253.

- RAMOS-CORMENZANA, A. (1970). Criterios de selección de fosfobacterias. *Ars. Pharm.* XI, 449-454.
- RAMOS, A., BAREA, J.M. y CALLAO, V. (1966). Liberación de fósforo a partir de la fosforita por bacterias que actúan sobre los fosfatos. *Ars. Pharm.*, VII (5-6), p. 251.
- RAMOS, A. y CALLAO, V. (1967). El empleo de la solubilización de fosfatos en placa como técnica diferencial bacteriana. *Microbiol. Españ.*, 20, 1-12.
- RAMOS, A., CALLAO, V. y CARVALHO, P.C.T. (1968). La solubilización de fosfatos por hongos del suelo. *Microbiol. Españ.*, 21, 1-15.
- RAMOS, A., BAREA, J.M. y CALLAO, V. (1972). A phosphate dissolving and nitrogen fixing microorganism and its possible influence on soil fertility. *Agrochimica*, 16, 345-350.
- REDHEAD, J.F. (1968). Mycorrhizal associations in some Nigerian forest trees. *Trans. Br. Mycol. Soc.*, 51, 377-387.
- RHODES, L.H. y GERDEMANN, J.W. (1975). Phosphate uptake zones of mycorrhizal and non-mycorrhizal onions. *New Phytol.*, 75, 555-571.
- RHODES, L.H. y GERDEMANN, J.W. (1978). Hyphal translocation and uptake of sulphur by vesicular-arbuscular mycorrhizal of onion. *Soil Biol. Biochem.*, 10, 355-360.
- RHODES, L.H. y GERDEMANN, J.W. (1978a). Translocation of calcium and phosphate by external hyphae of vesicular-arbuscular mycorrhizae. *Soil Sci.*, 126, 125-126.
- RIXON, A.J. (1966). Soil fertility changes in a red brown earth under irrigated pastures. *Aust. J. Agric. Res.*, 17, 317-325
- ROSS, J.P. y GILLIAM, J.W. (1973). Effect of Endogone mycorrhiza on phosphorus uptake by soybeans from inorganic phosphates. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 37, 237-239.
- RYDEN, J.C. y SYERS, J.K. (1977). Origin of the labile phosphate pool in soils. *Soil Sci.*, 123 (6), 353-361.
- SAFIR, G.R. (1980). Vesicular-arbuscular mycorrhizae and crop productivity. En "The biology of crop productivity". Academic Press, London, p. 231-252.
- SAFIR, G.R., BOYER, J.S. y GERDEMANN, J.W. (1971). Nutrient status and mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Science*, 172, 581-583.
- SAFIR, G.R., BOYER, J.S. y GERDEMANN, J.W. (1972). Mycorrhizal enhancement of water transport in soybean. *Pl. Physiol.*, Lancaster, 49, 700-703.

- SAIF, S.R. y KHAN, A.G. (1977). The effect of vesicular-arbuscular mycorrhizal associations on growth of cereals. III.- Effects on barley growth. *Plant Soil*, 47, 17-26.
- SANDERS, F.E. (1975). The effect of foliar-applied phosphate on the mycorrhizal infection of onion roots. En " *Endomycorrhizas* ", F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.), Academic Press, London, p. 261-276.
- SANDERS, F.E. y TINKER, P.B. (1971). Mechanism of absorption of phosphate from soil by *Endogone* mycorrhizas. *Nature*, 233, 278-279.
- SANDERS, F.E. y TINKER, P.B. (1973). Phosphate flow into mycorrhizal roots. *Pestic. Sci.*, 4, 385-395.
- SANDERS, F.E. y HAYMAN, D.S. (1977). The agricultural importance of vesicular-arbuscular mycorrhiza. The 139 th. Ann. Meet. BAAS, Univ. of Aston.
- SANIKIDGE, G.S., GOGORIKIDGE, N.I. y SHONIYA, N.K. (1973). Enzymic activity of basic soil types of the subtropical zone of the Western Georgian SSR (*Chem. Abstr.*, 79, 114397w).
- SAUCHELLI, V. (1966). Phosphates in agriculture. Reinhold, N. York.
- SAUNDERS, W.M.H. (1959). Effect of phosphate topdressing on a soil from andesite volcanic ash. I.- Forms of soil phosphorus and a method for their determination. *N. Z. J. Agric. Res.*, 2, 427-440.
- SAUNDERS, W.M.H. y WILLIAMS, E.G. (1955). Observations on the determination of total organic phosphorus in soils. *J. Soil Sci.*, 6, 254-267.
- SCHAEFER, R., URBINA, A. y SAN MARTIN, E. (1969). Actividad microbiana como un sistema de regulación del ecosistema en suelos hidromórficos derivados de cenizas volcánicas del Sur de Chile. Panel sobre suelos derivados de cenizas volcánicas en América Latina, Turrialba, B-6, 1.14.
- SCHAEFER, R., URBINA, A., SAN MARTIN, E. y KLENNER, N. (1971). Estudios sobre actividad de las poblaciones microbianas en suelos chilenos. II.- Proyecto de estudio y reconocimiento de suelos chilenos ONU-Ministerio de Agricultura, 95 pgs.
- SCHALSCHA, E.B., GONZALEZ, C., VERGARA, I., GALINDO, G. y SCHATZ, A. (1965). Effect of drying on volcanic ash soils in Chile. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 29, 481-482.
- SCHNITZER, M (1978). Humic substances: chemistry and reactions. En " *Soil Organic Matter* " Cap. I, M. Schnitzer y S.U. Khan (Edts.), Elsevier S.P.C., N. York.

- SCHNITZER, M. y HANSEN, E.H. (1970). Organo-metallic interactions in soils. 8.- An evaluation of methods for the determination of stability constants of metal-fulvic acids complexes. *Soil Sci.* 109, 333-340.
- SIMONEAUX, B.J. y CALDWELL, A.G. (1965). Phospholipids in selected soils. *Agron. Abstr. Ann. Meet. Am. Soc. Agron.* pp. 77.
- SINHA, M.K. (1971). Organo-metallic phosphate. *Plant Soil*, 35, 471-493.
- SINHA, M.K. (1972). Organo-metallic phosphates. IV.- The solvent action of fulvic acids on insoluble phosphates. *Plant Soil*, 37, 457.
- SKUJINS, J.J. (1967). Enzymes in soil. En *Soil Biochemistry*, A.D. McLaren y G.H. Peterson (Edts), Vol. I, 371-414, Marcel Dekker, N. York.
- SKUJINS, J.J. (1976). Extracellular enzymes in soils. *CRC critical reviews in microbiology* 4, 383-421, CRC Press, Cleveland, Ohio.
- SKUJINS, J.J., BRAAL, L. y McLAREN, A.D. (1962). Characterization of phosphatase in a terrestrial soil sterilized with an electron beam. *Enzymologia*, 25, 125-133.
- SLANKIS, V. (1974). Soil factors influencing formation of mycorrhizae. *Ann. Rev. Phytopathol.*, 12, 437-457.
- SMITH, S.E. (1974). Mycorrhizal fungi. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 275-313.
- SMITH, J.H., ALLISON, F.E. y SOULIDES, D.A. (1961). Evaluation of phosphobacterin as a soil inoculant. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 25, 109-111.
- SOMANI, L.L. y SAXENA, S.N. (1977). Studies on distribution of organic phosphorus in humus fractions of some soils of Rajasthan. *Ann. of Arid Zone*, 16 (1), 45-52.
- SPARLING, G.P. y TINKER, P.B. (1978). Mycorrhizal infection in Penine grassland. III.- Effects of mycorrhizal infection on the growth of white clover. *J. Appl. Ecol.*, 15, 959-964.
- SPERBER, J.I. (1957). Solution of mineral phosphates by soil bacteria. *Nature*, 180, 994-995.
- SPEIR, T.W. y ROSS, D.J. (1978). Soil phosphatase and sulphatase. En "*Soil Enzymes*", Cap. 6, R.G. Burns (Editor), Academic press, N. York.

- SPEIR, T.W. (1977). Studies on a climosequence of soils in tussock grasslands. 10.- Distribution of urease, phosphatase and sulphatase activities in soils fractions. *N. Z. Jl. Sci.*, 20, 151-157.
- SPIERS, G.A. y MCGILL, W.B. (1979). Effects of phosphorus addition and energy supply on acid phosphatase production and activity in soils. *Soil Biol. Biochem.*, 11 (1), 3-8.
- STEVENSON, F.J. (1967). Organic acids in soil. En "Soil Biochemistry", Vol. I, 119-146. A.D. Mc Laren (Editor), Marcel Dekker, N. York.
- STEWART, J.H. y TATE, M.E. (1971). Gel chromatography of soil organic phosphorus. *J. Chromatog.* 60, 75-82.
- STEWART, J.H. y OADES, J. M. (1972). The determination of organic phosphorus in soils. *J. Soil Sci.*, 23 (1), 38-49.
- St. JOHN, T.V. (1980). Root size, root hairs and mycorrhizal infection. Reexamination of Bayliss hypothesis with tropical trees. *New Phytol.*, 84, 483-487.
- STOTZKY, G. y NORMAN, A.G. (1961). Factors limiting microbial activities in soil. I.- The level of substrate, nitrogen and phosphorus. *Arch. Microb.*, 40, 341-369.
- STOTZKY, G. (1972). Activity, ecology and population dynamics of microorganisms in soil. *CRC Critical Reviews in Microbiology*, 2, 59-137.
- STRZEMSKA, J. (1974). The occurrence and intensity of mycorrhizas in cultivated plants. *Proc. 10 th. Int. Cong. Soil Sci., Moscow*, 3, 81-86.
- SUBBA-RAO, H.S. y BAGPAI, P.D. (1965). Fungi on the surface of legume root nodules and phosphate solubilization. *Experientia*, 21, 386.
- SUBBA-RAO, N.S. (1974). Prospects of bacterial fertilization in India. *Fertil. News*, 19, 32-36.
- SUTTON, J.C. (1973). Developments of vesicular-arbuscular mycorrhizae in crop plants. *Can. J. Bot.*, 51, 2487-2493.
- SUTTON, J.C. y SHEPARD, B.R. (1976). Agregation of sand-dune soil by endomycorrhizal fungi. *Can. J. Bot.*, 54, 326-333.
- SWABY, R.J. (1975). Biosuper-biological superphosphate. En " Sulphur in Australasian Agriculture ", R.D. Mc Lachlan (Editor), Sydney Univ. Press, Sydney, p. 213-220.
- SWABY, R.J. y SPERBER, J. (1959). Phosphate dissolving micro-organisms in the rhizosphere of legumes. En " Nutrition of Legumes", Butterworths, London, p. 289-294.

- TABATABAI, M.A. y BREMNER, I.M. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.*, 1, 301.
- TARDIEUX-ROCHE, A. (1966). Contribution à l'étude des interactions entre phosphates naturels et microflore du sol. *Annales Agronomiques*, 17, 403-479.
- TEJEDA, S.H. (1970). Factores que afectan la mineralización del nitrógeno en suelos Trumaos y no Trumaos. *Agric. Tech. (Chile)*, 30, 126-133.
- TEJEDA, S.H. y GOGAN, G.L. (1970). Métodos para determinar nitrógeno disponible en suelos con diferente origen y contenido de materia orgánica. *Agric. Tech. (Chile)*, 30, 57-64.
- THAXTER, R. (1922). A revision of the Endogonaceae. *Proc. Am. Acad. Arts. Sci.*, 57, 291-351.
- THEODOROU, C. (1968). Inositol phosphates in needles of *Pinus radiata* D. Don and the phytase activity of mycorrhizal fungi. *Trans. 9th Int. Congr. Soil Sci.*, Vol. III, 483-490.
- THIMANN, K.V. (1977). Hormone action in the whole life of plants. The University of Massachusetts Press, Amherst.
- THOMAS, R.L. y BOWMAN, B.T. (1966). The occurrence of high molecular weight organic phosphorus compounds in soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 30, 799-801.
- TINKER, P.B. (1975). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on higher plants. *Symp. Soc. exp. Biol.*, 29, 325-350.
- TINKER, P.B. (1975a). Soil chemistry of phosphorus and mycorrhizal effects on plant growth. En "Endomycorrhizas", F.E. Sanders, B. Mosse y P.B. Tinker (Edts.), Academic Press, London, p. 353-371.
- TINKER, P.B. (1978). Effects of vesicular-arbuscular mycorrhizas on plant nutrition and plant growth. *Physiologie Végétal*, 16, 743-751.
- TINKER, P.B. y SANDERS, F.E. (1975). Rhizosphere microorganisms and plant nutrition. *Soil Sci.*, 119 (5), 363-368.
- TINSLEY, J. y WALKER, C.H. (1964). *Trans. 8th Int. Congr. Soil Sci.*, Bucharest, 2, 48.
- TINSLEY, J. y OZSAVASCI, C. (1974). Studies of soil organic phosphorus using titanate chloride. *Trans. 10th. Int. Congr. Soil Sci.*, Moscow, 2, 332-340.
- TISDALE y NELSON, (1975). En "Soil fertility and fertilizers". Mc Millan, N. York.

- TORREY, J.G. (1976). Root hormones on plant growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.*, 27, 435-459.
- URBINA, A., SAN MARTIN, E. y SCHAEFER, R. (1969). La actividad metabólica de algunos grupos fisiológicos de microbios en suelos ñadis de Chile: I.- Mineralización del C y N orgánicos en condiciones de laboratorio. *Agric. Tech. (Chile)*, 29, 145-160.
- URBINA, A., SAN MARTIN, E. y SCHAEFER, R. (1972). La actividad metabólica de algunos grupos fisiológicos de microbios en suelos ñadis de Chile. II.- Mineralización de C y N orgánicos en condiciones de campo. *Agric. Tech. (Chile)*, 32, 1-10.
- URIYO, A.P. y KESEBA, A (1975). Amounts and distribution of organic phosphorus in some profiles of Tanzania. *Geoderma*, 13, 201-210.
- VALDES, A.F. (1969). Distribución geográfica y características de los suelos derivados de cenizas volcánicas de Chile. Panel sobre suelos derivados de cenizas volcánicas de América Latina, I.I.C.A., Turrialba, Costa Rica, 1.1-1.15.
- VANDERDEELEN, J., PINO, N.I. y BAERT, L. Kinetics of phosphate adsorption in a soil derived from volcanic ash. *Turrialba*, 23 (3), 291-296, (1973).
- VANDERDEELEN, J., PINO, N.I. y BAERT, L. (1975). Distribución de fosfatos en un perfil de suelo de la serie Santa Bárbara. *Agric. Tech. (Chile)*, 25 (3), 129-133.
- VEINOT, R.L. y THOMAS, R.L. (1972). High molecular weight organic phosphorus complexes in soil organic matter: inositol and metal content of various fractions. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 36, 71-73.
- WADA, K. y GUNJIGAKE, N. (1979). Active aluminium and iron on phosphate adsorption in andosols. *Soil Sci.*, 128 (6), 331-336.
- WALKER, T.W. y ADAMS, A.F.R. (1958). Studies in soil organic matter. I.- Influence of phosphorus content of parent materials on an accumulation of carbon, nitrogen, sulphur and organic phosphorus in grassland soils. *Soil Sci.*, 85 (6), 307-318.
- WALKER, T.W. y SYERS, J.K. (1976). The fate of phosphorus during pedogenesis. *Geoderma*, 15, 1-19.
- WILD, A. y OKE, O.L. (1966). Organic phosphate compounds in calcium chloride extracts of soils: identification and availability to plants. *J. Soil Sci.*, 17, 356-371.
- WILLIAMS, S.E. y ALDON, E.F. (1976). Endomycorrhizal (vesicular-arbuscular) associations of some arid zone strubs. *Southwest. Nat.*, 20, 437-444.

- WILLIAMS, J.D.H., SYERS, J.K., WALKER, T.W. y REX, R.W. (1970).
A comparison of methods for the determination of soil organic phosphorus. *Soil Sci.*, 110 (1), 13-18.
- WILLIAMSON, B. y ALEXANDER, I.J. (1975). Acid phosphatase localized in the sheath of beech mycorrhiza. *Soil Biol. Biochem.*, 7, 195-198.
- WOOLHOUSE, H.W. (1969). Differences in the properties of the acid phosphatases of plant roots and their significance in the evolution of edaphic types. En "Ecological aspects of the mineral nutrition of plants", Blackwell, Oxford.
- ZUNINO, H., CAIOZZI, M., PEIRANO, P. y AGUILERA, M. (1970). Phosphate fixation in acidic soils derived from volcanic ash in Chile as influenced by the naturally occurring exchangeable cations. *Agrochimica*, 15, 557-564.
- ZUNINO, H., PEIRANO, P., AGUILERA, M., GONZALEZ, R. y CAIOZZI, M. (1971). Effect of seaweed on phosphorus availability of a soil derived from volcanic ash. *Agronomy J.*, 63, 116-119.
- ZUNINO, H., AGUILERA, M. y PEIRANO, P. (1972). A modified resin exchangeable method for measurement of available phosphate in soils derived from volcanic ash. *Soil Sci.*, 114 (5), 404-405.
- ZUNINO, H., PEIRANO, P., AGUILERA, M. y CAIOZZI, M. (1976). Efecto de algas marinas sobre la disponibilidad de fósforo en suelos derivados de cenizas volcánicas. *Agric. Tech. (Chile)*, 36, 13-19.
- ZUNINO, H., BORIE, F., AGUILERA, M., MARTIN, J.P. y HAIDER, K. (1981). Decomposition of ^{14}C -labelled organic substrates in volcanic ash-derived soils of Chile. 1.- Glucose, plant and microbial products and residues and phenols. *Soil Biol. Biochem.*, en prensa.
- ZUNINO, H., MARTIN, J.P., PEIRANO, P., CAIOZZI, M. y HAIDER, K. (1981a). Decomposition of ^{14}C -labelled organic substrates in volcanic ash-derived soils of Chile. 2.- Lignins, model humic acid polymers and fungal melanins. *Soil Biol. Biochem.*, en prensa.
- ZUNINO, H., BORIE, F., AGUILERA, M. y REX, A. (1981b). Bioquímica de suelos Trumaos. I.- Actividad microbiológica y su relación con parámetros físico-químicos de los mismos. *Agric. Tech. (Chile)*, en prensa.

