

## DETERMINACION DE LA BIOMASA MICROBIANA DEL SUELO POR EL METODO DE LA FUMIGACION CON CLOROFORMO USANDO TRES PROCEDIMIENTOS DIFERENTES

R. ALVAREZ y O.J. SANTANAIOGLIA

Recibido: 12-5-87

Aceptado: 25-3-88

### INTRODUCCION

Los microorganismos regulan los flujos de carbono y de energía en los ecosistemas terrestres liberando mediante su respiración un 70% del carbono que llega al suelo (Singh y Gupta, 1977). Esto hace que resulte de gran interés conocer la magnitud de la biomasa microbiana cuando se estudia como influyen los factores ambientales y la acción del hombre sobre el ciclo de la materia.

El método de la fumigación (Jenkinson y Powlson, 1976) permite determinar la cantidad de carbono presente en los cuerpos de los microorganismos del suelo sobre la base de la producción de  $C-CO_2$  de un suelo fumigado con cloroformo e incubado en el período 0-10 días. El ritmo de degradación de la materia orgánica que no forma parte de las células vivas se determina sobre suelo no fumigado en el período 10-20 días, para evitar los efectos de la manipulación del suelo y descomposición de  $CaCO_3$  sobre la evolución inicial de  $CO_2$ , y es sustraída al  $C-CO_2$  producido por el suelo fumigado. Esta diferencia, afectada por un factor de mineralización de la biomasa, equivale a la cantidad de carbono en los cuerpos microbianos.

Chaussod y Nicolardot (1982), sobre la base de un análisis modelizado de la respiración del suelo fumigado, propusieron utilizar como control en la determinación de biomasa en lugar del  $C-CO_2$  generado por suelo no fumigado, el producido por el propio suelo fumigado en un segundo período de incubación. Por otra parte, Boroney y Paul (1984) calcularon el carbono en la biomasa como  $^{14}C-CO_2$  generado a partir de un suelo fumigado en el período 0-10 días sobre un factor de mineralización de 0,41 en un suelo suplementado con  $^{14}C$ -glucosa. Observaron que la biomasa microbiana determinada de esta manera se ajustaba bien con el carbono agregado no respirado luego del consumo total de la misma.

El objetivo de este trabajo es comparar la determinación del carbono en la biomasa microbiana por el método de la fumigación con cloroformo utilizando como control suelo no fumigado, suelo fumigado y sin control.

---

Centro de Radiobiología, Facultad de Agronomía, UBA.  
Avda. San Martín 4453, (1417) Buenos Aires - Argentina -

### MATERIALES Y METODOS

Se analizaron cuarenta y ocho muestras, provenientes de los primeros 20 cm de varios suelos, con textura de franco-arenosa a franco-limosa, contenido de carbono orgánico de 1,25% a 3,4% y pH de 5,6 a 6,3. Cuando no fue posible analizar las muestras inmediatamente, se conservaron a  $-15^{\circ}\text{C}$ . Luego de homogeneizarlas a mano y tamizarlas por malla de 19 mm, porciones equivalentes a 50 g de suelo seco ( $105^{\circ}\text{C}$ ) fueron fumigadas con cloroformo libre de etanol en la oscuridad durante 24 horas. Mientras tanto, el suelo testigo se mantuvo a temperatura ambiente en frascos cerrados para evitar la desecación. El suelo fumigado, luego de evacuar el cloroformo, y el no fumigado se inocularon con 2 ml de una suspensión de suelo (ca. 5 mg de suelo fresco . g de suelo tratado<sup>-1</sup>), y el contenido de humedad se ajustó al 50% de la capacidad de retención hídrica. La incubación se realizó a  $25^{\circ}\text{C}$  en frascos de vidrio de 250 ml de capacidad con tapones de goma. El  $\text{CO}_2$  fue absorbido en 4 ml M NaOH en el período 0-10 días y en 2 ml en el período 10-20 días y el exceso de alcali se tituló con HCl hasta el último tono rosado de la fenoftaleína. Se utilizó un factor k de 0,45 (Oades y Jenkinson, 1979) para convertir la producción neta de  $\text{C-CO}_2$  en carbono de la biomasa. Todos los análisis se realizaron por triplicado y los resultados se expresan sobre la base de suelo seco. La comparación de datos se realizó mediante ANVA y test de Dunnett y la significancia de los coeficientes de regresión y correlación se determinó mediante la prueba de t.

### RESULTADOS Y DISCUSION

La actividad biológica del suelo fumigado y del no fumigado estuvieron, para el conjunto de muestras, estrechamente relacionadas en el período 10-20 días (Figura 1). Debido a esto, existió un buen ajuste en la determinación de biomasa usando como control la producción de  $\text{C-CO}_2$  de uno y otro tratamiento (Figura 2). El coeficiente de correlación entre los dos procedimientos fue altamente significativo ( $P=0,001$ ) y la ordenada al origen y la pendiente de la recta de regresión no difirieron de 0 y 1, respectivamente ( $P=0,05$ ). Sin embargo, a pesar de esta ajustada relación a nivel general, para 5 de las muestras (10%) existieron diferencias significativas ( $P=0,05$ ) al usar uno u otro testigo, oscilando sus máximas desviaciones en  $\pm 16\%$ .

La técnica de Voroney y Paul (1984) sobreestima el carbono de la biomasa cuando se aplica a la producción total de  $\text{C-CO}_2$  del suelo (Ross y Tate, 1984 ; Schnürer et al., 1985). Esto se debe a que el factor k de 0,41 se ha establecido para transformar carbono proveniente de la flora atacada por el cloroformo en biomasa cuando se puede identificar a éste mediante el uso de un trazador. Por ello, se calculó un factor k de 0,70 para convertir el  $\text{C-CO}_2$  generado por el suelo fumigado en el período 0-10 días en carbono microbiano. El mismo se obtuvo como el cociente entre estos dos parámetros para las 48 muestras empleadas y para otras 54, cuyos datos se tomaron de la bibliografía (Cuadro N° 1). Dicho cociente tuvo una distribución de frecuencias con tendencia normal (Figura 3), encontrándose un 78% de las observaciones entre 0,60 y 0,80.

La biomasa del suelo determinada como  $\text{C-CO}_2$  generado por el tratamiento fumigado en el período 0-10 días sobre el factor k de 0,70 estuvo, para los dos grupos de muestras, significativamente correlacionada ( $P=0,001$ ) con el procedimiento de Jenkinson y Powlson (Figura 4 y 5) y las ordenas al origen y las pendientes de las regresiones no difirieron de 0 y 1 ( $P=0,05$ ). Este buen ajuste entre las dos técnicas al considerar las muestras en conjunto no se dio para algunas de ellas en particular. Ello se debió al aporte variable del carbono orgánico no biológico a la producción de  $\text{C-CO}_2$  del suelo fumigado, lo que determinó una considerable desviación con respecto al procedimiento con control, encontrándose diferencias significativas ( $P=0,05$ ) en 8 de los casos aquí analizados (17%) con un rango de variación de  $\pm 22\%$ .

Cuadro N° 1: Relación entre el C-CO<sub>2</sub> producido por el suelo fumigado en el período 0-10 días y la biomasa microbiana.

Origen de los datos	Número de muestras	$k = \frac{\mu\text{g C-CO}_2 \cdot \text{g suelo}^{-1}}{\mu\text{g C-biomasa} \cdot \text{g suelo}^{-1}}$	C.V.
Jenkinson y Powlson, 1976	9	0,67	3,4
Ayanaba et al., 1976	20	0,68	12,4
Jenkinson y Powlson, 1980	4	0,68	10,4
Ross y Tata, 1984	18	0,78	15,8
Shen et al., 1984	3	0,57	0,9
Este estudio	48	0,69	12,2
Total	102	-	-
Promedio ponderado	-	0,70	13,8

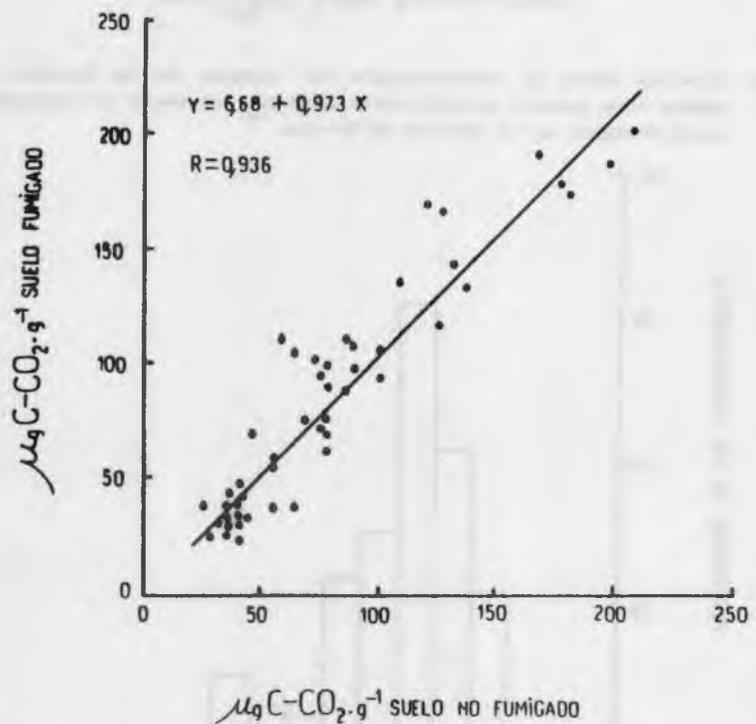


Figura 1: Relación entre la respiración del suelo fumigado y del no fumigado en el período 10-20 días.

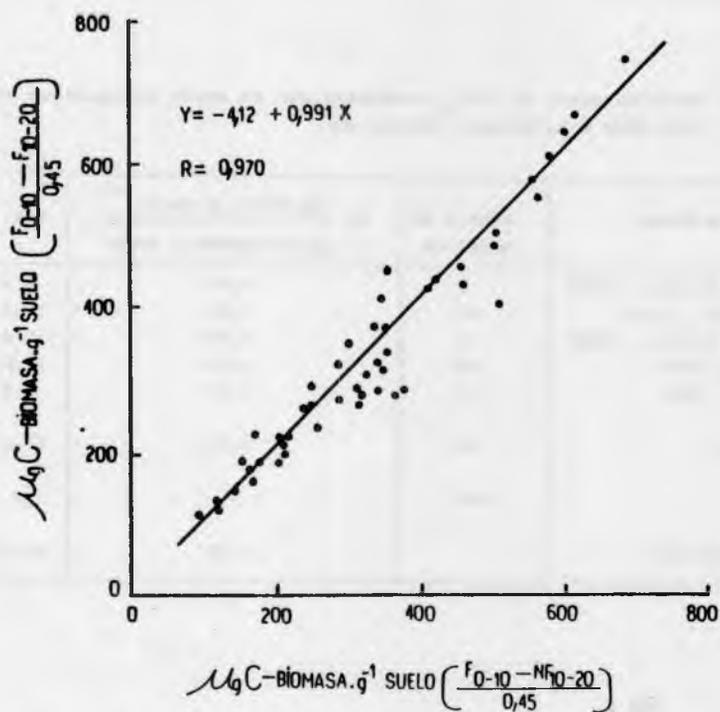


Figura 2: Relación entre la determinación del carbono de la biomasa microbiana usando como control la producción de C-CO<sub>2</sub> del suelo no fumigado y la del suelo fumigado en el período 10-20 días.<sup>2</sup>

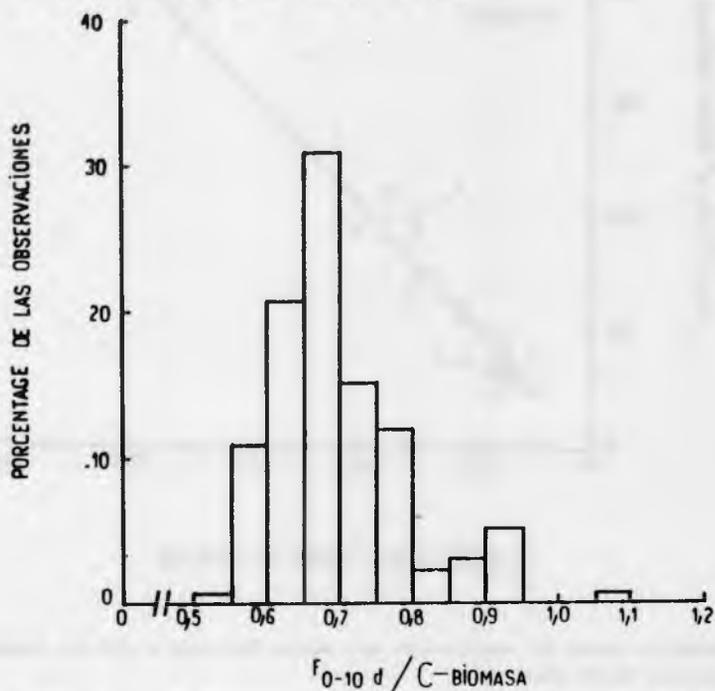
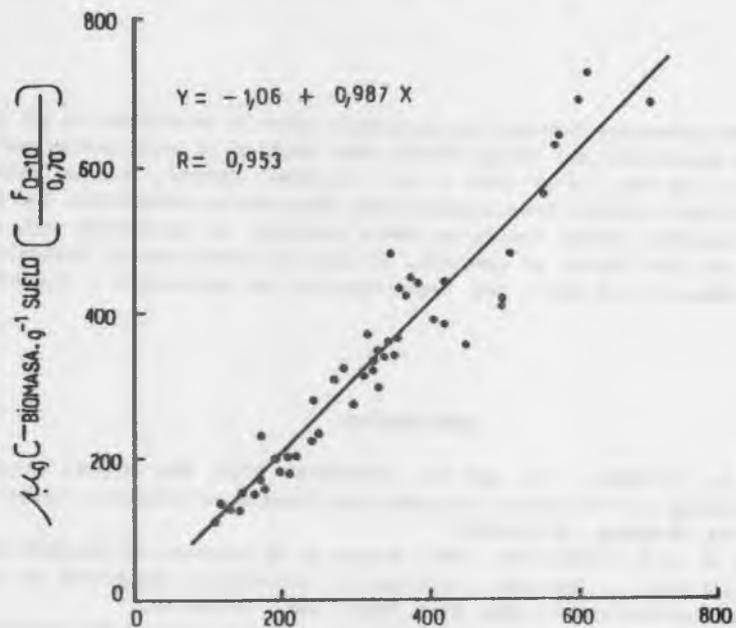
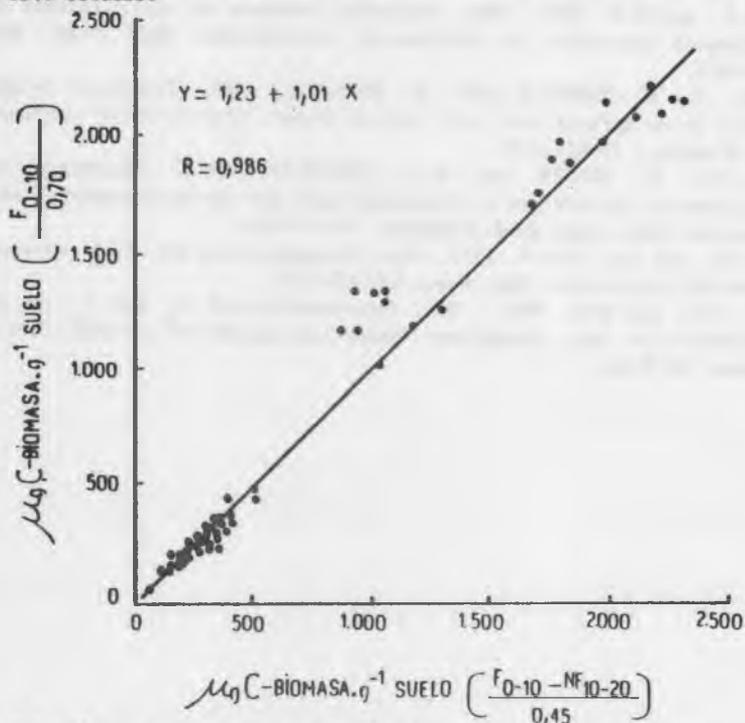


Figura 3: Distribución de frecuencias de la relación respiración del suelo fumigado en el período 0-10 días/C biomasa microbiana.



$$\mu\text{g C-BIOMASA.g}^{-1} \text{ SUELO} \left( \frac{F_{0-10} - NF_{10-20}}{0,45} \right)$$

Figura 4: Relación entre la determinación del carbono en la biomasa microbiana usando como control la producción de C-CO<sub>2</sub> del suelo no fumigado en el período 10-20 días y sin utilizar control para las muestras analizadas en este estudio.



$$\mu\text{g C-BIOMASA.g}^{-1} \text{ SUELO} \left( \frac{F_{0-10} - NF_{10-20}}{0,45} \right)$$

Figura 5: Relación entre la determinación del carbono en la biomasa microbiana usando como la producción de C-CO<sub>2</sub> del suelo no fumigado en el período 10-20 días y sin utilizar control para las muestras cuyos datos se tomaron de la bibliografía.

Los resultados obtenidos indican que es posible hacer la determinación del carbono en la biomasa microbiana del suelo usando como control la respiración del suelo fumigado en el período 10-20 días o sin utilizar control, aunque estos dos procedimientos simplificados deben considerarse sólo como aproximativos. Los mismos, parecen especialmente útiles cuando se desea realizar la estimación del carbono microbiano en un gran número de muestras, ya que al eliminarse el tratamiento no fumigado se reducen a la mitad los requerimientos de materiales y capacidad de incubación.

#### BIBLIOGRAFIA

- 1) AYANABA, A.; TUCKWELL, S.B. and D.S. JENKINSON. 1976. The effects of clearing and cropping on the organic reserves and biomass of tropical forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, 8:519-525.
- 2) CHAUSSOD, R. et B. NICOLARDOT, 1982. Mesure de la biomasse microbienne dans les sols cultivés. I. Approche cinétique et estimation simplifiée du carbone facilement minéralisable. *Rev. Ecol. Biol. Sol.*, 19:501-512.
- 3) JENKINSON, D.S. and D.A. FOWLSON. 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. V. A method for measuring soil biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 8:209-213.
- 4) JENKINSON, D.S. and D.S. FOWLSON. 1980. Measurement of microbial biomass in intact soil cores and sieved soil. *Soil Biol. Biochem.*, 12:579-581.
- 5) OADES, J.M. and D.S. JENKINSON. 1979. Adenosine triphosphate content of the soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 11:201-204.
- 6) ROSS, D.J. and K.R. TATE. 1984. Microbial biomass in soil: effects of some experimental variables on biochemical estimations. *Soil Biol. Biochem.*, 16:161-167.
- 7) SCHMURER, J.; M. CLARHOLM and T. ROSSWALL. 1985. Microbial biomass and activity in an agricultural soil with different organic matter contents. *Soil Biol. Biochem.*, 17:611-618.
- 8) SHEN, S.M.; G. PRUDEN and D.S. JENKINSON. 1984. Mineralization and immobilization of nitrogen in fumigated soil and the measurement of microbial biomass nitrogen. *Soil Biol. Biochem.*, 16:437-444.
- 9) SINGH, J.S. and S.R. GUPTA. 1977. Plant decomposition and soil respiration in terrestrial ecosystems. *Bot. Rev.*, 43:449-528.
- 10) VOXONFY, R.P. and E.A. PAUL. 1984. Determination of  $k_c$  and  $k_d$  in situ for calibration of the chloroform fumigation-incubation method. *Soil Biol. Biochem.*, 16:9-14.