

# EFECTO DE LA INOCULACION ALGAL SUPLEMENTADA CON FERTILIZACION QUIMICA, SOBRE PROPIEDADES DEL SUELO

E. A. PALACÍN y O. J. SANTANATOGLIA<sup>(1)</sup>

Recibido: 23/12/97

Aceptado: 29/12/97

## RESUMEN

Sobre un suelo Argiudol típico, se aplicaron algas azules con y sin suplementación química. Se midió el cambio en el contenido de carbono y de estabilidad estructural, relacionando dichos parámetros con la dinámica de respiración producida en el suelo por los distintos tratamientos. Se observó que la aplicación algal produjo un leve descenso en el contenido de carbono y una mejora en la estabilidad estructural, mientras que la fertilización química no modificó el contenido de carbono orgánico pero produjo una importante pérdida de estabilidad estructural.

**Palabras clave:** Suelo - Materia orgánica - Algas azules - Cyanophyta

## EFFECT OF ALGAL INOCULATION SUPPLIED WITH CHEMICAL FERTILIZATION OVER SOIL PROPERTIES

### SUMMARY

Blue algae were applied over a Typic Argiudoll soil, with and without chemical supply. Change in carbon content and structural stability were measured, relating these parameters with the respiration dynamics in the soil by the different treatments. It was observed that algal application produced a slight decrease in carbon content and structural stability improvement, meanwhile chemical fertilization did not modified carbon content but produced an important loss of structural stability.

**Key words:** Soil - Organic matter - Blue-Green algae - Cyanophyta

### INTRODUCCION

Dentro de lo que es la línea de los proyectos de investigación acerca del accionar de las microalgas sobre propiedades del suelo, existen distintos tipos de observaciones realizadas. Muchos trabajos expresan más el interés del autor por confirmar las hipótesis, que lo que de los datos realmente se podría concluir. Por otra parte, las distintas variables medidas en los ensayos, a veces, no permiten comparar los resultados obtenidos en los diferentes trabajos.

Se citaron a los microorganismos del suelo (hongos, actinomicetes, bacterias y algas) como agrupadores de partículas elementales, lo cual actuaría sobre la estructuración (Bond y Harris 1964; Tisdall y Oades 1982). Muchos trabajos

identifican las sustancias intra y extracelulares de las algas, y las relacionan con sus posibles efectos sobre plantas o sobre el suelo. Fogg (1962) citó la presencia de sustancias biológicamente potentes como ser aminoácidos, vitaminas y enzimas en los medios de cultivo, liberadas por los diferentes microorganismos. Venkataraman (1966) analizó el efecto de los extractos de algas sobre plantas vasculares. Varios autores hacen referencia a la capacidad mostrada por las algas del suelo para incrementar el contenido de sustancias carbonadas, así como para modificar las propiedades físicas del sustrato donde crecen. Subhashini y Kaushik (1981) comentaron la mejora en la estabilidad de agregados de un suelo sódico por el agregado de algas y/o yeso. Meeting y Rayburn

<sup>(1)</sup>Cátedra de Manejo y Conservación de Suelos - Facultad de Agronomía U.B.A., Av. San Martín 4453 - (1417) Buenos Aires

(1983) informaron los aumentos de estabilidad estructural y nivel de carbohidratos de un suelo regado, debido a la aplicación de algas verdes. En la misma línea, Barclay y Lewin (1985) midieron el contenido de carbohidratos y de clorofila en los primeros milímetros de un suelo ensayado en laboratorio, a fin de relacionar la abundancia de algas con el incremento de carbono de la muestra. Rogers y Burns (1994) observaron mejoras en propiedades del suelo, por la aplicación de algas azules. Principalmente midieron aumentos en el contenido de carbono, en la estabilidad estructural, nutrientes minerales y flora microbiana.

Por otro lado, se observa sin embargo el escaso éxito de las fertilizaciones microbianas que se han desarrollado en el mundo (Meeting y Rayburn 1983) más allá del risobium consociado o algunos casos de micorrizas. Esto puede ser debido a que al realizar una inoculación o una biofertilización en el suelo, son muchos los factores intervinientes que determinarían en última instancia el resultado obtenido. La interrelación entre variables de suelo y las distintas dinámicas propias del ecosistema edáfico, hacen que un factor biológico modificado por el hombre, no necesariamente produzca un beneficio directo para el mismo, aunque éste así lo esperara.

Como ejemplo, muchos investigadores comentan las mejoras producidas en el suelo, a una profundidad de pocos milímetros, debidas al desarrollo superficial de microalgas, siendo este el lugar más fácilmente beneficiado por las algas, pero pocas veces se estudia el efecto del tratamiento pocos centímetros más abajo, y dado que las sustancias excretadas por algunas algas pueden solubilizarse y moverse con el agua (Barclay y Lewin 1985), el efecto de éstas sobre el suelo y su flora debería estudiarse a escalas más concordantes con la dinámica de las variables afectadas por el tratamiento, que guarden relación con el uso agrícola.

Otro ejemplo es aquel en el cual, para evitar el desarrollo de algas espontáneas en los testigos, los investigadores cubrieron los mismos con papel de aluminio. Obviamente, al intentar extrapolar los resultados obtenidos en estos ensayos a experiencias de campo, las algas que espontáneamente se

desarrollaran en los testigos, disminuirían las diferencias entre tratamientos, no obteniéndose importantes mejoras.

Otro condicionamiento encontrado en los resultados obtenidos por otros autores, es que muchos ensayos fueron realizados en períodos muy cortos o en condiciones de humedad, iluminación y temperatura constantes, por lo cual las respuestas muy favorables obtenidas, no correlacionan grandemente con lo que sucedería en las aplicaciones agronómicas, que la mayoría de los autores reconocen como el objetivo de estas investigaciones.

Sería oportuno comenzar a realizar investigaciones tendientes a conocer las variables que se verían afectadas por los tratamientos de suelos con microalgas, en condiciones tales, que los resultados fueran directamente utilizables en los ensayos de aplicación. Asimismo, medir las variables que informen sobre la dinámica del sistema en estudio, más globalmente, en lugar de las variables puntuales, que si bien responden óptimamente al tratamiento en alguna condición, no corresponden a casi ninguna situación de utilización real.

En este trabajo se busca conocer la dinámica del carbono en el sistema suelo por el agregado de algas azules, con y sin la suplementación de elementos minerales requeridos por estas (P, Mo y Ca). A la vez, se desea observar si los cambios en el contenido de materia orgánica, son acompañados por cambios físicos del suelo.

## MATERIALES Y METODOS

### Suelo

Se trabajó con un suelo Argiudol típico, Serie Pergamino de la localidad de Capitán Sarmiento, Pcia. de Buenos Aires; cuyas características se presentan en el cuadro N° 1.

Se eligió un lote con una larga historia agrícola que mostró síntomas de degradación física y biológica. Al mismo tiempo se tomó una muestra del mismo suelo pero en condición no-alterado, de abajo de un alambrado. Algunos datos analíticos de las muestras se presentan en el cuadro N° 2.

El muestreo se realizó en los primeros 15 cm del horizonte superficial. Las muestras secadas al aire fueron forzadas a pasar por tamiz de 10 mm para homogeneizar las condiciones del ensayo.

**Cuadro N° 1: Principales características del suelo utilizado. Serie pergamino, horizonte superficial.**

Textura franco limosa a franco arcillo limosa	
Carbono orgánico total (%)	1,70
Nitrógeno total (%)	0,15
Arcilla (< 2 micrones)	20,1
Limo (2 - 50 micrones)	75,6
Arena muy fina (50 - 100 micrones)	4,0
Arena fina (100 - 250 micrones)	0,3
H. eq. 26,6 pH (agua 2,5:1)	5,8
Ca++ (meq/100g suelo)	11,4
Mg++ (meq/100g suelo)	2,9
Na+ (meq/100g suelo)	0,2
K+ (meq/100g suelo)	1,4

### Inóculos algales

Se realizaron aislamientos, e identificaciones de especies algales de los suelos muestreados. Con las cepas así obtenidas se realizaron cultivos de laboratorio a fin de obtener las biomásas algales para realizar los inóculos. La especie utilizada en este trabajo fue *Nostoc Linckia*. La cosecha de los materiales algales se realizó separando las algas del medio de cultivo por tamizada con malla de 50 micrones. El fraccionamiento de los inóculos se hizo por peso fresco, sacando la relación peso seco/peso fresco sobre un número de muestras.

La dosis algal aplicada fue de 200 mg por cada 250 gramos de suelo.

### Desarrollo experimental

Las experiencias se realizaron en macetas de 15 cm x 10 cm x 5 cm de profundidad, 250 g peso seco por maceta, en invernadero. Los riegos se hicieron diariamente desde arriba. Llevando el suelo aproximadamente a capacidad de campo por peso. Se realizaron 10 repeticiones por tratamiento y por análisis a realizar. Los inóculos algales se aplicaron suspendidos en agua, directamente en la superficie de las macetas. Los muestreos se realizaron a los 120 días de iniciado el ensayo.

Los tratamientos realizados fueron aplicación algal y fertilización química con fósforo, calcio y molibdeno. Los mismos se aplicaron según un diseño factorial 2 x 2. Los datos obtenidos fueron analizados estadísticamente a través del análisis de varianza, con análisis factorial y test de Tukey para comparación de medias. También se realizó análisis de regresión para correlacionar las distintas variables medidas entre sí.

### Análisis realizados

\*Durante el ensayo se midió el nivel de respiración

**Cuadro N° 2: Análisis comparados del suelo degradado y del mismo en condición virgen**

	DEGRADADO (CSD)	VIRGEN (CSV)
Carbono total (%)	1,8	2,9
Estabilidad estructural	1,05	0,54
Fósforo (ppm)	4,4	56,4
Humedad equivalente	24,02	27,71

del suelo *in situ*, en fase iluminada y a oscuras. Estas mediciones se realizaron a los 60 días de iniciado el ensayo. (La metodología utilizada se detalla más abajo)

- \* Sobre el suelo ensayado se realizaron análisis de:
  - Carbono orgánico total. (Walkley y Black, 1934)
  - Distribución de macroagregados en seco.
  - Estabilidad estructural (De Leenheer y De Boodt, 1958)

### Respiración *in situ*

Se midió colocando respirómetros con 10 ml de KOH 1N en cada maceta y envolviéndolas, herméticamente, con una lámina de PVC se realizaron mediciones de respiración bajo luz natural, en la manera descripta, y además se midió la respiración a oscuras cubriendo las macetas envueltas, con papel de aluminio.

Se intentó de esta manera comparar la respiración de los diferentes tratamientos del ensayo entre sí, bajo las dos condiciones (iluminado, oscuro).

La hipótesis apunta a que la respiración medida bajo luz, en los tratamientos con agregado algal (actuación autotrófica) muestre menos diferencia con el testigo que la misma medida en oscuridad.

## RESULTADOS Y DISCUSION

En el cuadro N° 3 pueden observarse los resultados obtenidos en las diferentes mediciones realizadas.

A letras distintas corresponden diferencias estadísticamente significativas, obtenidas por análisis de varianza y test de Tukey.

Tratamientos: **T**: testigo, **F**: fertilizado, **A**: inoculado, **AF**: inoculado y fertilizado, **Virg.**: suelo virgen.

El valor entre paréntesis indica el desvío estándar.

Cuadro N° 3: Resultados de los análisis realizados

TRAT	COT (%)	RESPIRAC ILUM mgC/100g	RESPIRAC OSCURA mgC/100g	DMPS (mm)	DMPH (mm)	CDMP (mm)
T	1,897 a	35,49 a	40,16 a	5,07 a	2,14 ab	2,96 b
F	1,852 a	37,49 a	45,00 ab	5,08 a	1,75 c	3,42 a
A	1,844 a	35,45 a	48,55 bc	5,17 a	2,29 a	2,84 b
AF	1,818 a	41,1 a	53,16 c	5,04 a	1,92 bc	3,04 b
Virg.	2,479 b	43,62 a	86,84 d	5,13 a	3,01 d	2,12 c
	p< 0,001	p = 0,08	p< 0,001		p<0,001	p<0,001

TRAT: Tratamiento

COT: Carbono orgánico total

RESPIRAC. ILUM.: Respiración medida en el suelo bajo luz natural.

RESPIRAC. OSCURA: Respiración medida en el suelo a oscuras.

DMPS: Diámetro medio ponderado en seco.

DMPH: Diámetro medio ponderado en húmedo.

CDMP: Cambio en el diámetro medio ponderado.

Cuadro N° 4: Resultado del análisis factorial

RESPIRACION A OSCURAS (mg)	
CON ALGAS	50,97 a
SIN ALGAS	42,58 b (*)
FERTILIZADO	49,08 a
NO FERTILIZADO	44,13 b (**)

(\*) p=0,0001; (\*\*) p=0,0003

### Dinámica del carbono

A fin de conocer en parte la dinámica global del sistema, se trató de medir las tasas de carbono fijadas y liberadas entre el suelo y la atmósfera; buscando relacionarlas con el nivel de carbono orgánico total resultante en el suelo.

Al utilizar el método de respiración medida a oscuras y bajo luz, se pudo observar que la respiración a oscuras mostró diferencias entre todos los tratamientos (Cuadro N° 3). La aplicación de fertilizantes químicos produjo una mayor respiración a oscuras; al aplicar algas, el suelo respiró aún más, y al aplicar ambos tratamientos conjuntamente la respiración a oscuras medida, fue la de mayor valor observado sobre el suelo degradado. El suelo virgen respiró aproximadamente un 100% más que el suelo degradado. Al realizar el análisis de tipo factorial (Cuadro N° 4) se observó que tanto la aplicación de algas como de fertilizantes produjeron aumentos muy significativos en el nivel de respiración medida a oscuras (Ver Figura 1).

Esta medición muestra la activación producida en la biota del suelo en los diferentes tratamientos, bajo las condiciones impuestas por el método, que no

corresponden precisamente a las del ensayo, por estar siempre a oscuras. Al medirse la respiración del suelo iluminado, con ciclo luz-oscuridad natural, se observó que ninguno de los tratamientos mostró diferencias con los demás, tanto a través del análisis de varianza común como del análisis factorial.

En la medición de respiración a la luz, se está midiendo la función resultante de varias variables; por una parte, la respiración producida por toda la biota presente en el suelo (algas, bacterias, etc) y por otra parte, la disminución de [CO<sub>2</sub>] producida en la atmósfera durante el día, por la actividad fotosintética de la flora autotrófica presente en el suelo. Todos los tratamientos desarrollaron, durante el ensayo, coberturas de autótrofos (algas, musgos, líquenes), variando el tipo y grado de cobertura según el tratamiento, por lo que en todos hubo niveles de fotosíntesis.

Si bien las diferencias obtenidas por respiración iluminada no resultaron significativas estadísticamente, las tendencias observadas (Cuadros N° 3 y N° 5) mostraron que la respiración del suelo iluminado aumentó por el agregado de algas y/o de fertilizantes, siendo mayor con estos últi-

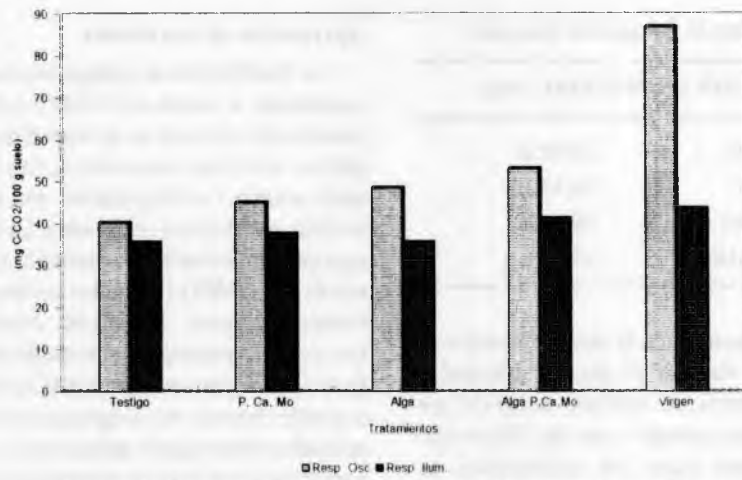


Figura 1: Respiración medida en el suelo (Acumulado en 8 días)

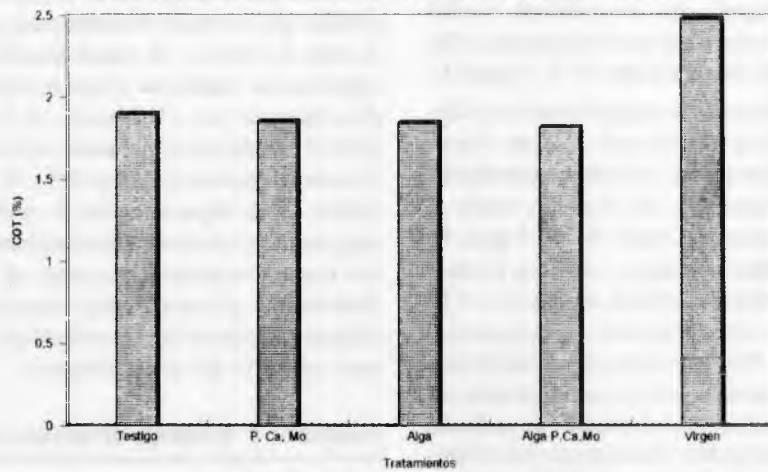


Figura 2: Carbono orgánico total

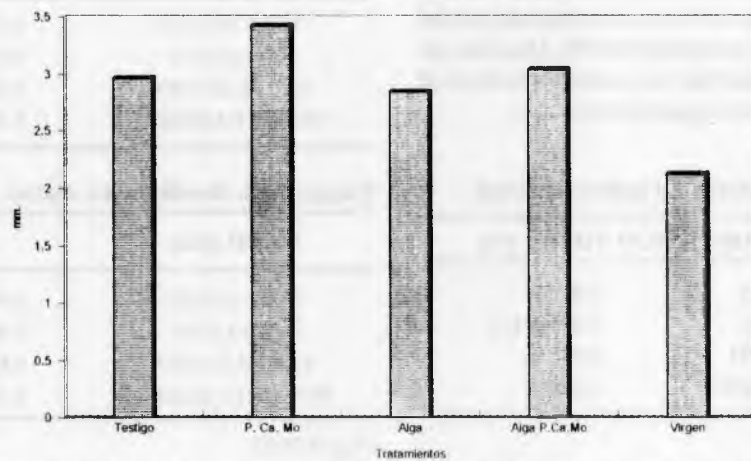


Figura 3: Cambio en el diámetro medio ponderado (De Leenheer y de Boodt)

**Cuadro N° 5: Resultado del análisis factorial**

<b>RESPIRACION ILUMINADO (mg)</b>	
CON ALGAS	38.20 a
SIN ALGAS	36.54 a
FERTILIZADO	39.22 a
NO FERTILIZADO	35.47 a

mos. Se podría suponer que la tasa de fijación de carbono ocurrida durante el día, no alcanzó a compensar la pérdida de carbono ocurrida por respiración, aunque permitió que las diferencias de respiración entre todos los tratamientos no mostraran diferencias significativas, incluyendo hasta al suelo virgen, que generalmente mostró grandes diferencias con todos los tratamientos, en las demás variables medidas (Cuadro N° 3 y Figura 1).

El contenido de carbono orgánico total medido, no mostró diferencias significativas según el análisis de varianza, entre los distintos tratamientos sobre el suelo degradado, mientras que según el análisis de tipo factorial (Cuadro N° 6 y Figura 2), las muestras tratadas con algas, sufrieron un descenso en el contenido de carbono, medido a los 120 días, con respecto a las muestras sin inoculación, con un  $p < 0,001$ . Mientras tanto, los tratamientos fertilizados comparados con los no fertilizados no mostraron diferencias en el contenido de carbono. Estos resultados se pueden relacionar con los obtenidos para la respiración. En el cuadro N° 10, se puede notar que el grado de correlación entre COT y respiración a oscuras es el mayor encontrado para las diferentes variables medidas (0,8698). Mientras que la respiración medida bajo luz no correlacionó con el contenido de carbono orgánico total.

**Cuadro N° 6: Resultado del análisis factorial**

<b>CARBONO ORGANICO TOTAL (%)</b>	
CON ALGAS	1.800 a
SIN ALGAS	1.879 b (*)
FERTILIZADO	1.830 a
NO FERTILIZADO	1.840 a

(\*)  $p < 0,0001$ **Agregación de partículas**

La distribución de agregados en seco medida y comparada a través del DMPS (diámetro medio ponderado en seco) no mostró diferencias significativas entre los tratamientos, ni siquiera entre el suelo virgen y el degradado, con ninguno de los análisis estadísticos realizados. La distribución de agregados tamizados en húmedo, y comparados a través del DMPH (diámetro medio ponderado en húmedo) mostró diferencias entre los distintos tratamientos principalmente explicadas por el efecto de la fertilización química (Cuadro N° 8) donde se puede observar que el agregado de algas aumentó, en tendencia (no significativamente), el porcentaje de agregados retenidos en los tamices de mayor tamaño, mientras que la aplicación de fertilizantes químicos produjo que un mayor porcentaje de agregados pasara hasta los tamices de menor tamaño con una alta significancia estadística. Estos resultados se ponen de evidencia más claramente en los valores de CDMP (cambio en el diámetro medio ponderado). Se puede observar (Cuadro N° 9 y Figura 3) que la aplicación de algas aumentó la estabilidad de los agregados del suelo en aproximadamente un 7,5 % con respecto a los no inoculados, mientras tanto la fertilización química produjo una pérdida de estabilidad estructural de aproximadamente un 11 % con respecto a los no fertilizados.

**Cuadro N° 7: Resultado del análisis factorial**

<b>DMPS (mm)</b>	
CON ALGAS	5.11 a
SIN ALGAS	5.08 a
FERTILIZADO	5.06 a
NO FERTILIZADO	5.12 a

**Cuadro N° 8: Resultado del análisis factorial**

<b>DMPH (mm)</b>	
CON ALGAS	2.09 a
SIN ALGAS	1.95 a
FERTILIZADO	1.84 a
NO FERTILIZADO	2.21 b (*)

(\*)  $p < 0,0001$



**Cuadro N° 9: Resultado del análisis factorial**

CDMO (Leenheer y De Boodt)	
CON ALGAS	2,94 a
SIN ALGAS	3,18 b (*)
FERTILIZADO	3,22 a
NO FERTILIZADO	2,90 b (**)

(\*) p=0,025; (\*\*) p=0,0017

En todos los parámetros medidos, los análisis estadísticos determinaron que no hubo interacción significativa entre aplicación algal y fertilización química, por lo cual se interpreta que la respuesta del suelo medida a través de las variables alga y fertilizante, responde a un modelo de tipo aditivo, no obteniéndose potenciación de efectos, para ninguno de los casos planteados.

Intentando reconocer las variables determinantes de estos resultados de agregación, se observa el grado de correlación entre las variables de agregación y las de carbono (Cuadro N° 10). Se puede notar que el contenido de carbono total mostró altos coeficientes de correlación con el DMPH (0,8514) y con el CDMP (-0,8058); esto diría que el COT correlaciona positivamente con la DMPH y negativamente con el CDMP pero, dado que la estabilidad estructural del suelo es inversamente proporcional al CDMP, se puede decir que el COT correlacionó positivamente con la estabilidad. Puede observarse también que la

respiración a oscuras mostró coeficientes de correlación relativamente altos con respecto a DMPH (0,7595) y CDMP (-0,7789), información que coincide por otro lado con la correlación encontrada entre respiración a oscuras y COT.

### CONCLUSIONES

\* El agregado de algas azules al suelo elegido, en las condiciones del ensayo, produjo un descenso en el contenido de carbono del suelo, posiblemente debido al aumento de la actividad respiratoria del suelo producido por las sustancias aportadas por las algas.

\* La aplicación de fertilizantes produjo un aumento en la tasa de respiración del suelo, que no llegó a modificar el contenido de carbono.

\* La utilización de algas produjo una mejora en la estabilidad estructural del suelo.

\* La fertilización química produjo pérdida en la estabilidad estructural del suelo.

\* La suplementación química no mejoró el accionar de las algas aplicadas al suelo. El nivel de fertilidad química propia del suelo no limitó el desarrollo y actividad algal.

### AGRADECIMIENTOS

Es nuestro interés expresar nuestro especial agradecimiento al Ing. Agr. Carlos O. Miacynski, por su continuo asesoramiento y valiosa ayuda; Así como a las Doctoras G. Z. De Caire, M. Cano y M. C. Z. de Mule por toda la ayuda brindada.

**Cuadro N° 10: Grado de correlación (R) entre las diferentes variables estudiadas**

	COT	RES ILUM	RESP OSC	DMPS	DMPH	CDMP
COT	1,0000					
RES ILUM	-0,1773	1,0000				
RESP OSC	0,8698	0,0427	1,0000			
DMPS	0,3325	-0,3402	0,1512	1,0000		
DMPH	0,8514	0,2425	0,7595	0,4262	1,0000	
CDMP	-0,8058	0,1294	-0,7789	-0,0679	-0,8058	1,0000

## BIBLIOGRAFIA

- BARCLAY W. R. and R. A. LEWIN 1985. Microalgal Polysaccharide production for the conditioning of agricultural soils. *Plant and Soil* N°2 88:159-169.
- BOND R. D. and J. R. HARRIS 1964. The influence of the microflora on physical properties of soils. I Effects associated with filamentous algae and fungi. *Aust. J. Soil Res.* 2:111-22.
- DE LEENHEER L. and M. DE BOODT 1958. Determination of aggregate stability by change in mean weight diameter. *Proceedings of the International Symposium on Soil Structure*. Ghent, Belgica: 209-300.
- FOGG G. E. 1962. Extracellular products. *Physiology and Biochemistry of algae*. Ed. R. A. Lewin p. 475. Academic Press, N. Y.
- JENKINSON, D. S. and D. S. POWLSON 1976. The effects of biocidal treatments on metabolism in soil. I fumigation with chloroform. *Soil Biological and Biochemistry* 8:209-213.
- METTING B. and W. R. RAYBURN 1983. The Influence of Microalgal Conditioner on Selected Washington Soils: An Empirical Study. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 47:682-685.
- ROGERS S. L. and R. G. BURNS 1994. Changes in aggregate stability, nutrient status, indigenous microbial populations, and seedling emergence, following inoculation of soil with *Nostoc muscorum*. *Biology and Fertility of Soils*. 18: 3, 209-215.
- SUBHASHINI D. and B. D. KAUSHIK 1981. Amelioration of Sodie Soils with Blue-green Algae. *Aust. J. Soil Res.* 19:361-366.
- TISDALL J. M. and J. M. OADES 1982. Organic matter and water stable aggregates in soil. *J. Soil Sci* 33:141-163.
- Venkataraman G. S. 1966. Algalization. *Phykos* 5(1&2):164-174.
- WALKLEY A. and I. A. BLACK 1934. An examination of Degtjareff method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29-38.