

EFFECTO DE LA APLICACIÓN EN UN SUELO DE VARIAS DOSIS DE BIOSÓLIDO SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA, LA DENSIDAD DE MICELIOS Y ESPORAS DE HONGOS MICORRICICOS ARBUSCULARES.

Effect of the application in a soil of several doses of biosólido on microbial activity, the density of mycelium and spores of arbuscular mycorrhizal fungi.

Itilier T. Salazar Quintana¹
Pablo Cornejo Rivas²
Marysol Alvear Zamora³
Jorge Baraona Venegas⁴

Dirección de contacto: Avda. Fco. Salazar 01145. Región de La Araucanía. Temuco. Chile
Fono: 56-045-325420. Fax: 56-045-325440. E-mail: itilier.salazar@ufrontera.cl

ABSTRACT

The application of biosolids in soils may constitute, in addition, the high content of organic matter, an important source of nutrients and the contribution of some heavy metals that can be accumulated on the soil. The application of biosolids in soils, in addition to being beneficial for the soil resource, constitutes a form of layout/application addressing the serious problem of disposal in landfill with environmental impacts. Numerous scientific studies show that the addition of biosolid to the soil, increases the level of organic matter. In Chile, the Araucaria Region presents a 36% of soils with severe erosion, 47% with moderate erosion and 17% with slight erosion. In this context, in this study were applied each year for three years, different doses of biosolid, 30, 60, 90 and 150 ton/ha in a degraded soil, considering a control soil without adding, in parcels of 4 x 10 m. After four years soil samples were collected and quantified the concentration of heavy metals, microbial activity, density of mycelium and spores of arbuscular mycorrhizal fungi. It was found that the accumulated copper and zinc in the soil increased progressively with the dose and successively with the year of application, still the statistically significant results. The evaluated parameters increased significantly, the density of mycelium and spores introduced a significant decrease with increasing doses of biosolid with regard to the control soil. The observed phenomena we indicate that high doses of biosolids applied could alter the microhabitats in the soil, and by the same token, it is important to establish the proper dose for each soil type and thus do not produce adverse effects.

Key Words: Biosolid, Microbial activity, Mycorrhizae, Soil erosion.

-
- 1 Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de La Frontera. Temuco
 - 2 Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración Universidad de La Frontera. Temuco
 - 3 Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de La Frontera. Temuco.
 - 4 Departamento de Ciencias Agronómicas y Recursos Naturales. Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.

EFFECTO DE LA APLICACIÓN EN UN SUELO DE VARIAS DOSIS DE BIOSÓLIDO SOBRE LA ACTIVIDAD MICROBIANA, LA DENSIDAD DE MICELIOS Y ESPORAS DE HONGOS MICORRICICOS ARBUSCULARES.

Resumen

La aplicación de biosólido en suelos puede constituir, además, del alto contenido de materia orgánica, una importante fuente de nutrientes y el aporte de algunos metales pesados que pueden ser acumulados por el suelo. La aplicación de biosólido en suelos, además, de ser benéfico para el recurso suelo, constituye una forma de disposición/aplicación solucionando el grave problema de disposición en relleno sanitario con los efectos ambientales asociados. Numerosos estudios científicos muestran que la adición de biosólido al suelo, incrementa el nivel de materia orgánica. En Chile, la Región de la Araucanía presenta un 36% de suelos con erosión grave, 47% con erosión moderada y un 17% con erosión leve. En este contexto, en este estudio se aplicaron, anualmente y durante tres años, diferentes dosis de biosólido, 30, 60, 90 y 150 ton/ha en un suelo degradado, considerando un testigo sin adición, en parcelas de 4 x 10 m. Transcurridos cuatro años se colectaron muestras de suelo y se cuantificó la concentración de metales pesados, la actividad microbiana, densidad de micelios y esporas de hongos micorrizicos arbusculares. Se encontró que el cobre y zinc acumulado en el suelo aumento progresivamente con la dosis y sucesivamente con el año de aplicación, siendo los resultados estadísticamente significativos. Los parámetros evaluados aumentaron significativamente, la densidad de micelio y esporas presento una disminución significativa a medida que aumento la dosis de biosólido con respecto al testigo. Los fenómenos observados nos indican que altas dosis de biosólidos aplicados podrían alterar los microhabitats en los suelos, y por lo mismo, es importante establecer las dosis adecuada para cada tipo de suelo y así no producir efectos adversos.

Palabras claves: Actividad microbiana, Biosólido, Erosión de suelos, Micorrizas.

Introducción

Los residuos orgánicos han sido utilizados por el hombre desde tiempos remotos para abonar los suelos dedicados a la agricultura y ganadería. En la depuración de aguas servidas se producen importantes cantidades de lodos/biosólidos cuyo destino definitivo es importante puesto que puede convertirse en posible material de reciclaje de nutrientes o contaminantes, que pueden ocasionar un impacto negativo sobre el medio ambiente. Una alternativa satisfactoria es su aprovechamiento desde el punto de vista agrícola, proporcionando un doble beneficio: el ambiental al eliminarse los residuos orgánicos urbanos sin alteración relevante del equilibrio ecológico y el agrícola al incorporar a los suelos de cultivo la materia orgánica y los nutrientes contenidos en estos.

Los lodos residuales/biosólidos son ricos en materia orgánica y con contenido suficiente de nitrógeno, fósforo y otros nutrientes que los hace potencialmente útiles como fertilizantes y como fuente de materia orgánica, por lo mismo, pueden mejorar las propiedades físicas del suelo como la densidad aparente, la estructura, porosidad y retención de agua (Salazar *et al.*, 2012), todo lo cual puede reflejarse en un incremento en el rendimiento de los cultivos (Alvear *et al.*, 2007).

En Chile no se han hecho estudios a cabalidad en todas las regiones, solo en la Región Metropolitana, Aguas Andinas, -Planta de Tratamiento de Aguas Servidas-, ha generado una estructura para investigar sobre la aplicación benéfica de biosólidos en suelos (Proyecto INIA/Aguas Andina, 2004). Algunas Universidades están investigando sobre el uso de los lodos/biosólidos, como es el caso de la Universidad de La Frontera de Temuco junto a Aguas Araucanía, a nivel de la Región de la Araucanía (Núñez *et al.*, 2007).

En este contexto se centra este estudio y que es generar información para establecer, finalmente, las dosis de biosólidos a adicionar al suelo sin producir efectos nocivos al sistema suelo, a las aguas subsuperficiales y al medio ambiente en general. Se establecieron parcelas testigo y aquellas a las que se les adiciono el equivalente a 30, 60, 90 y 150 ton/ha de biosólido. El estudio contemplo 3 años con aplicaciones anuales de biosólido, -tratamiento acumulativo-, previo a la siembra. Los resultados que se informan son los correspondientes al año 4, un año después de la última aplicación de biosólido, encontrándose un incremento significativo en el nivel de metales, Cu y Zn, en función de las aplicaciones anuales de biosólido. La

colonización micorrícica arbuscular de las raíces del cultivo disminuyo con el incremento de las adiciones comparado con la pradera natural/testigo. Se observo, también una disminución significativa en la densidad de micelios y esporas con respecto a la pradera natural/testigo. y, la evolución de C-CO₂ en los suelos tratados en comparación con el testigo, aumento, significativamente, con el aumento en las dosis de biosolido aplicado al suelo excepto con la dosis de 150 ton/ha donde disminuyo.

397-Salazar-Quintana-Chile-1

Materiales y Métodos

Los biosólidos fueron proporcionados por la empresa de Tratamiento de Aguas Servidas, Aguas Araucanía, Región de la Araucanía, y son obtenidos por tratamiento secundario de las aguas residuales. Los resultados de la caracterización se muestran en Tabla N° 1. Se estabilizaron en planta con tratamiento alcalino. Coliformes fecales se determinaron mediante NCh 2313/23 of. 95. (Varnero y Ramírez, 2003; MINSEGPRES, 2006)

Se establecieron parcelas de 4 x 10 m en un Andisol Serie Los Prados, 38°58'21" latitud Sur y 72°7'21.7" latitud Oeste, pendiente < 2 %. El sitio se encontraba bajo pradera natural por al menos cuatro años. Temperatura promedio aproximada 10,5°C. Clima transicional entre templado cálido y templado lluvioso, con una pluviometría de 1200 mm anuales.

El ensayo considera cinco tratamientos. Parcelas Testigo (TA), además, parcelas a las que se le aplicaron dosis de biosólido proveniente de la Planta de Tratamiento de Aguas Servida de Vilcún bajo proceso de lodo activado, equivalente a 15, 30, 60, 90 y 150 tonha⁻¹ (TA15, TA30, TA60, TA90 y TA150), respectivamente. Cada unidad experimental tuvo una superficie de 13 m² (Lavado y Taboada, 2002) Todos los tratamientos se realizaron en triplicado. Se realizó un muestreo de suelos, sin y con tratamientos, al cuarto año y en cada uno de ellos se determinaron metales pesados, parámetros químicos, densidad de micelios y densidad de esporas en cada una de las muestras estudiadas, y, actividad biológica.

El análisis químico de las muestras de suelo bajo los tratamientos establecidos se hicieron de acuerdo a la normativa de la CNA de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo (Zadzawka y col., 2004).

La actividad biológica fue evaluada en base a la evolución de CO₂ (Stotzky, 1965) por 50 g de cada suelo (a 60% de humedad) incubados a 25 ± 2°C que es atrapado en 15 mL de NaOH 0,1 M. El carbonato fue precipitado con BaCl₂ 0,375 M y el NaOH residual fue titulado con HCl 0,1 M.

Micelio total: Las hifas micorrízicas extrarradicales totales se determinaron por la metodología alternativa para suelos derivados de cenizas volcánicas descrito por Rubio *et al.* (2003). La cuantificación de la densidad total de hifas se realizó mediante el método de intersección en línea de Newman (1966) luego de su tinción con azul de tripano y su recolección en filtro de membrana de 0.45 μm de tamaño de poro (White Gridded HAWG, Millipore Corp., Bedford-Madison, USA).

Esporas. Las esporas de HMA se separaron del suelo por tamizado húmedo (425 μm, 250 μm, 100 μm y 53 μm). El contenido del tamiz fue decantado en solución de sacarosa al 70% p/v (Gerdemann y Nicholson, 1963), centrifugado a 3.000 rpm por 5 min, y las esporas cuantificadas en una placa Doncaster bajo una lupa estereoscópica a 30-50 aumentos.

Resultados y Discusión

La composición de los biosólidos utilizados en este estudio de muestran en la Tabla N° 1. La composición de los metales pesados está por debajo de los niveles contenidos, tanto, en suelos degradados (MINSEGPRES, 2006) como de la normativa chilena, norteamericana (EPA, 2000) y europea (CEE, 1986), por lo mismo presenta condiciones favorables para su aplicación en suelos. Los análisis de suelos y biosólido inicial (Tabla N° 1, 2; Fig. N° 1, 2) indican que el suelo tiene un pH 24% más ácido que el biosólido inicial y un 49% mayor que el biosólido encalado. El contenido de carbono orgánico total, COT, es 25 ± 5 mgkg⁻¹, aportando C orgánico al suelo que tiene 9 ± 1 mgkg⁻¹. El tratamiento con cal contribuyó a sanitizar el biosólido crudo (coliformes fecales: < 230 NMP/g masa seca) y a la vez proporcionó Calcio al suelo. Los contenidos de nitrógeno, fósforo, potasio y metales pesados, -a nivel de micronutrientes-, hacen interesante la adición de biosólidos al suelo para fines de producción de biomasa.

Tabla N° 1. Composición del biosólido

Parámetros	Unidades	Resultado
COT	mgkg ⁻¹	25.0 ±5
pH (H ₂ O)		7.2±0.8
pH (cal)		10.8±0.8
Conductividad	mmho/cm	3.5±2.0
Nt	%	4.5±1.5
Pt	%	1.3±0.4
K	%	0.5±0.3

Na	mgkg ⁻¹	3.3±1.3
Ca	mgkg ⁻¹	1.5±0.5
Mg	mgkg ⁻¹	2.2±1.0
S	mgkg ⁻¹	0.7±0.4

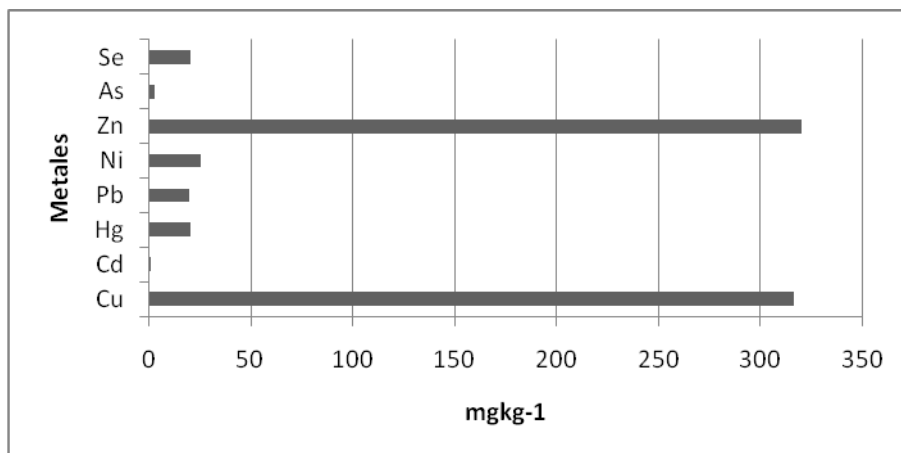


Figura N° 1. Contenido de metales pesados en el biosolido.

Tabla N° 2. Composición inicial de macronutrientes presentes en el suelo.

pH	Macronutrientes			M.O. %	Sat. Al %	Relación C/N
	N(%)	P(mgkg ⁻¹)	K(mgkg ⁻¹)			
5.5	36.5	6.5	4.1	17.0	4.8	0.5

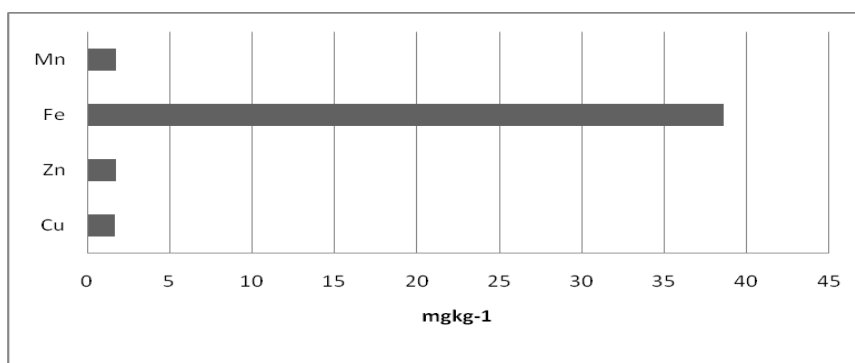


Figura N° 2. Contenido de metales pesados presentes en el suelo.

La actividad biológica está influenciada, entre otros, por la transformación de la materia orgánica, la degradación y estructura del suelo. La actividad biológica fue evaluada a través de la evolución de CO₂, y es sabido de la alta correlación de la respiración, la biomasa microbiana y el contenido de carbono del suelo (Witter *et al.*, 1993).

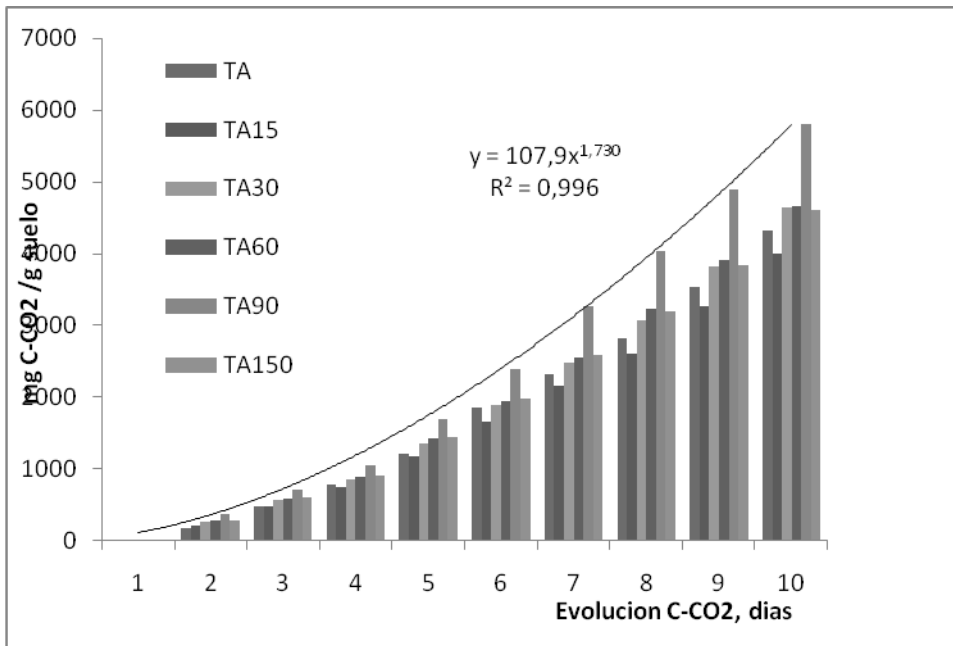


Figura 3: Evolución acumulada de carbono orgánico a C-CO₂ en función del tiempo del suelo testigo, TA; TA15, TA30, TA60, TA90 y TA150. En función del tiempo, días.

En la figura N° 3 se presenta la evolución acumulada de C-CO₂ por el suelo testigo y los tratamientos –TA15, TA30, TA60, TA90 y TA150 - al cuarto año después de la incorporación de biosólido durante tres años consecutivos (Henríquez, 2011). Se observa que la dosis con 90 ton biosólido/ha, desde el día 2 y hasta el día 10 libera, significativamente, mayor cantidad de C-CO₂, en función del tiempo, comparado con el testigo y las otras dosis, fenómeno atribuible al remanente de carbono orgánico contenido en el suelo (Pavan et al., 2005) a la vez que el nivel de metales pesados, Cu y Ni, no tendrían efecto sobre la actividad microbiana, no así, niveles superiores de estos metales, la están afectando, como se muestra en la figura 3. El sistema TA90 obedece a la función $y = 87,5x^{1,73}$ ($r^2 = 0,996$) y el TA150 a $y = 107,9x^{1,72}$ ($r^2 = 0,999$) indicando claramente que hay un efecto del Cu y Ni sobre la actividad microbiana. En general, la secuencia de evolución de C-CO₂ sigue la tendencia TA90 >> TA60 > TA30 > TA150 > TA > TA15.

Se observa, en la figura 4, una significativa disminución de la densidad de micelio a medida que aumenta la concentración de biosólido en relación al testigo. Esta disminución va desde 10 mg⁻¹ en la pradera natural hasta cerca de 1 mg⁻¹ en el tratamiento con 150 tonha⁻¹ de biosólido. Esta información lleva a inferir que se debe estudiar, muy cuidadosamente, las dosis a aplicar a suelos en recuperación para no afectar la micorrización radicular.

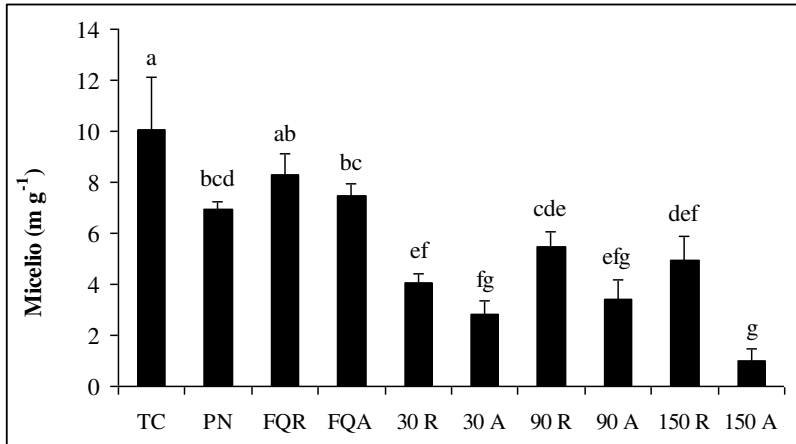


Figura 4.- Densidad de micelio de HMA de suelos cultivados con aplicación de biosólido. Suelo testigo TC, Pradera natural (PN), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton há⁻¹. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey P<0,05).

La densidad de esporas, figura 5, también disminuye a medida que aumenta la concentración de biosólido al aplicarse en forma acumulativa, anualmente. La mayor densidad se encontró en los tratamientos , pradera natural y la menor dosis aplicada, con más de 1100 esporas por cada 100 g de suelo en contraste con las menos de 500 esporas encontradas en el tratamiento con 150 tonha⁻¹. Este fenómeno también ha sido observado en otros estudios en suelos volcánicos (Cornejo *et al.*, 2009).

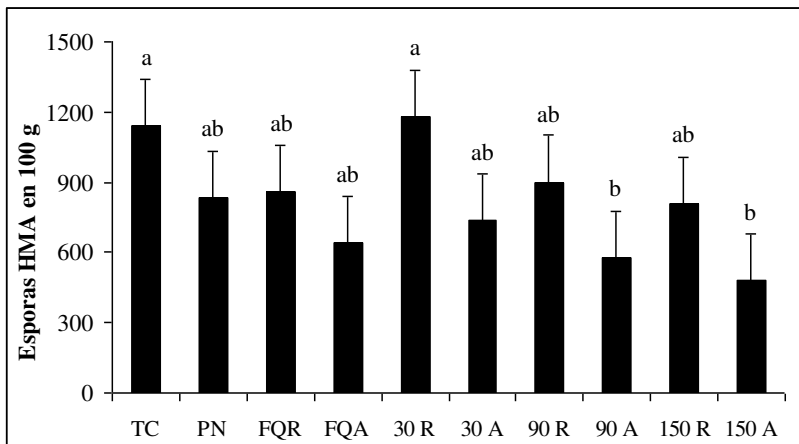


Figura 5.- Densidad de esporas de HMA en suelos cultivados con aplicación de biosólido. Suelo testigo (TC), pradera natural (PN, dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton há⁻¹. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey P<0,05).

Conclusiones

La evaluación de los parámetros químicos y actividad biológica de un suelo Andisol , Serie Los Prados, Región de la Araucanía, Chile, derivado de cenizas volcánicas que fue tratado con diferentes dosis de biosólido, con bajo contenido en metales pesados y con ausencia de microorganismos patógenos. La incorporación de biosólido, significó un aumento en el contenido de nutrientes, una mayor actividad biológica y un aumento en la retención de agua con el consiguiente beneficio para los cultivos. En la dosis, TA150 ton biosólido/hace observo un disminución de la actividad microbiana y una menor densidad de micelios y esporas.

Agradecimientos.- Esta investigación fue financiada por el Proyecto DIUFRO N° 120620 y con el apoyo de la empresa Aguas Araucanía de la Región de la Araucanía.

Referencias Bibliográficas

- Alvear, M., Reyes, F. (2007). Actividad biológica y agregados estables al agua en dos tipos de formaciones vegetales de un bosque templado del centro-sur de Chile con perturbación antrópica. *Ecología Austral*. **17**, 113-122
- Borie, F y Barea, J. M., (1983). Fosforo orgánico en suelos volcánicos de Chile. *Agricultura Técnica (Chile)* **43**(3): 239-248.
- Cornejo, P., Rubio, R. and Borie, F. (2009). Mycorrhizal propagule persistence in a succession of cereals in a disturbed and undisturbed Andisol fertilized with two nitrogen sources. *Chilean Journal of Agricultural Research*. **69**: 426-434.
- Directiva 86/278/CEE del Consejo, 12 de junio 1986, del medio ambiente relativa a la protección del medio ambiente y, en particular, de los suelos en la utilización de lodos de depuradoras en agricultura (181 de 4 de Julio de 1986. DOCE núm. L 181 de 4 de Julio de 1986).
- EPA. (2000). Folleto informativo de tecnología de biosólidos. Aplicación de biosólidos al terreno. Folleto 832-F-00-064. EPA 832-F-00052. (2000). Estabilización alcalina de biosólidos. EPA-832-F-00-064. (2000). Aplicación al terreno de biosólidos.
- García-Gil, J.C., Plaza, C., Senesi, N., Brunetti, G. and Polo, A. (2004). Effects of sewage sludge amendment on humic acids and microbiological properties of a semi-arid Mediterranean soil. *Biol. Fertil. Soils*. **39**: 320-328.
- Gerdemann, J. and Nicholson, T. (1963). Spores of mycorrhizal endogene species from soil by wet sieving. *Transactions of the British Mycological Society*. **46**:234-235.
- Henríquez, O. (2011). Análisis y criterios mínimos para la aplicación de lodos tratados provenientes de Plantas de Tratamientos de Aguas Servidas en agrosistemas de la provincia de Melipilla. Región Metropolitana. Chile. Tesis para optar al Grado de Magister en Gestión y Planificación Ambiental. Universidad de Chile.
- Lavado, R. y Taboada, M. (2002). Manual de procedimientos para la aplicación de biosólido en el campo. Convenio Aguas Argentinas S.A. Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires. Buenos Aires. Argentina.
- Ministerio Secretaría General de la Presidencia de la Republica. MINSEGPRES. (2006). Reglamento para el manejo de lodos generados en Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas. Decreto N° 123. Santiago. Chile.
- Newman, E. I. (1966). A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology*. **3**: 139-150.
- Núñez, M., Millar, D., Millar, D., Lara, V. Baraona, J., Salazar, I. (2007). Efecto benéfico en algunas propiedades físicas, químicas y biológicas de un Andisol por efectos de la adición de diferentes dosis de lodos procedentes de una planta de tratamientos de aguas servidas, en una siembra primaveral tardía de trigo. *Simposio internacional aplicación de lodos: Usos Benéficos*. Temuco, Chile.
- Pavan, S., Bettiol, W., Cerri, C. (2005). Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. *Applied soil ecology*, **30**. 67-77.
- Proyecto INIA-AGUAS ANDINA. (2004). Uso de lodos provenientes de las aguas de tratamiento como fertilizantes agrícolas. Santiago: *INIA/Aguas Andina*.
- Rubio, R., Borie, F., Schalchli, C., Castillo., Azcon, R. (2003). Occurrence and effect of arbuscular mycorrhizal propagules in wheat as affected by the source and amount of phosphorus fertilizer and fungal inoculation. *Applied Soil Ecology*. **23**:247
- Sadzawka, M., Carrasco, M., Grez, R. y Mora, M. (2004). Métodos de análisis para suelos y lodos chilenos. Sociedad Chilena de la Ciencias del Suelo. *MINAGRI*. Chile.
- Salazar, I., Millar, D., Lara, V., Núñez, M., Parada, M., Alvear, M. and Baraona, J. (2012). Effect of biosolids application on some chemical, biological and physical properties of Andisol, southern Chile. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*. **12**(3): 441-450
- Salvador, J. (2006). Sewage sludge application treated by N-Viro Process in N. Till soils. *Agronomic and Environment Effects. 18th World Congress of Soil Science*. Philadelphia. Pennsylvania. USA.
- Stotzky, G. (1965). Microbial respiration. In: Black CA (ed) *Methods of soil analysis*. ASA. CSSA, SSSA, Madison, Wis., pp 1550-1570
- Varnero, M.T y Ramírez, M. (2003). Acondicionamiento de biosolmycorridos para recuperar suelos degradados. *54° Congreso Agronómico*. Universidad de Magallanes, 9-10 de octubre 2003.
- Witter, E.; Martensson, A. M.; García, F. U. (1993). Size of the soil microbial biomass in a long-term field experiment as affected by different N-Fertilizers and organic manures. *Soil Biol. Biochem*. **6**: 659-669.

