



**ANALES DE  
EDAFOLOGIA Y AGROBIOLOGIA**



**CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTIFICAS**

Anal. Edaf. Tomo XXXIV. Núms. 7-8. Págs. 461-648

Madrid, Julio-Agosto 1975

## SUMARIO

	Páginas
Algunas observaciones sobre la capacidad de enraizamiento de variedades de <i>Olea europea</i> L. bajo técnicas de nebulización I. Respuesta a la emisión de raíces y estructura anatómica, por A. Troncoso, L. Valderrey, J. Prieto y J. Liñán ... ..	461
Algunas observaciones sobre la capacidad de enraizamiento de variedades de <i>Olea europea</i> L. bajo técnicas de nebulización. II. Formación de los tejidos del callo y raíz adventicia, por A. Troncoso, L. Valderrey, J. Prieto y J. Liñán ... ..	473
Contribución al estudio de la microbiología de praderas, por A. Martínez-Ferrer y A. Rodríguez-Burgos ... ..	481
Variaciones cronológicas del nitrógeno nítrico en suelo desnudo, por Esther Simon Martínez ... ..	491
Composición de las aguas de percolación de una instalación lisimétrica en Barcelona. I. Lisímetros sin cosecha, por Esther Simon Martínez ... ..	505
Composición de las aguas de percolación de una instalación lisimétrica en Barcelona. II. Lisímetros con plantación de <i>Lolium perenne</i> , por Esther Simon Martínez ... ..	517
Contribución al estudio del metabolismo fosfórico de <i>Aspergillus niger</i> , por M. <sup>a</sup> Parra, A. Ortuño y J. Noguera ... ..	533
Fructosa-1,6-Difosfatasa de cloroplastos de hojas de espinaca: purificación del factor proteico ligado a dicha actividad, por A. Chuca, J. J. Lázaro, J. López Gorgé y F. Mayor ... ..	541
Cambios de los potenciales químicos del fosfato monocalcico y del hidróxido cálcico en presencia de minerales de la arcilla y de fosfatos cálcicos cristalizados, por J. García de Leóniz y P. de Arambarri ... ..	549
Nuevas investigaciones sobre la inoculación cruzada entre las especies fijadoras de nitrógeno <i>Alnus glutinosa</i> (L.) Gaertn. y <i>Myrica gale</i> L., por F. Bermudez de Castro ... ..	569
Efecto de la aplicación de fertilizantes potásicos sobre las relaciones Q/I, por V. Hernando y J. A. Díez ... ..	583
Distribución y características de los suelos de la Isla de Tenerife, por V. Pérez García, E. Fernández Caldas y V. García ... ..	595
Comportamiento del Zn en suelos calizos. I. Transformaciones de los compuestos del Zn en función del tiempo, por T. Hernández, L. Reverte y F. Costa ... ..	607
El equilibrio fisiológico como índice para el diagnóstico de deficiencias nutritivas. I. Árboles frutales, por E. Esteban Velasco ... ..	623
 NOTAS	
Director Honorario del Instituto de Aclimatación de Almería ... ..	633
Director Honorario del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura y del Instituto de Orientación y Asistencia Técnica del Sureste ... ..	633
Director Honorario de la Estación Biológica de Doñana ... ..	633
Reunión del Patronato «Alonso de Herrera» en Burgos ... ..	634
Propuesta para el Premio de Ciencias de la UNESCO ... ..	634
Reunión del Consejo Ejecutivo de la Fundación Europea de la Ciencia ... ..	634
Nombramiento de Miembros del Consejo Técnico del Patronato «Alonso de Herrera» ... ..	635
Autorizaciones para asistir a Congresos, Reuniones y efectuar viajes de estudio al extranjero ... ..	636
VIII Congreso Internacional de Fertilizantes Químicos ... ..	637
Reunión del Comité Inter-Institutos del Análisis Foliar ... ..	641
Reunión para la racionalización de revistas científicas de Fisiología Vegetal y para la creación de la Federación Europea de Sociedades de Fisiología Vegetal ... ..	642
Reunión del Grupo de Trabajo de Normalización de Métodos Analíticos ... ..	644
Bibliografía ... ..	647



# ALGUNAS OBSERVACIONES SOBRE LA CAPACIDAD DE ENRAIZAMIENTO DE VARIEDADES DE *OLEA EUROPEA* L. BAJO TÉCNICAS DE NEBULIZACIÓN

## I. RESPUESTA A LA EMISIÓN DE RAICES Y ESTRUCTURA ANATOMICA

por

A. TRONCOSO, L. VALDERREY, J. PRIETO y J. LIÑAN

### SUMMARY

SOME OBSERVATIONS ON ROOTING CAPACITY OF *OLEA EUROPEA* L. VARIETIES UNDER MIST SYSTEM. I. ROOTING RESPONSES AND ANATOMIC STRUCTURE

Two varieties of *Olea europea* L., «manzanillo» (*O. E. pomiformis*) and «gordal» (*O. E. regalis*), are studied at view point its capacity to rooting under mist.

The first, has an easy rooting but the «gordal» very difficult.

The microscopical study of cuttings of both varieties shows, that the two have similar anatomical structure, with the sclerenchymatic continuous ring of the phloem, considered like an obstacle to adventitious roots emission.

### INTRODUCCIÓN

Uno de los problemas de mayor interés que se plantean en los procesos de multiplicación de vegetales bajo técnicas de nebulización es el diferente comportamiento de las especies, e incluso de variedades de una misma especie, en cuanto a su respuesta para la emisión de raíces adventicias. Así, existen plantas de gran facilidad para enraizar y otras que lo hacen difícilmente, o no lo hacen.

Este es un punto de gran importancia en el conocimiento de la fisiología vegetal y por ello ha sido abordado por numerosos investigadores.

Algunos de ellos (5, 6, 7, 9, 10) correlacionan la actuación de las estaquillas con su contenido en sustancias favorecedoras de la emisión de raíces y de inhibidores.

Otros autores, por el contrario, buscan la explicación del diferente comportamiento de las estaquillas a emitir raíces en la propia estructura anatómica. Por ejemplo, en algunas especies leñosas, como el álamo, la posibilidad de enraizamiento depende de la presencia de iniciales radicales, previamente formados sobre los ramos antes de ser destacados de la planta madre. En otras especies las raíces adventicias se forman de un modo característico a lo largo del internudo, siguiendo líneas longitudinales que se corresponden con un radio parenquimático, Scaramuzzi (11). Odom (9), al no poder correlacionar la dificultad a enraizar con la falta de auxinas o inhibidores, indicó que factores tales como «limitación anatómica» podrían ser los responsables.

En investigaciones realizadas sobre el naranjo, Mess (8); olivo, Ciampi y Gellini (3, 4); y forestales, Beackbane (1) se vincula la facilidad o dificultad a enraizar a características anatómicas tales como la existencia de un anillo más o menos continuo de células esclerenquimáticas en el parénquima cortical, y que separa la corteza interna de la externa. En este caso las especies que presentan el anillo esclerenquimático continuo no enraizan por imposibilidad física de pasar el primordio radical a su través.

En estudios realizados en la Estación Experimental de East Malling sobre el manzano, se vio la existencia de una correlación entre el poder de enraizamiento y la estructura de la corteza, en especial con el número y distribución de los haces de fibras en el floema primario.

En el presente trabajo se estudian dos variedades de una misma especie (*Olea europea*), una de ellas (*Olea europea pomiformis*) con gran facilidad para emitir raíces adventicias, y la otra (*Olea europea regalis*) de difícil enraizamiento.

Esta primera parte del estudio tiene por objeto:

Conocer la respuesta a la emisión de raíces de estaquillas de ambas variedades en el ambiente climático de Sevilla, sometidas a las mismas condiciones de sustrato, riegos, temperaturas y tratamiento auxínico en el invernadero de nebulización.

Comparar la estructura anatómica natural de ambas variedades.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

La prueba se inició el 18 de febrero de 1972, en la Finca Granja Experimental Aljarafe, del C. S. I. C., situada en Coria del Río (Sevilla).

De plantas de olivo de la variedad gordal (*Olea europea regalis*) y manzanillo (*Olea europea pomiformis*), que crecían en dicha finca en idénticas condiciones de suelos y métodos de cultivo, se destacaron trozos de ramos con la misma posición y orientación en el árbol.

De estos ramos se obtuvieron estaquillas homogéneas de 16 cm. de longitud y de 4 a 8 mm. de diámetro medio. Cada estaquilla poseía un mínimo de dos hojas y un máximo de cuatro. Una vez preparados los ramos se trataron, por inmersión rápida de sus bases, con solución hidroalcohólica de ácido indol butírico a 3.000 ppm. y se pusieron en el invernadero de nebulización.

Como substrato se empleó perlita con un fondo (unos 5 cm.) de grava gruesa para favorecer el drenaje. La temperatura basal fue de 22-25° C, obtenida por resistencias eléctricas reguladas por termostatos.

Los riegos e intervalos fueron controlados por el sistema de reloj-temporizador, variándose según las exigencias de las estaquillas en función de las condiciones ambientales, pero siendo siempre las mismas para ambas variedades en estudio.

La prueba en invernadero finalizó con el conteo de plantas enraizadas, el 9 de mayo de 1972.

En esta primera parte del trabajo sólo se considerarán las estaquillas muestreadas antes del tratamiento auxínico, es decir, aquéllas que mantenían la estructura anatómica inicial.

Las muestras se llevaron al laboratorio y a cada ramo se le seccionó un trozo de la zona basal de 10 a 15 mm. de longitud, que fue fijado en aldehído fórmico-alcohol etílico-ácido acético (FAA).

Se deshidrataron en la serie etanol-butílica, se incluyeron en parafina a 55° C y se cortaron en micrótopo rotatorio en secciones longitudinales y transversales de 25 micras de espesor.

La coloración se obtuvo con la combinación verde de metilo-pironina según el método de Brachet (2), aunque a veces también se utilizó safranina y verde de metilo.

Las secciones se montaron en preparados permanentes con Bálsamo del Canadá para ser observadas al microscopio.

A la vista de los resultados obtenidos, los cuales se discuten en el apartado correspondiente, el 15-V-72 se inició una segunda prueba empleando estaquillas de la variedad gordal (*Olea europea regalis*) que se trataron con ácido indol butírico a 10.000 ppm., manteniéndose las restantes circunstancias de la experiencia idénticas a las anteriormente descritas. Esta segunda prueba se concluyó el 30-VII-72.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Entre los resultados de este trabajo se deben distinguir, de una parte, aquellos que se refieren a la prueba del invernadero de nebulización, es decir, los porcentajes de plantas enraizadas de cada variedad y tratamiento, y de otra los obtenidos en el laboratorio, tras el examen microscópico de las secciones de las muestras, para estudiar la estructura anatómica.

Los primeros se dan a continuación en forma de tablas, al objeto de facilitar su comprensión y obtener una mejor visión de conjunto.

TABLA I

*Tratamiento con A. I. B. a 3.000 ppm.*

Variedad	Iniciales	Estaquillas muestreadas	Estaquillas remanentes invernadero	Estaquillas enraizadas	% de enraizamiento
Manzanillo . . . . .	100	30	70	59	84,3
Gordal . . . . .	100	30	70	0	0

TABLA II

*Tratamiento con A. I. B. a 10.000 ppm.*

Variedad	Iniciales	Estaquillas muestreadas	Estaquillas remanentes invernadero	Estaquillas enraizadas	% de enraizamiento
Gordal . . . . .	100	30	70	9	10,4

A la vista de las tablas I y II pueden hacerse resaltar algunos hechos significativos:

La variedad manzanillo, tratada con A. I. B. a 3.000 ppm., dio un porcentaje elevado (84,3 por 100) de plantas con raíz.

Por el contrario, con la variedad gordal, sometida al mismo tratamiento, no se obtuvo estaquilla alguna con raíz.

El comportamiento de ambas variedades correspondió, por consiguiente, a lo previsto al principio de este trabajo en el que se tomaba el manzanillo como planta de fácil enraizamiento y al gordal de difícil o nula formación de raíces.

Cuando las estaquillas de variedad gordal fueron tratadas con auxinas a mayor concentración, A. I. B. 10.000 ppm., se obtuvieron respuestas, aunque bajas, en la emisión de raíces (10,4 por 100).

Pudiera pensarse que el hecho de ser dos épocas distintas cuando se realizaron las pruebas con la variedad gordal representa una dificultad a la hora de comparar los resultados.

Se debe aclarar, por consiguiente, que la fecha en que se realizó la segunda prueba, aquella en que se obtuvo alguna respuesta para esta variedad, fue de condiciones más desfavorables para la emisión de raíces por la estaquilla que cuando se efectuó la primera experiencia.

*Estructura anatómica inicial*

Este estudio se ha realizado sobre estaquillas tomadas directamente del árbol, sin haberlas previamente sometido a tratamiento auxínico, ni por supuesto, haberlas plantado en el invernadero de nebulización.

La observación detenida al microscopio de muchas muestras de las dos variedades de olivo en comparación, tanto en secciones longitudinales como transversales, ha puesto de manifiesto que ambas poseen idéntica estructura anatómica inicial, al menos al nivel aquí considerado.

Dicha estructura anatómica responde al esquema que a continuación se describe, y que se muestra en la figura 1 y fotografías 1 y 2.

Observada una sección transversal de la estaquilla, al exterior se nota una capa de células poco especializadas de forma prismática-rectangular, alargadas y poco profundas, que constituyen la epidermis. La membrana de estas células es muy variable en grosor, al estar en la parte externa impregnada de cutina que aumenta su espesor. La epidermis es muy fácilmente destacable del resto del ramo, por lo que se rompe con facilidad al seccionar la estaquilla en el micrótopo y pocas veces se aprecia completa.

A continuación, hacia el interior se observa la peridermis, que está constituida por diversas capas celulares de tejidos de protección.

Estructuralmente se distinguen tres zonas en la peridermis: el súber, el felógeno y la felodermis (fig. 1 y fotog. 1).

El súber o corcho está formado por células de forma prismática irregular (tetradecaédricas), algo alargadas en sentido paralelo al eje longitudinal del ramo. En general se disponen de modo compacto, con pocos espacios intercelulares, aunque conservan una cierta seriación como corresponde a su origen de un meristemo que se divide principalmente en sentido tangencial.

Son células grandes, dotadas de membranas gruesas suberizadas en todas sus caras. El protoplasto aparece en parte constituido por vacuolas llenas de aire o de sustancias tanínicas y resinosas. Tratadas con la técnica de Brachet (2), las membranas de estas células toman un color rojo oscuro, más intenso en las capas externas. Por el contrario, el protoplasto que aparece teñido con mezcla de rojo y verde tiene mayor intensidad de color en las células de las capas internas.

El felógeno, o cambium suberoso, como indica su nombre, es una zona generatriz externa, que de una parte da lugar a las células del súber y de otra a las de la felodermis.

Tiene una estructura relativamente simple, ya que está constituida por un solo tipo de células de forma prismática rectangular. Estas células, como corresponde a su carácter meristemático, se colorean fuertemente de rojo y verde con la técnica de Brachet (2).

La felodermis está constituida por tres o cuatro filas de células de

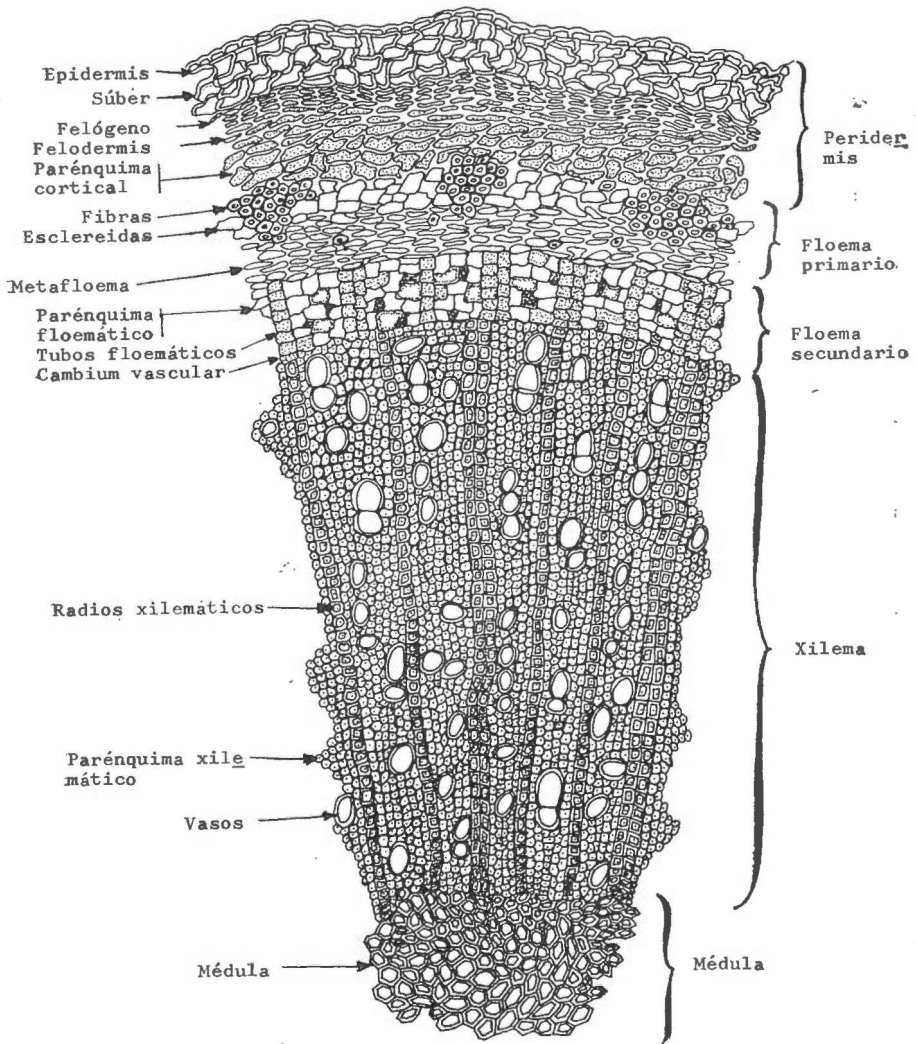
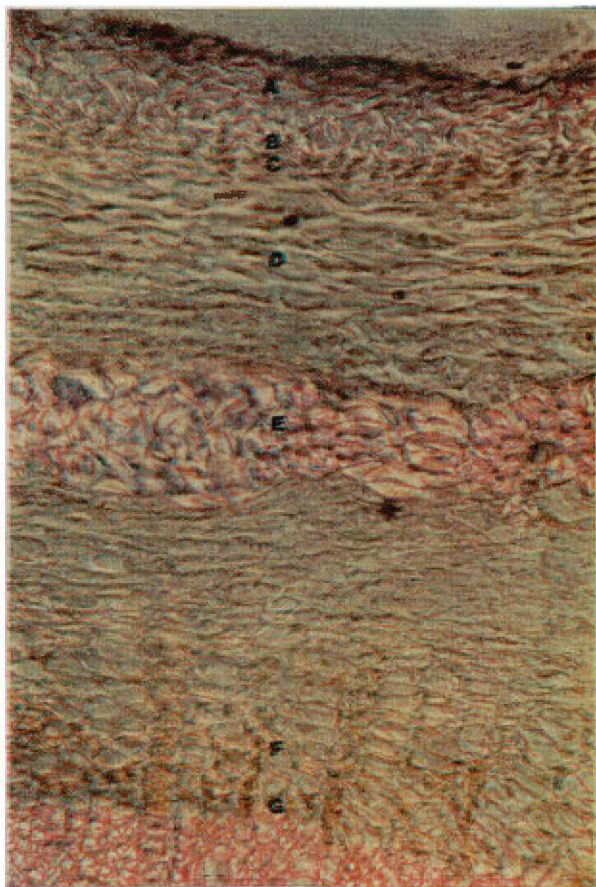


FIG. 1.- ESQUEMA DE LA ESTRUCTURA ANATOMICA

características muy parecidas a las del felógeno, del que proceden. Al igual que las de éste, sus células aparecen teñidas fuertemente al ser tratadas con la técnica de Brachet (2).

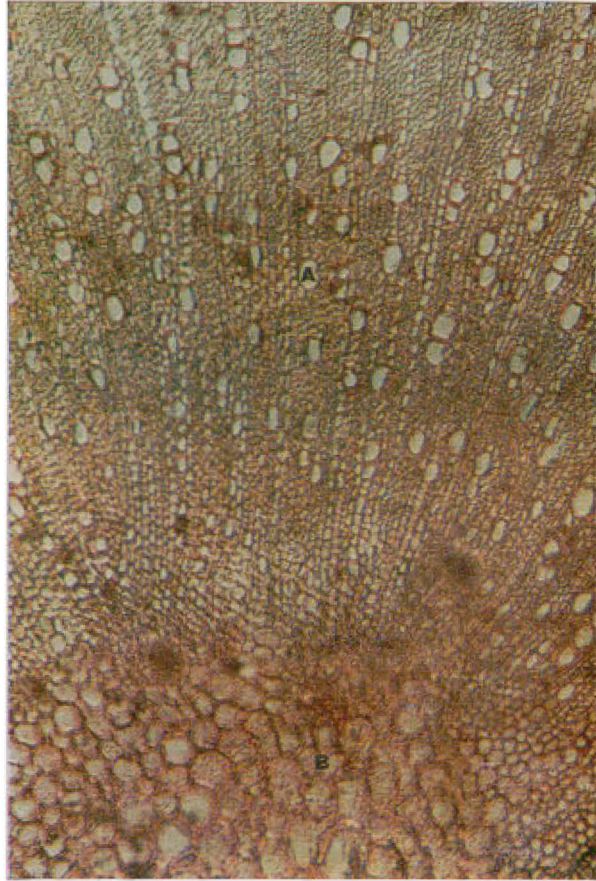
A continuación de la felodermis, hacia el interior, se observan varias capas de células de forma poliédrica en sección transversal, que constituyen el parénquima cortical. En general sus citoplasmas se colorean débil y poco uniformemente, aunque en ellos se observan muchas inclusiones (corpúsculos coloreados) (fig. 1, fotograf. 1).





Fotografía núm. 1.—Sección transversal de la corteza  $\times 65$ .

- A) Suber: al exterior se observan células de la epidermis.
- B) Felógeno.
- C) Felodermis.
- D) Parénquima cortical.
- E) Anillo esclerenquimático del floema primario constituido por fibras y esclereidas. (Oserve su continuidad.)
- F) Floema secundario.
- G) Cambium vascular.



Fotografía núm. 2.—Sección transversal del cilindro vascular  $\times 65$ .

- A) Xilema.
- B) Medula.

Inmediatamente debajo de las células del parénquima se notan, en la sección transversal del ramo, los distintos elementos del floema primario. Al exterior un anillo de células que destacan del conjunto por su fuerte coloración roja al Brachet (2). Dicho anillo está constituido por dos grupos alternados de elementos celulares. Las células del primer tipo son más pequeñas, de sección poliédrica con membrana fuertemente coloreada y muy gruesa, tanto que dejan un protoplasto muy reducido, a veces puntiforme; las células del segundo tipo son mayo-

res de forma variable, también con membrana gruesa pero que envuelve un contenido celular evidente y núcleo visible. Visto el ramo en sección longitudinal los primeros elementos son fibras, mientras que los del segundo grupo son células prácticamente isodiamétricas del tejido esclerenquimático (esclereidas).

Ambos grupos de células, tanto en la variedad manzanillo como en la gordal, se encuentran fuertemente unidos, de modo que el conjunto forma una especie de vaina resistente que envuelve el sistema vascular.

Inmediatamente debajo del anillo esclerenquimático continuo se encuentra el metafloema, constituido por varias capas de células de tipo parenquimático, débil y poco uniformemente teñidas.

A continuación se encuentra la zona del floema secundario, en el que se distinguen los radios floemáticos, tubos cribosos y parénquima floemático. Las células de cada uno de estos elementos muestran distinta intensidad de coloración, destacando la de los radios floemáticos como más fuertemente teñidas.

Después del floema secundario se observa el cambium vascular cuyas células son prismáticas rectangulares, aunque las que darán lugar a los radios floemáticos y xilemáticos son más isodiamétricas. Su citoplasma recuerda por su coloración al de las células del felógeno.

Inmediatamente después se destaca el xilema constituido por tres tipos de células (fotografía núm. 2, fig. 1):

Células de los radios xilemáticos, prismáticas, sensiblemente idiométricas y bastante uniformes. Su membrana teñida intensamente de rojo, rodeando un protoplasma mucho menos coloreado.

Células constitutivas de los vasos leñosos, dotados de membranas muy gruesas y fuertemente coloreadas de rojo. El citoplasma casi ha desaparecido. La forma de estas células es prismática rectangular, algo alargada en el sentido del eje mayor del ramo.

Células del parénquima xilemático, de forma poligonal irregulares, de menor tamaño que las que constituyen los radios xilemáticos y los vasos, con citoplasma débilmente teñido pero con membrana gruesa e intensamente coloreada de rojo al Brachet (2).

Finalmente, en el centro de la sección transversal del ramo (fotografía núm. 2) destacan las células de la estructura medular. Son poligonales irregulares, con mayor tamaño las internas que aquellas más cercanas al xilema, con membrana fuertemente coloreada de rojo por la pironina y citoplasma poco teñido.

Vista la constitución anatómica de las dos variedades en estudio, interesa destacar que ambas poseen el anillo, si se observa una sección transversal de la muestra, o la vaina esclerenquimática continúa formada por fibras y esclereidas del floema primario, cuando lo que se estudia es el total de la estaquilla.

Este anillo o cilindro ha sido considerado en la literatura (1, 3, 4)

como un obstáculo mecánico importante para el crecimiento de los tejidos internos a él en la formación del callo, y en especial, como una barrera infranqueable para la salida de la raíz adventicia.

### CONCLUSIONES

1. Los resultados obtenidos sobre porcentajes de estaquillas enraizadas de las dos variedades en consideración corroboran la primera idea de que la manzanillo posee facilidad para emitir raíces adventicias, y que, por el contrario, la gordal lo hace con suma dificultad.

2. En efecto, cuando los ramos fueron tratados con ácido indol butírico (AIB) a 3.000 ppm. se obtuvo un 84,3 por 100 de estaquillas con raíces en la variedad manzanillo, mientras que con la gordal no se logró plantita enraizada alguna (0 por 100).

3. Con esta última variedad, la gordal, se efectuó una segunda prueba tratándola con AIB a 10.000 ppm., obteniéndose entonces un 10,4 por 100 de estaquillas con raíz.

4. El estudio al microscopio de muestras de ramos de ambas variedades, antes de ser sometidas al tratamiento auxínico, puso de manifiesto que las dos poseen la misma estructura anatómica. Dicha estructura anatómica corresponde al esquema de la figura 1 y fotografías números 1 y 2.

5. En este sentido interesa destacar que tanto el ramo de gordal como el de manzanillo poseen una vaina esclerenquimática continua (visto en sección transversal un anillo) formada por fibras y esclereidas del floema primario. Dicha vaina o anillo se considera en la literatura (1, 3, 4) como responsable del nulo o difícil enraizamiento de algunas especies vegetales.

### RESUMEN

Se estudian dos variedades de *Olea europea* L., «manzanillo» (*Olea europea pomiformis*) y «gordal» (*Olea europea regalis*), bajo el punto de vista de su capacidad para emitir raíces adventicias bajo técnicas de nebulización.

Se ha podido comprobar que la primera enraiza con facilidad, mientras que la gordal lo hace muy difícilmente.

El estudio al microscopio de muestras de estaquillas de ambas variedades pone de manifiesto que las dos poseen la misma estructura anatómica, existiendo en ellas un anillo esclerenquimático continuo del floema primario, considerado en la literatura como un obstáculo para la emisión de raíces.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) BEACBANE, A. B. (1961). Structure of the plant stem in relation to adventitious rooting. *Nature*, 192, 954-55.
- (2) BRACHET, J. (1957). *Biochemical Cytology*. Acad. Press, New York.
- (3) CIAMPI, C., GELLINI, R. (1958). Studio anatomico sui rapporti tra struttura e capacità di radicazione in talea di olivo. *Nuovo Giorn. Bot. Ital. N. S.*, 417-424.
- (4) CIAMPI, C., GELLINI, R. (1963). Insorgenza e sviluppo delle radici avventizie in *Olea europea* L. Importanza della struttura anatomica agli effetti dello sviluppo delle radichette. *Giorn. Bot. Ital.*, 70, 1.
- (5) HACKETT, W. P. (1970). The influence of auxin, catechol and methanolic tissue extracts on root initiation in aseptically cultured shoot apices of the juvenile and adult forms of «*Hedera helix*». *Journ. of the Amer. Soc. for Hort. Sci.*, 95 (4), 398-402.
- (6) HEES, C. E. (1963). Naturally occurring substances with stimulate root initiation. 5th Int. Cong. on Nat. Plant. growth substances Gif-sur-Ivette.
- (7) MEREDITH, W. C., JOINIER, J. N., BIGGS, R. H. (1970). Influences of indole 3-acetic acid and kinetin on rooting and indole metabolism of *Feijoa sellowiana*. *Journ. Of Amer. Soc. for Hort. Sci.*, 95 (1), 49-52.
- (8) MESS, M. G. (1951). Cuttings difficult to root. *Plants and Gardens*, 7, 95-97.
- (9) ODON, R. E. (1965). The relationship between endogenous indole auxins and rooting of several species of herbaceous and woody cuttings (en Taylor, G. G. and Odon, R. E., 1970).
- (10) PEÑA, J. y VIEITEZ, E. (1968). Estudios del contenido hormonal de *Salix atrocinerea*. *An. Edaf. Agrob.*, XXVIII, 681-698.
- (11) SCARAMUZZI, F. (1960). Alcune osservazioni sul potere rizogeno delle tallee. *Rivista dell'Ortoflorifruitticoltura Italiana*. 85 vol., XLIV, 5-6, 1960.

Recibido para publicación: 4-VI-74



# ALGUNAS OBSERVACIONES SOBRE LA CAPACIDAD DE ENRAIZAMIENTO DE VARIEDADES DE *OLEA EUROPEA* L. BAJO TECNICAS DE NEBULIZACION

## II. FORMACION DE LOS TEJIDOS DEL CALLO Y RAIZ ADVENTICIA

por

A. TRONCOSO, L. VALDERREY, J. PRIETO y J. LINAN

### SUMMARY

SOME OBSERVATIONS ON ROOTING CAPACITY OF *OLEA EUROPEA* L. VARIETIES UNDER MIST SYSTEM. II. CALLUS TISSUES AND ADVENTITIOUS ROOT FORMATION

The callus tissues formation in cuttings of manzanillo and gordal olive varieties, presents an identical but not contemporaneous process. It begins with a growth of less differentiated cells of cortical and phloematic parenchymae and it affects the remain cortical zones afterwards.

This cellular growth seems to press on fibers and sclereides of the sclerenchymatic capsule breaking its continuity. The root formation thus seems to be independent of the presence of the sclerenchymatic capsule.

The origin of radical primordium appears to be related with groups of organized cells mainly situated near cambium and phloematic parenchymae.

### INTRODUCCIÓN

En el trabajo anterior (5) se vio que la variedad «manzanillo» (*O. E. pomiformis*), de fácil enraizamiento, y la «gordal» (*O. E. regalis*), de gran dificultad para emitir raíces adventicias, mostraban la misma estructura anatómica en la estaquilla.

En consecuencia, ambas poseían una vaina, en la sección transversal un anillo, esclerenquimática, continua, formada por fibras y esclereidas del floema primario.

Dicha vaina se considera en la literatura (1, 3, 4) como un serio

obstáculo para la formación de los tejidos del callo y en especial para el desarrollo del primordio radical.

Interesa ahora, por consiguiente, describir la ulterior evolución de las estaquillas de ambas variedades después de sometidas a tratamiento auxínico (A. I. B.) y puestas en la nave de nebulización.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Se usan las mismas plantas y técnicas descritas en (5).

Los muestreos a partir de la fecha de tratamiento, cuando se hizo el primero, se efectuaron a intervalos de seis días, tomando cada vez tres estaquillas por variedad de los bancos de nebulización,

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La situación descrita para la estructura anatómica (5) se mantuvo inalterada para las estaquillas de la variedad gordal durante doce días, después de haber recibido el tratamiento auxínico y ser puestas en el invernadero de nebulización, mientras que las de la variedad manzanillo permanecieron sin cambios aparentes durante dieciocho días.

El desfase entre ambas variedades puede ser debido a características intrínsecas de cada una de ellas como respuesta a la acción de la auxina, o al hecho de que al ser la variedad gordal más precoz que la manzanillo en las distintas fases de su ciclo biológico, al momento de ser destacados los ramos de la planta madre, los primeros se encontrasen en un estado de activación vegetativa más avanzado que los segundos.

Ahora bien, no obstante este desfase, la posterior evolución que fue tomando la estructura anatómica inicial de las dos variedades en la formación de los tejidos del callo fue similar en ambas y ocurrió con arreglo al siguiente proceso.

Los primeros síntomas observados en la formación de los tejidos del callo se relacionan con un ligero aumento de tamaño de las células del parénquima cortical y parenquimáticas del floema situadas al exterior e interior respectivamente del anillo esclerenquimático continuo del floema primario. El resto de los tejidos del ramo, a nuestro nivel de observación, permanecen inalterados.

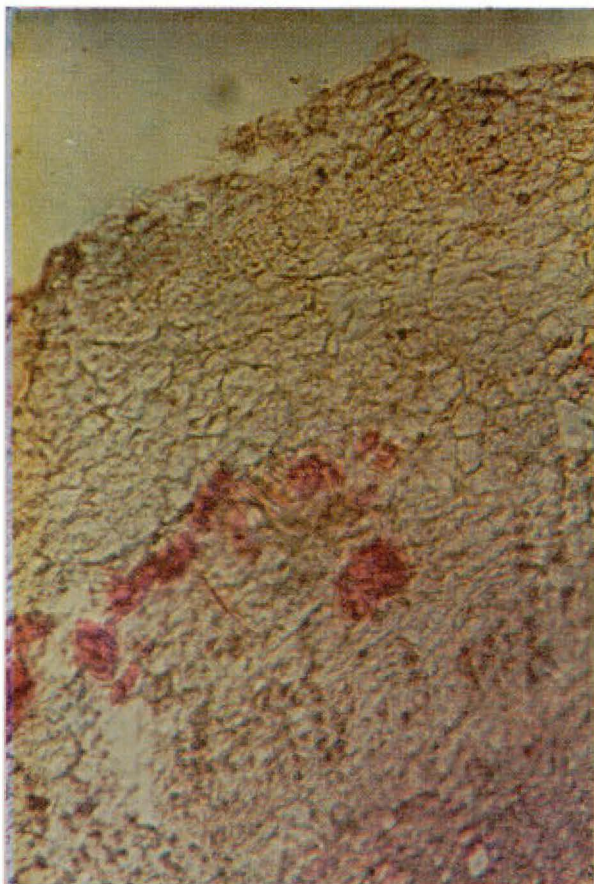
Poco a poco este crecimiento celular se hace cada vez más ostensible, por lo que las células, mayores, muestran citoplasmas menos densos, lo que se pone de manifiesto por una menor intensidad de coloración al Brachet (2), aunque aún conservan su seriación y ordenación inicial.

El aumento de tamaño de las células situadas a ambos lados del



anillo esclerenquimático parece originar una fuerte presión sobre el mismo que llega a romper su continuidad en algunos puntos (fotog. 1).

Al mismo tiempo se pierde la ordenación y la seriación inicial del parénquima cortical y floemático, presentándose el conjunto como una masa de tejido hiperplásico, mientras que aún se conservan ordenadas las células de la peridermis, en especial las del súber, y las de los radios floemáticos del floema secundario.



Fotografía 1.—Sección transversal de la corteza  $\times 65$  en un estadio avanzado de la formación del callo (coloración Brachet).

Seguidamente, al continuar la formación del callo, se afectan incluso las células de los radios floemáticos, y en la peridermis sólo mantienen su posición primitiva las del súber, el cual es forzado en algunos puntos por la presión del tejido hiperplásico, que lo rompe y asoma al

exterior. Las fibras y esclereidas que formaron el cilindro esclerenquimático continuo, aunque conservan sus caracteres iniciales, se ven dispersas por entre la masa del callo.

Lo hasta ahora expuesto, como se decía al principio de este capítulo, es igualmente válido tanto para la variedad gordal como para la manzanillo, pero a partir de la última situación descrita es cuando, refiriéndonos a las estaquillas tratadas con AIB a 3.000 ppm., cada una de las variedades sigue un curso distinto.

En efecto, el callo en los ramos de gordal, una vez alcanzado un volumen determinado comienza a degenerar. Así, las células aparecen prácticamente sin citoplasma, quedando éste reducido a una especie de película circunscrita a la membrana celular. Esta comienza también a reabsorberse, rompiéndose, uniéndose de este modo distintas células que originan grandes huecos en la masa hiperplásica. En algunos puntos empiezan a observarse síntomas de necrosis.

Por el contrario, en una gran mayoría de los ramos de variedad manzanillo aparecen los primeros síntomas visibles de la formación de los primordios radicales como a continuación se detalla.

En algunos puntos del interior del tejido del callo, en especial en las proximidades del cambium vascular y parénquima floemático, se observan grupos de células que destacan del resto de la masa por una ordenación incipiente y mayor coloración con la técnica de Brachet.

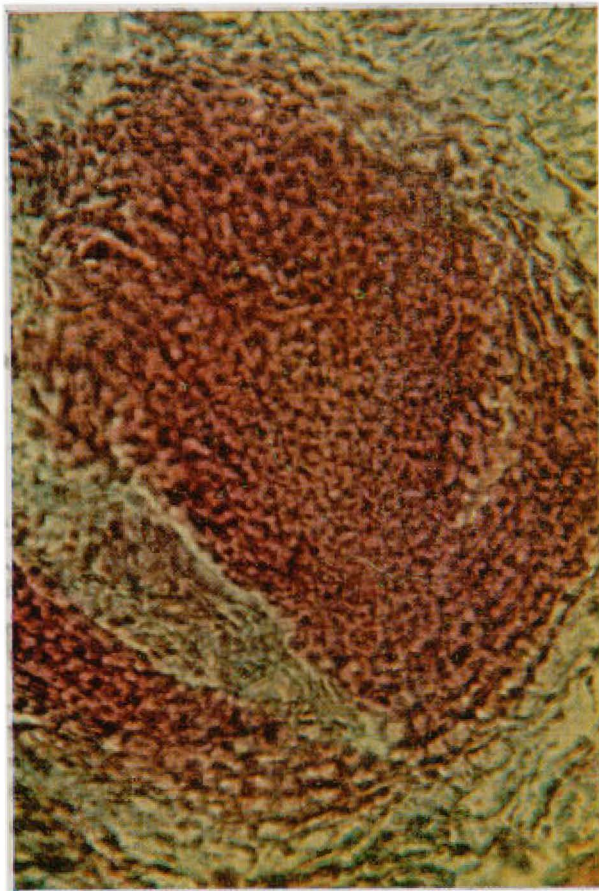
Los grupos de células aparecen en la sección transversal de las muestras como círculos de color rojo (fotog. 2), que en el espacio deben corresponderse con fornas sensiblemente esféricas.

A continuación, por sucesivas divisiones celulares en especial hacia el exterior, los grupos de células crecen rápidamente y asumen una forma cónica con el vértice cupuliforme. En este vértice, o ápice radical es donde se conserva la mayor actividad meristemática, mientras que las células de la base ganan en tamaño aunque quedan sin diferenciar.

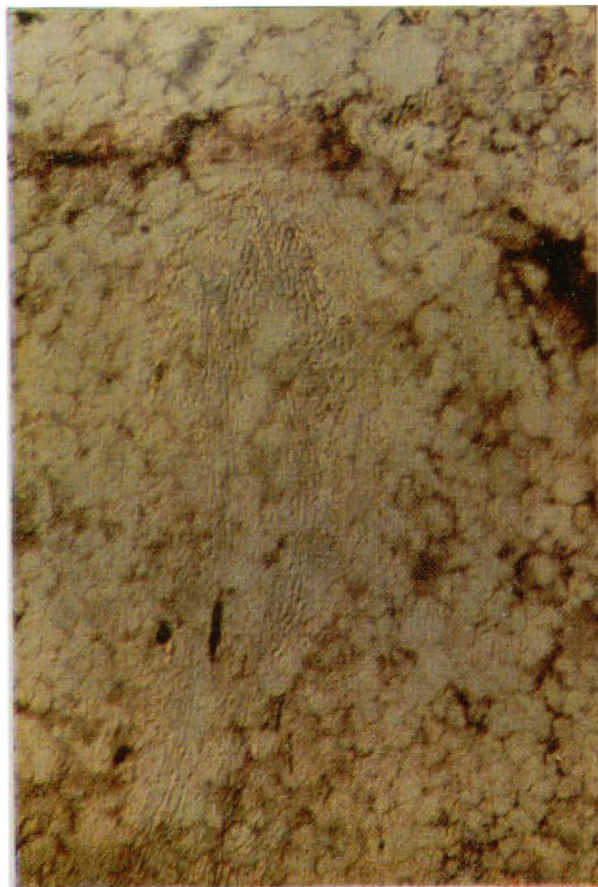
Seguidamente, a medida que el primordio radical crece por entre la masa del callo hacia el exterior y también hacia el interior del ramo, comienzan a diferenciarse los primeros tejidos, empezando por la futura corteza que envuelve a la organización celular interior de la que se formará el cilindro vascular.

A continuación, en la sección longitudinal del primordio, se observan perfectamente las primeras formaciones de los tejidos conductores que rápidamente se ponen en contacto con el xilema del ramo (fotog. 3).

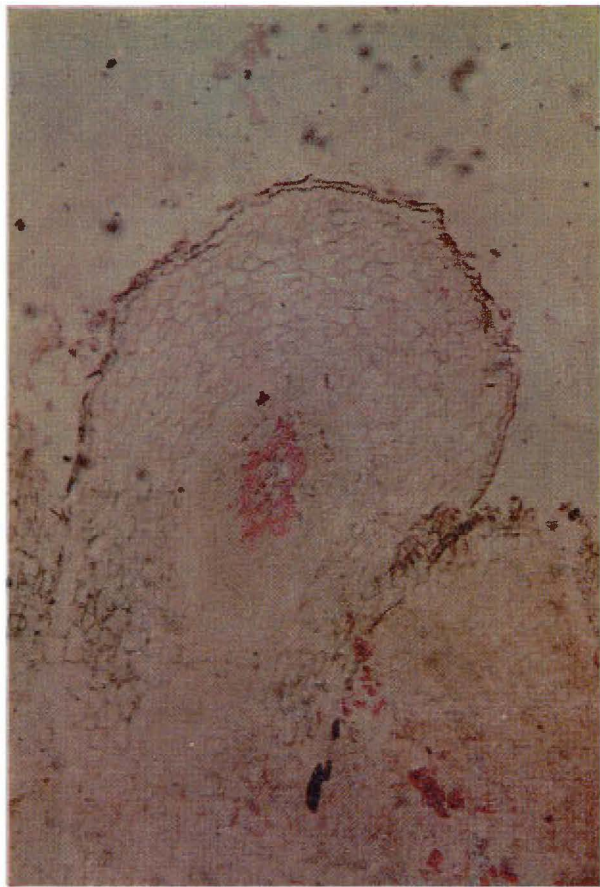
Las células de la nueva raíz adventicia siguen creciendo; unas, las del ápice, por divisiones mitóticas, otras más internas por elongación y otras, por último, haciendo cada vez más específica su diferenciación. De este modo emerge al exterior el primordio radical (fotog. 4), en el que ya son perfectamente distinguibles algunos tejidos de su estructura anatómica, como el cortex con la epidermis y el xilema con la medula (fotografía 4).



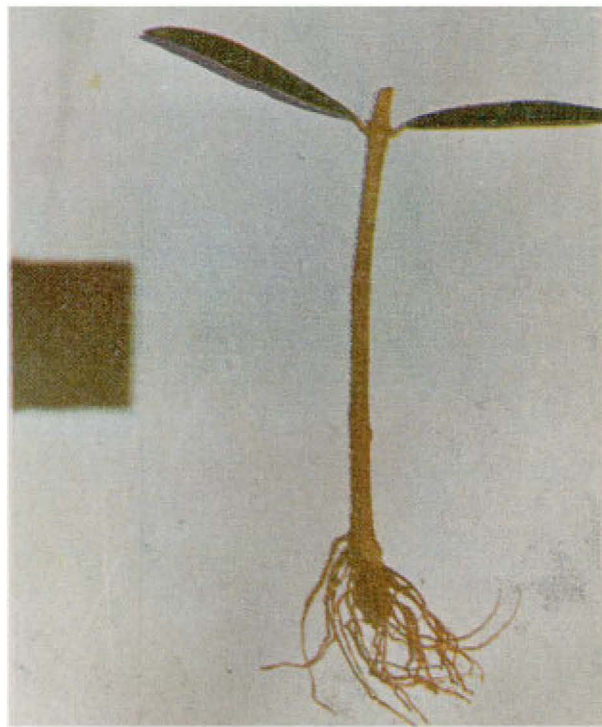
Fotografía 2.—Sección transversal de la corteza  $\times 125$ , en los primeros estadios de la formación de raíces (coloración Brachet).



Fotografía 3.—Sección transversal de la corteza  $\times 100$ , raíz adventicia en sección longitudinal diferenciando ya su sistema conductor (coloración Brachet).



Fotografía 4.—Sección transversal de la corteza  $\times 31$ , raíz adventicia en sección longitudinal emergiendo al exterior (coloración Brachet).



Fotografía 5.—Plantita de olivo dotada de abundante sistema radicular.

El primordio sigue su crecimiento a través de los tejidos del callo hasta que sale al exterior de la planta. Se distinguen perfectamente, al exterior, la corteza con la epidermis, y hacia el centro el cilindro vascular.

Todo el proceso de formación de la raíz adventicia ocurre con gran rapidez, y así en el intervalo de una semana un ramo puede pasar desde los primeros estadios de diferenciación del primordio, a la posesión de un abundante aparato radical con raíces principales de 5-6 cm. de longitud y numerosas raíces secundarias (fotog. 5).

En lo que se refiere a la prueba de la variedad gordal, tratada con AIB a 10.000 ppm., se puede hacer constar que la mayoría de las estaquillas siguieron un proceso del todo idéntico al ya descrito para esta misma variedad, mientras que las pocas que llegaron a formar raíces, lo hicieron de igual manera a la expuesta últimamente para la variedad manzanillo

#### CONCLUSIONES

1. La formación del tejido hiperplásico del callo se inicia en las células menos diferenciadas del parénquima cortical y floemático, para poco a poco invadir toda la corteza del ramo.

2. El activo crecimiento celular de las zonas parenquimáticas del floema y cortex parece ejercer una fuerte presión sobre los fibras y esclereidas del anillo o vaina esclerenquimática, de modo que rompe su continuidad quedando por último sus células dispersas por entre la masa del callo.

3. La ruptura del anillo esclerenquimático se produce tanto en la variedad gordal como en la manzanillo, de forma que para las condiciones de esta prueba, dicho anillo no puede ser considerado como un obstáculo en la formación y desarrollo de la raíz adventicia.

4. La formación, desarrollo y diferenciación de la raíz se produce del mismo modo para la variedad manzanillo que para la gordal, cuando ésta lo hace.

5. Los momentos más significativos de la fase evolutiva de la raíz adventicia, a nivel de nuestras observaciones, han sido:

Aparición de grupos de células, situados por lo general en las cercanías del cambium y parénquima floemático.

Rápido crecimiento de estos grupos que de forma más o menos esférica pasan a cónica con ápice en cúpula.

Diferenciación de la corteza que distingue la nueva raíz de los tejidos del callo, y envuelve al futuro cilindro vascular. Después aparición de los cordones procambiales que pronto se unen al xilema del ramo.

Salida al exterior de la raíz y formación de raicillas secundarias.

## RESUMEN

La formación de los tejidos del callo sigue un proceso idéntico, aunque no contemporáneo, tanto en la variedad manzanillo como en la gordal. Se inicia por un aumento de tamaño de las células menos diferenciadas del parénquima cortical y floemático, para después afectar al resto de la corteza.

Dicho crecimiento celular parece ejercer una fuerte presión sobre las fibras y esclereidas del anillo o vaina esclerenquimática, de modo que rompen su continuidad, para finalmente quedar disperso por entre la masa hiperplásica del callo.

La formación de la raíz parece, en consecuencia, ajena a la existencia del anillo esclerenquimático.

El primordio radical se manifiesta primeramente como grupo celular en activa división situado por lo general en las cercanías del cambium y parénquima floemático.

*Centro de Edafología y Biología Aplicada del Cuarto. Sevilla.*

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) BEACKBANE, A. B. 1961. Structure of the plant in relation to adventitious rooting. *Nature*, 192, 954-55.
- (2) BRACHET, J. 1957. *Biochemical Cytology*. Acad. Press. New York.
- (3) CIAMPI, C., GELLINI, R. 1958. Studio anatomico sui rapporti tra struttura e capacità di radicazione in talee di olivo. *Nuovo Giorn. Bot. Ital. N. S.*, 417-424.
- (4) CIAMPI, C., GELLINI, R. 1963. Insorgenza e sviluppo delle radici avventizie in *Olea europea* L. Importanza della struttura anatomica agli effetti dello sviluppo delle radichette. *Giorn. Bot. Ital.*, 70, núm. 1.
- (5) TRONCOSO, A., VALDERREY, L., PRIETO, J. y LIÑÁN, J. 1974. Algunas observaciones sobre la capacidad de enraizamiento de variedades de *Olea europea* L. bajo técnicas de nebulización. I. Respuesta a la emisión de raíces y estructura anatómica. (En prensa.)

Recibido para publicación: 4-VI-74

# CONTRIBUCION AL ESTUDIO DE LA MICROBIOLOGIA DE PRADERAS

por

A. MARTINEZ-FERRER y A. RODRIGUEZ-BURGOS

## SUMMARY

### CONTRIBUTION TO THE MICROBIOLOGICAL STUDY OF MEADOW SOILS

The microbial community of a meadowland soil, situated in a zone of Navarra with a strong Atlantic influence, was studied.

On analysing the variations in the numbers of microorganisms in the different horizons, the deeper ones showed relatively high values. This distribution in the profile could be related to the existence of organic matter in all the horizons.

Calcium carbonate is shown to be an important cause of the nonbiological liberation of carbone dioxide.

The authors evaluate the principal taxonomical and functional microbial groups. The Nitrate-Reducers showed an extraordinarily high number of microorganisms. One of the causes of this fact could be the existence of periods of anaerobiosis in the soil, as a consequence of the high pluviosity and defective drainage of the soil.

## INTRODUCCIÓN

Entre los trabajos realizados hasta el presente sobre las comunidades microbianas de los suelos de la Península Ibérica (6, 7, 8, 9, 10, 23, 24) no existen estudios sobre la zona de clima atlántico.

Entre las formaciones vegetales de esta zona, las praderas tienen especial importancia. El análisis microbiológico puede desempeñar un importante papel a la hora de decidir la utilización más conveniente de este tipo de suelos.

Existen numerosos trabajos sobre la microbiología de las praderas y comunidades semejantes: Eggleton (3); Babiuk y Paul (1); Malone (11); Milosevic (12); Mishoustine (13); Schaefer (19, 20, 21); Soumare y Blandeau (22) y Kucera y Kirkham (4). Sin embargo, la gran variabilidad de las condiciones climáticas y edáficas de las diferentes praderas da lugar a comunidades microbianas muy diferentes, como consecuencia es muy difícil la realización de revisiones de conjunto sobre el tema.

El presente trabajo consiste en un estudio microbiológico de un suelo

del grupo de los vertic-Eutochrepts, bajo vegetación de pradera, situado en la zona Norte de la provincia de Navarra, bajo condiciones de clima atlántico.

Se analiza la actividad microbiana a lo largo del perfil y se determinan los grandes grupos taxonómicos y funcionales existentes en el horizonte A. En el estudio de estos grupos nos limitamos al horizonte A (0-20 cm.), ya que es el que mejor puede reflejar las características microbiológicas de un suelo (13).

Finalmente se trata de establecer conclusiones entre los datos microbiológicos y algunas características edafológicas y climáticas.

## MATERIAL Y MÉTODOS

### *Material*

Los datos edafológicos del suelo estudiado y los datos climáticos de la región son los siguientes:

#### *Características edafológicas*

El suelo analizado se encuentra situado en el valle de la Ulzama (provincia de Navarra), en el Km. 7 de la carretera de Beasain a Muzquiz. La altitud es de 630 mts. sobre el nivel del mar. Su posición fisiográfica corresponde a pendiente ligera con drenaje interno impedido. El material original sobre el que se ha formado el suelo era una marga caliza. La vegetación es de pradera invadida por algunos matorrales.

El humus es de tipo mull (C/N = 14; pH = 6,6) y el horizonte (B) es de naturaleza estructural.

Según la clasificación americana presenta un epipedón ócrico y un horizonte subsuperficial cámbico. Puede situarse en el orden inceptisoles, suborden ochrepts y dentro de éstos como eutochrepts de tipo vértico.

Los principales datos edafológicos vienen resumidos en la tabla I.

Merece destacarse: la presencia de carbonatos a todo lo largo del perfil, la lenta disminución en profundidad del carbono orgánico, la textura arcillo-limosa y la existencia de un cierto carácter vértico.

#### *Características climáticas*

El clima viene caracterizado por una temperatura suave, media anual de 11,5° C y medias mensuales que varían entre 4,9° C para el mes de enero y 18,8° C para el de agosto, y por una precipitación muy elevada, media anual de 127,3 cm., con valores extremos de 17,2 cm. para el mes de enero y 4,6 cm. para el de julio.



T A B L A I

## Datos edafológicos

Profund. cm.	Análisis mecánico %				C. org. %	C/N	CO <sub>2</sub> Ca %	Cationes de cambio (miliequivalentes/100 g)				CEC mili eq/100 g	pH (1)	
	2 - 0,2	0,2 - 0,02	0,02 - 0,092	0,002 -				Ca	Mg	Na	K		H <sub>2</sub> O	ClK
A 0 - 20	0,35	7,30	39,20	45,50	3,80	13,97	4,70	78,0	2,0	0,07	0,08	17,6	6,6	6,3
B <sub>1</sub> 20 - 45	0,30	7,50	39,90	53,30	2,48	13,26	0,70	29,0	1,0	0,04	0,05	18,9	6,75	6,2
B <sub>2</sub> 45 - 80	0,45	12,30	38,70	52,37	1,52	11,17	—	20,0	2,0	0,03	0,05	17,6	6,5	6,2
C 80 - 110	0,25	3,30	41,60	54,07	0,63	5,20	30,70	173,0	0,0	0,03	0,12	15,6	7,5	6,7
R 110 -	0,25	8,75	37,90	52,92	—	—	45,60	—	—	—	—	—	—	—

C. org.: Carbono orgánico.

CEC: Capacidad de cambio medida utilizando acetato amónico.

C/N: Cociente carbono y nitrógeno orgánicos.

(1): pH medido en H<sub>2</sub>O o en ClK.

En la clasificación climática de Thorntwaite viene caracterizado por los siguientes índices:  $B_s$ ,  $B'_1$ , entre  $s'$  y  $b'_1$  y entre  $r$  y  $s$ .

El período de toma de muestras, mes de octubre, presenta una temperatura media de  $12,5^\circ\text{C}$  y una pluviosidad de  $10,9\text{ cm/m}^2$ .

El diagrama de evapotranspiración potencial (fig. 1) muestra que el período de falta de agua es muy reducido, mientras que existe un prolongado período de agua superflua, según datos de Liso, M. y Ascaso, A. (5).

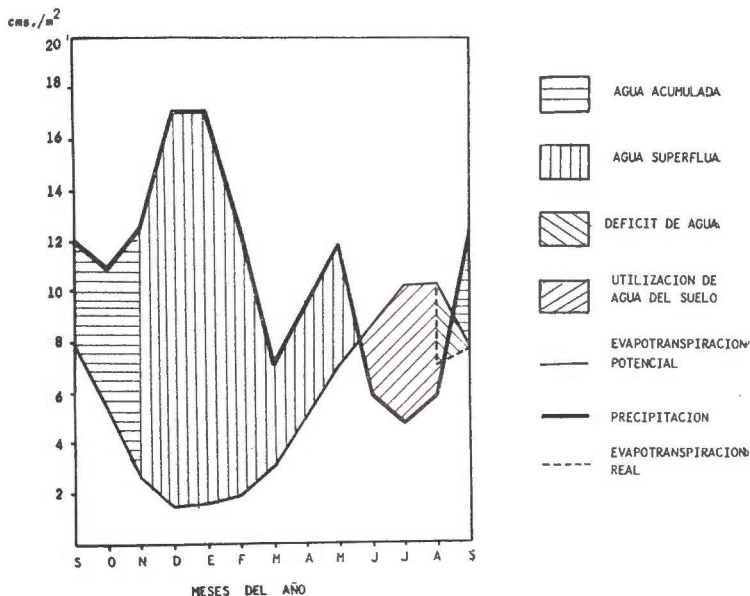


Fig. 1.—Diagrama de evapotranspiración.

### Métodos

En los análisis microbiológicos se siguieron las técnicas descritas por Pochon y Tardieux (16).

El desprendimiento de anhídrido carbónico se midió en el laboratorio (16). El recuento total se efectuó en medio líquido de extracto de suelo. Los recuentos de actinomicetos y hongos se llevaron a cabo sobre medios sólidos. En la valoración de los grupos funcionales se utilizaron medios líquidos. Las lecturas se prolongaron durante un período de quince días, a fin de obtener las correspondientes curvas de actividad.

Para los distintos grupos funcionales se utilizaron distintos tiempos y condiciones de incubación de acuerdo con Pochon y Tardieux (16).

Las muestras se conservaron a  $4^\circ\text{C}$  durante quince días.

## RESULTADOS

*Comparación de la actividad a lo largo del perfil*

Los valores del desprendimiento de anhídrido carbónico, correspondientes a un período de incubación de veinticuatro horas, vienen expresados en la tabla II.

*Recuento total de microorganismos*

En la tabla II se indican, junto con el desprendimiento de  $\text{CO}_2$ , los números de microorganismos, correspondientes a los diferentes horizontes, referidos a gramo de peso seco de suelo.

TABLA II

*Valores de los números totales de microorganismos, contenido en carbono orgánico, desprendimiento de  $\text{CO}_2$  y contenido en  $\text{CO}_3\text{Ca}$  referidos a peso seco de suelo, para los diferentes horizontes del perfil*

	Número de microorganismos (por gramo)	C. orgánico %	Desprendimiento de $\text{CO}_2$ (mg de gas/100 gr.)	$\text{CO}_3\text{Ca}$ %
A	67 . $10^6$	3,80	85	4,7
B <sub>1</sub>	33 . $10^6$	2,48	65	0,7
B <sub>2</sub>	11 . $10^6$	1,52	40	--
C	0.46 . $10^6$	0,60	70	30,7

*Valoración de los diferentes grupos de la comunidad microbiana para el horizonte A*

Los valores de los principales grupos, tanto taxonómicos como funcionales, vienen expresados en la tabla III.

Se obtuvieron también las curvas de actividad de algunos grupos funcionales, tal como se muestra en la figura 2.

TABLA III

Valores de los números de microorganismos de los principales grupos taxonómicos y funcionales en el horizonte A

Grupos de microorganismos	Número de microorganismos por gr. de peso seco	
Número total de microorganismos (*)	67 . 10 <sup>6</sup>	
Hongos	28,1 . 10 <sup>3</sup>	
Actinomicetos	18,9 . 10 <sup>6</sup>	
Celulolíticos	— aerobios	3,3 . 10 <sup>6</sup>
	— anaerobios	0,33 . 10 <sup>6</sup>
Amilolíticos	6 . 10 <sup>6</sup>	
Proteolíticos	12,7 . 10 <sup>6</sup>	
Amonificantes	20 . 10 <sup>6</sup>	
Nitrato-reductores	33 . 10 <sup>6</sup>	
Fijadores del N <sub>2</sub>	— aerobios	0,47 . 10 <sup>3</sup>
	— anaerobios	3,3 . 10 <sup>3</sup>
Nitrificantes	— nitrosos	1,7 . 10 <sup>3</sup>
	— nítricos (**)	—
Oxidantes de	— azufre mineral	6 . 10 <sup>3</sup>
	— sulfuros	0
Mineralizadores anaerobios del azufre orgánico	30 . 10 <sup>3</sup>	

(\*) Dado el pequeño número de hongos, este recuento de microorganismos puede considerarse referido a bacterias y actinomicetos.

(\*\*) La técnica no resultó satisfactoria.

## DISCUSIÓN

### *Comparación de la actividad a lo largo del perfil*

Puede observarse que no existe una correspondencia entre los contenidos en microorganismos y los valores de desprendimiento de anhídrido para los diferentes horizontes (tabla II). El horizonte C con un menor número de microorganismos presenta mayor desprendimiento que el B<sub>1</sub> y el B<sub>2</sub>.

Esto sólo puede explicarse por la existencia de un importante desprendimiento no biológico.

Pensamos que este desprendimiento no biológico puede deberse a la existencia de un elevado contenido en carbonato cálcico, muy superior al de los restantes horizontes.

Para los restantes horizontes el desprendimiento de  $\text{CO}_2$  presenta valores paralelos a los del número de microorganismos, por lo que pensamos que en estos casos el desprendimiento de  $\text{CO}_2$  de origen biológico debe ser importante.

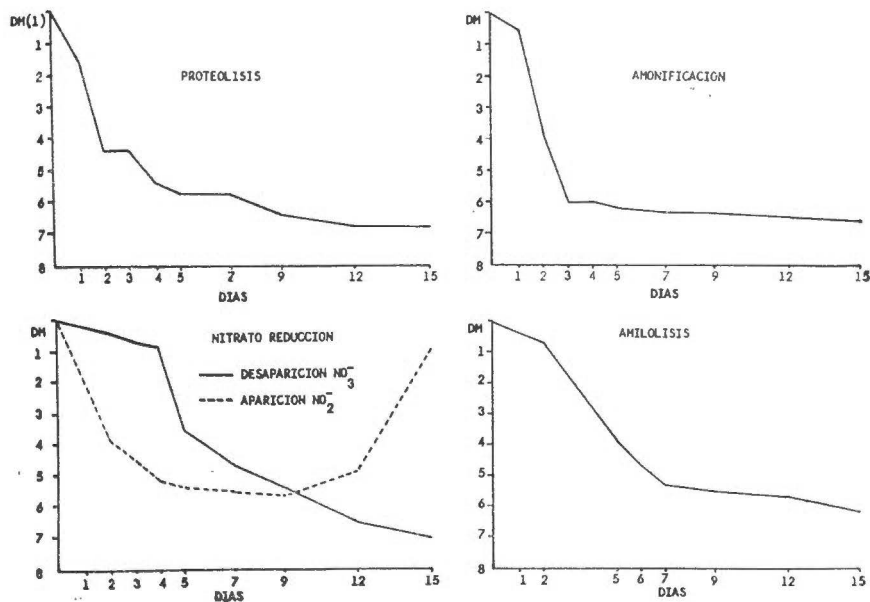


Fig. 2.—Curvas de actividad. (1): DM = dilución media límite (según Pochon y Tardieux (16)).

En tal caso el desprendimiento de anhídrido carbónico no podría utilizarse como medida de la actividad biológica de un suelo si éste contiene carbonatos.

El descenso del número de microorganismos resulta paulatino a partir de la superficie hasta el horizonte C. Paralelamente observamos (tabla II) una disminución paulatina en el contenido de carbono orgánico en profundidad. El elevado número de microorganismos de los horizontes minerales ( $B_1$ ,  $B_2$  y C) parece estar relacionado con el elevado contenido de carbono orgánico en los citados horizontes.

### *Valoración de los diferentes grupos microbianos*

Los datos edafológicos muestran un humus tipo mull cálcico. Mediante el análisis microbiológico y comparando con los valores propuestos por Duchaufour y Pochon (2) para los principales tipos de humus, podemos llegar a una caracterización idéntica. Dentro de los humus tipo mull algunas características microbiológicas nos permiten definirlo como mull cálcico, entre ellas:

La relación muy alta (2.369) entre número total de microorganismos y hongos.

Los contenidos en microorganismos amonificantes y amilolíticos no excesivamente elevados.

Los valores obtenidos para los microorganismos nitrificantes son bastante bajos. Munro (14, 15) y Rice y Rancholy (17, 18) demostraron la inhibición de los nitrificantes por extractos de raíces de hierbas de praderas.

La elevada pluviosidad de la zona debe tener un importante efecto sobre la fisiología de la comunidad microbiana. Una de las consecuencias más importantes de esta alta pluviosidad, unida a la textura arcillosa del suelo que impide fuertemente el drenaje vertical, es la existencia de periodos en que el suelo está totalmente saturado de agua.

Creemos que el número extraordinariamente alto de microorganismos nitrato-reductores se debe a la ventaja que supone para su desarrollo la posibilidad de utilizar, durante los periodos de anaerobiosis, los nitratos como aceptores de electrones.

### *Agradecimientos*

Nuestro agradecimiento al Prof. J. Iñiguez, Director del Departamento de Edafología de la Universidad de Navarra, por los datos y orientaciones proporcionados.

Igualmente, nuestro agradecimiento a las Srtas. Andrea Avila y María Teresa Echeverría, por su eficaz colaboración técnica.

### RESUMEN

Se estudia la comunidad microbiana de un suelo bajo vegetación de pradera, situado en una zona de la provincia de Navarra cuyo clima presenta una fuerte influencia atlántica.

Analizadas las variaciones del número de microorganismos a lo largo del perfil se encuentra que las zonas profundas mantienen valores relativamente elevados. Esta distribución de los microorganismos a lo largo del perfil puede estar relacionada con la existencia de materia orgánica en todos los horizontes.

Se pone de manifiesto la importancia del  $\text{CO}_3\text{Ca}$  como causa de desprendimiento de anhídrido carbónico no biológico.

Los autores evalúan los principales grupos microbianos, tanto taxonómicos como funcionales.

Entre estos últimos el grupo de los nitrato-reductores presenta un número de microorganismos excepcionalmente elevado; una de las causas de este fenómeno puede ser la existencia de periodos de anaerobiosis en el suelo como consecuencia de la elevada pluviosidad y del deficiente drenaje del suelo.

*Laboratorio de Microbiología del Suelo.  
Departamento Interfacultativo de Microbiología y Parasitología.  
Universidad de Navarra.*

#### B I B L I O G R A F Í A

- (1) BABIUK, L. A. y E. A. PAUL (1970). The use of fluorescein isothiocyanate in the determination of bacterial biomasses of grassland soil. *Can. J. Microbiol.*, **16**, 57-62.
- (2) DUCHAUFOUR, PH. y J. POCHON (1955). Note sur la biologie de humus forestiers. *Ann. Inst. Pasteur*, **88**, 261-5.
- (3) EGGLETON, W. G. E. (1934). Estudios on the microbiologie of grassland soil. Part I. General chemical and microbiological features. *J. Agric. Sci., Camb.*, **24**, 216-34.
- (4) KUCERA, C. L. y D. R. KIRHAM (1971). Soil respiration studies in tallgrass prairie in Missouri. *Ecology*, **52** (5), 912-5.
- (5) LISO, M. y A. ASCASO (1969). Introducción al estudio de la evapotranspiración y clasificación climática de la cuenca del Ebro. *An. Estación Exp. de «Aula Dei»*, **10**, 5-550.
- (6) LOEB, W. (1967). Untersuchungen zur Mikrobiologie Spanischer Boden. *An. Edaf. Agrob.*, **26**, 975-1007.
- (7) LOZANO CALLE, J. M. (1968). Variaciones estacionales de la población microbiana en diversos suelos de cultivo de trigo en secano y regadío. *An. Edaf. Agrob.*, **27**, 835.
- (8) LOZANO CALLE, J. M. (1968). Influencia de diversos factores ambientales sobre la actividad microbiana. *An. Edaf. Agrob.*, **27**, 849-55.
- (9) LOZANO CALLE, J. M. y F. VELASCO DE PEDRO (1971). Población microbiana y tipos de humus en suelos semiáridos. *An. Edaf. Agrob.*, **30**, 285-92.
- (10) LOZANO CALLE, J. M. (1972). Alteraciones sinecológicas de la población microbiana de un antiguo bosque de *Q. toza* Bosch repoblado con *P. pinaster* Sol. *An. Edaf. Agrob.*, **31**, 615-23.
- (11) MALONE, CH. R. (1970). Short-term effects of chemical and mechanical cover management on decomposition processes in grass-land soil. *J. Appl. Ecol.*, **7** (3), 591-601.
- (12) MILOSEVIC, R. (1970). Mikroflora I njena dinamika na raznim naselje V pesku stepskog deliblatske pescare III mikrobno. *Acta Biol. Jugoslavica Ser. B Mikrobiol.*, **7**, 21-44.
- (13) MISHOUSTINE, E. N. (1964). Les différents types de sol et la spécificité de leur micropopulation. *Ann. Inst. Pasteur*, **107**, 63-77.
- (14) MUNRO, P. E. (1966). Inhibition of nitrifiers by grass root extracts. *J. Appl. Ecol.*, **3**, 231-8.
- (15) MUNRO, P. E. (1966). Inhibition of nitrite oxydizers by root of grass. *J. Appl. Ecol.*, **3**, 227-9.

- (16) POCHON, J. y P. TRADIEUX (1962). Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Ed. de la Tourelle, St. Mandé (Seine).
- (17) RICE, E. L. y S. K. PANCHOLY (1972). Inhibition of nitrification by climax vegetation. Amer. J. Bot., 59, 1033-40.
- (18) RICE, E. L. y S. K. PANCHOLY (1973). Inhibition on nitrification by climax ecosystems. II. Additional evidence and possible role of tannins. Amer. J. Bot., 60 (7), 691-702.
- (19) SCHAEFER, R. (1967). Caractères et évolution des activités microbiennes dans une chaîne de sols hydromorphes mésotropiques de la plaine d'Alsace. I. Rev. Ecol. Biol. Sol., T. IV (3), 385-437.
- (20) SCHAEFER, R. (1967). Caractères et évolution des activités microbiennes dans une chaîne de sols hydromorphes mésotropiques de la plaine d'Alsace. II. Rev. Ecol. Biol. Sol., T. IV (4), 567-92.
- (21) SCHAEFER, E. Caractères et évolution des activités microbiennes dans une chaîne de sols hydromorphes mésotropiques de la plaine d'Alsace. III. (Sin publicar.)
- (22) SOUMARE, S. y R. BLANDEAU (1972). Caracteristiques microbiologiques des sols de la region nord de la France. Importance des Arthrobacter. Ann. Inst. Pasteur., 123, 239-49.
- (23) VELASCO DE PEDRO, F. y J. M. LOZANO CALLE (1971). Actividad microbiológica del humus en suelos semiáridos. An. Edaf. Agrob., 30, 231-41.
- (24) VELASCO DE PEDRO, F. y J. M. LOZANO CALLE (1972). Procesos microbianos de humificación dinámica microbiana y catenas de suelos en la sierra de Guadarrama. An. Edaf. Agrob., 31, 347-58.

Recibido para publicación: 13-IX-74



# VARIACIONES CRONOLOGICAS DEL NITROGENO NITRICO EN SUELO DESNUDO

por

ESTHER SIMON MARTINEZ

## SUMMARY

### CHRONOLOGICAL VARIATIONS OF MINERAL NITROGEN IN A BARE SOIL

The chronological variations of mineral nitrogen ( $N-NO_3^-$ ) in a bare soil near Barcelona are studied during 18 months. The rate of mineral nitrogen varies between 1 to 55 ppm and is controlled by environmental factors (temperature, moisture and rain). It is directly correlated with temperature, but 8 weeks deferred, and inversely correlated with moisture and rain. An harmonic chronological variation model, with an annual period (temperature), a seasonal period (Mediterranean rain) and another period about 5 weeks-also reflected in rain regime- is carried up.

Las variaciones del contenido de nitrógeno mineral en el suelo han sido objeto de numerosas investigaciones, dada la considerable importancia que supone la disponibilidad de este elemento indispensable para el crecimiento y desarrollo del vegetal. De ahí los numerosos estudios que sobre este aspecto se han realizado en las más diversas condiciones edáficas y climáticas.

En clima mediterráneo cabe destacar el trabajo de Lefevre y Drouineau (1951) que analiza mensualmente el contenido en nitrógeno mineral de un suelo desnudo, arcilloso-calcáreo de la región de los Alpes marítimos (Grasse).

El objeto del presente trabajo es analizar la posible existencia de variaciones bruscas que no puedan ajustarse a anomalías climáticas como las halladas por Diamond (1937), Griffith (1951), Hagenzieker (1957), Hebert (1960), Maasz (1961), Hebert y Lefevre (1965).

## MATERIAL Y MÉTODOS

El ensayo se ha realizado en los Campos Experimentales de la Facultad de Ciencias, Universidad de Barcelona.

Las características del suelo objeto de experimentación se hallan sintetizadas en la tabla I. Dicho suelo se ha desarrollado sobre la plataforma del llano alto de Barcelona. Corresponde este llano a una estrecha llanura litoral pliocénica colmatada con arcillas y arenas de esta edad, sobre la cual durante el Pleistoceno se han desarrollado depósitos continentales cíclicos, de arcillas rojas aluviales y limos ocreos eólicos que hacia la parte superior se enriquecen en nódulos calcáreos hasta derivar en un caliche compacto.

TABLA I

*Datos físicos y químicos del suelo*

	Profundidad 0,20 cm.	Profundidad 20-60 cm.	
pH ...	agua (1:2) .....	7,8	8,0
	CaSO <sub>4</sub> - 2H <sub>2</sub> O sat. ....	7,6	7,85
CaCO <sub>3</sub> equiv. % .....	8,4	7,6	
Arcilla % (Robinson) .....	21,2	21,0	
Limo % (Robinson) .....	10,2	17,4	
Arena fina % (Robinson) .....	42,1	38,6	
Arena gruesa % (Robinson) .....	26,5	23	
Gravilla % .....	19,7	12,8	
Materia orgánica % .....	5,0	2,1	
C. I. C. (AcNH <sub>4</sub> , pH 7) m. e. % .....	15,5	14,1	
K (AcNH <sub>4</sub> , pH 7) ppm .....	485	315	
Na (AcNH <sub>4</sub> , pH 7) ppm .....	440	210	
Mg (AcNH <sub>4</sub> , pH 7) ppm .....	400	690	
P asimilable (Olsen) ppm .....	110	82	
N Kjeldahl) mg/100 gr .....	177	133	
C/N .....	14	7,8	
Extracto 1:5 mmhos .....	0,588	0,443	

El clima de la región es de tipo mediterráneo caracterizado por veranos calurosos (media de julio 24° C) e inviernos suaves (media de enero ° C), en el que las heladas son poco frecuentes y las lluvias escasas (630 mm. anuales).

Las extracciones de suelo se han efectuado sobre una superficie rectangular de 24 m<sup>2</sup>, de 8 x 3 m. de lado, subdividida en parcelas de 1,5 x 2 m.

Semanalmente se procedió a extraer, mediante una sonda hueca, dos

muestras de cada una de las ocho parcelas en que se dividió el área de experimentación, recogiendo los 20 cm. superiores del suelo. Las muestras de cada parcela se mezclaban y homogenizaban para su análisis, analizándose independientemente un total de ocho muestras cada vez, que representan una densidad de muestreo de 0,33 por metro cuadrado.

Las muestras así extraídas se analizaban en cuanto a su contenido en nitrógeno nítrico (Jackson, 1958) y humedad.

El elevado número de muestras que se tomaba cada vez vino impuesto por la elevada dispersión espacial de la distribución del nitrógeno nítrico en el suelo. Para determinar el número de muestras que se necesitaban tomar en cada muestreo se procedió a la extracción, en un mismo día, de 32 muestras correspondientes al área de estudio. El análisis de estas muestras reveló que los valores obtenidos se agrupaban en forma de distribución logarítmica, con un valor medio de 4,87 ppm. de  $N-NO_3^-$  y con una varianza de 5,36 que equivale a un factor de desviación de 1,10, con un error standard de 0,943.

De esta forma, con 16 muestras cada vez, se obtiene una diferencia mínima significativa de aproximadamente 3 ppm. (2.935 ppm.) entre dos muestras sucesivas, con una precisión de  $\pm 5$  ppm. Dada la dispersión existente, la diferencia mínima significativa que era posible obtener con infinitas muestras era de 1,88 y de 2,60 con 20 muestras. Una extracción de sólo 10 muestras en cada muestreo habría permitido tan solo una diferencia significativa de 4 ppm., aumentando este valor a 10 ppm. con un muestreo de sólo cuatro repeticiones por semana.

## RESULTADOS

En la figura 1 se muestran los valores obtenidos en los sucesivos análisis.

La concentración media de nitrógeno es del orden de los 27 ppm., lo que equivale aproximadamente a unos 67,5 kg/ha., presentándose valores máximos de 55 ppm. y mínimos de 1 ppm. Durante este tiempo la temperatura varió entre 25 y 5° C, con una media de 15°, y la humedad relativa presenta anualmente un valor medio del 15 por 100, oscilando entre el 20 por 100 y el 10 por 100.

En la figura 1 puede verse como la distribución de las concentraciones de nitrógeno a lo largo de un año, aunque muy variable, presenta un acusado mínimo de fines de invierno a principios de primavera y un máximo de fines de verano mediados de otoño.

El factor que más altera la distribución uniformemente variada de las concentraciones del nitrógeno es la presencia de precipitaciones. Puede observarse que se producen importantes descensos en la toma de muestra que corresponde a semanas con fuertes valores de precipi-

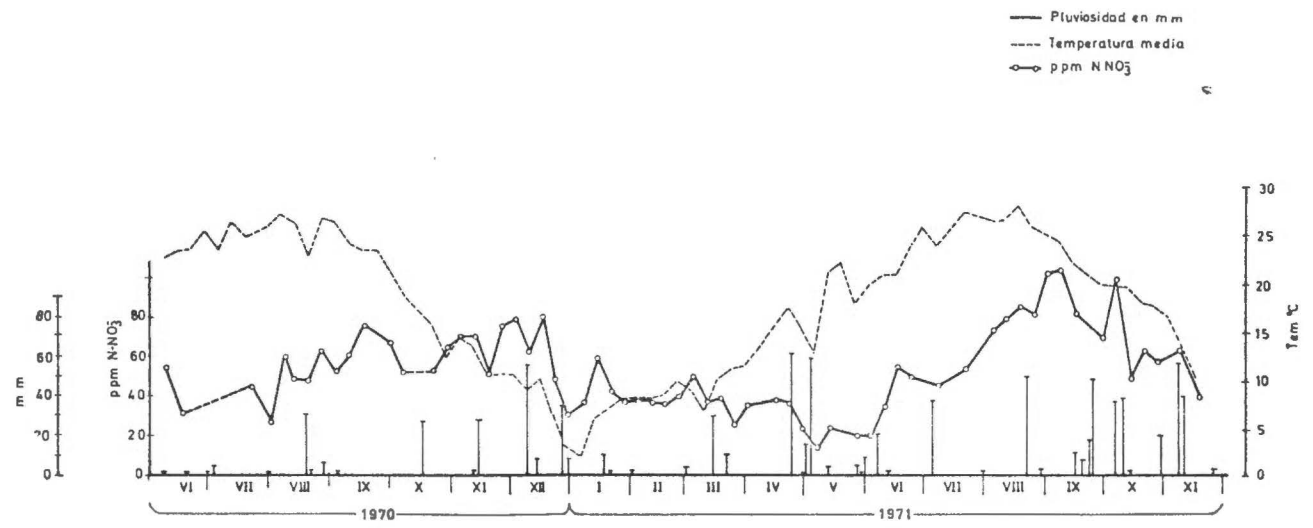


Fig. 1.—Variación del N-NO<sub>3</sub> temperatura y pluviosidad en la capa superficial del suelo.

tación, observándose una rápida recuperación del nivel en la muestra correspondiente a la semana siguiente. Este fenómeno debe interpretarse como resultado del arrastre en profundidad por las aguas de lluvia del nitrógeno liberado en las proximidades de la superficie del suelo. Este déficit de concentración sería rápidamente subsanado por el sistema en el momento en que deja de existir un arrastre extraordinario hacia las zonas profundas del suelo.

Si no se tienen en cuenta estos descensos bruscos debidos a las precipitaciones y las pequeñas oscilaciones propias de la variabilidad estadística del método, puede observarse que la gráfica resultante presente un fuerte parecido con la correspondiente a las temperaturas medias, medidas a 5 cm. de profundidad. Sin embargo, a pesar del fuerte parecido entre ambas gráficas, existe un cierto desplazamiento entre las mismas, ya que mientras la gráfica de temperaturas presenta un máximo de julio y un mínimo de enero, la de las variaciones en el suelo presenta el máximo en septiembre y el mínimo en marzo, aproximadamente.

Se han estudiado las correlaciones existentes entre la concentración de nitrógeno y los factores ambientales considerados (temperatura del suelo, humedad relativa del mismo y precipitaciones). En la tabla II puede observarse como existe una correlación positiva altamente significativa entre la concentración de nitrógeno y la temperatura (0,436 con 48 grados de libertad) y negativa entre la concentración de nitrógeno y la humedad relativa de las muestras (-0,4462 con 48 grados de libertad), aunque esta última es algo mayor respecto al logaritmo de la humedad relativa (-0,4815 con 48 grados de libertad). Al estudiar las correlaciones múltiples entre la concentración de nitrógeno y los factores ambientales (temperatura, humedad y precipitaciones) se

TABLA II

*Correlaciones toma de muestra directa del suelo*

	ppm. N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	ln N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	% hu- medad	ln % hu- medad	Temp. media suelo	ln temp. suelo
ppm. N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> ...	1	0,9666	-0,4462	-0,4815	0,4360	0,3836
ln ppm. N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> .		1	-0,3996	-0,4277	0,3575	0,3096
% humedad . . . .			1	0,9903	-0,7180	-0,6660
ln % humedad . .				1	-0,7165	-0,6478
temp. suelo . . . .					1	0,9411
ln temp. suelo . .						1
	Coeficientes de correlación > 0,37		significación del 99 %		Grados de libertad: 48	
	Coeficientes de correlación > 0,29		significación del 95 %			

observa que todos ellos intervienen aproximadamente en un grado parecido, ya que en las distintas combinaciones posibles el factor de correlación se mantiene entre 0,436 y 0,430, con un error standard de 0,4.

Tal uniformidad es lógica, ya que existe una fuerte correlación entre la temperatura y la humedad ( $-0,817$  con 48 grados de libertad) y existe también una lógica correlación entre humedad y precipitaciones y temperatura y precipitaciones, aunque la correlación de las precipitaciones con la concentración de nitrógeno, de tipo inverso, no llegue a ser significativa.

Tales correlaciones permiten considerar que fundamentalmente las variaciones cronológicas de la concentración de nitrógeno analizado en muestras extraídas directamente del suelo depende esencialmente de las variaciones de la temperatura y de las precipitaciones, ya que de hecho las variaciones de la humedad dependen fundamentalmente de las variaciones de estos dos factores ambientales.

Sin embargo, ya se ha hecho notar que existe un cierto defasaje entre las gráficas de la concentración de nitrógeno y las de la temperatura del suelo. Para medir este defasaje se ha procedido al cálculo de las correlaciones de ambas series de datos, desplazando la una progresivamente sobre la otra. De esta forma se han obtenido los valores reflejados en la tabla III, que muestran que la máxima correlación entre ambas series se obtiene para ocho desplazamientos. O sea, que las oscilaciones térmicas se reflejan en la producción de nitrógeno en el suelo con un defasaje del orden de siete a ocho semanas.

En la figura 2 se muestran las gráficas correspondientes a los valores medios suavizados de concentración de nitrógeno en el suelo, los valores de concentración de nitrógeno calculados a partir de la temperatura media del suelo y los valores residuales entre ambas curvas, poniéndose de manifiesto el alto grado de ajuste entre la gráfica real y la teórica.

Los valores suavizados se han obtenido por el sistema de las medidas flotantes, ajustando una media móvil a cada seis puntos consecutivos. Para el cálculo del valor de la concentración de nitrógeno a partir de la temperatura se ha utilizado la recta de regresión.

$$C = 11,63 + 1.14 T.$$

Siendo C la concentración de  $N-NO_3^-$  expresada en ppm y T la temperatura media del suelo a 5 cm. de profundidad correspondiente a cincuenta y seis días antes de la toma de muestra.

Es sorprendente la tendencia sinusoidal compleja que presentan estos valores residuales, lo cual permite suponer que la temperatura no es el único período cíclico que influye en las variaciones de la concentración de nitrógeno mineral en el suelo.

TABLA III

Correlaciones entre el  $N-NO_3^-$  y la temperatura del suelo defasada de 0 a 20 semanas

Semanas de defasaje	Datos tomados en valores reales	
	Coeficiente de correlación	
0		0,4360
1		0,5382
2		0,5745
3		0,6264
4		0,6366
5		0,6341
6		0,6346
7		0,6322
8		0,6440
9		0,6218
10		0,6138
11		0,5905
12		0,5307
13		0,4575
14		0,3957
15		0,2903
18		0,0525
20		0,0123

Grados de libertad iniciales: 48

Se ha procedido al estudio estadístico de estos valores residuales de la concentración de nitrógeno para intentar dilucidar qué frecuencias intervienen en sus variaciones.

Como puede verse en la figura 3 en los valores reales se pone de manifiesto un período importante superior a cuarenta y cuatro semanas, otro de veintidós semanas seguido de otro menor comprendido entre once y catorce semanas y se insinúa la posibilidad de un tercer período comprendido entre 4,89 y 5,50 semanas. En los valores residuales, calculados restando a los valores reales la concentración de nitrógeno evaluada a partir de la temperatura por medio de la curva de regresión, se observa que sólo resaltan el período de once a catorce semanas y se pone más de manifiesto el de 4,89 a 5,50 semanas.

Para interpretar estos resultados se ha procedido al cálculo de los

espectros potenciales de los fenómenos ambientales (humedad, temperatura y precipitaciones). La temperatura presenta un único período superior a cuarenta y cuatro semanas, el cual debe considerarse lógicamente como anual. Las precipitaciones y la humedad (esta última consecuencia de las primeras) muestran en su espectro potencial dos perío-

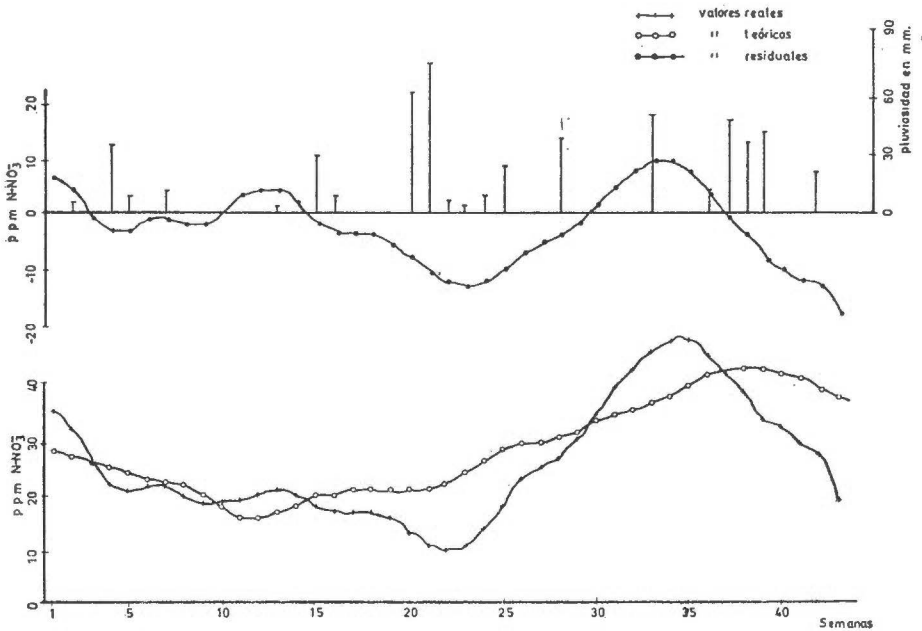


Fig. 2.—Curvas de  $N-NO_3$  extraído directamente del suelo.

dos bien marcados (fig. 4), uno de tipo estacional del orden de las once a catorce semanas, el cual representa cerca del 50 por 100 de las frecuencias, y otro más corto, comprendido entre 4,89 y 5,50 semanas, que representa cerca del 15 por 100 de las frecuencias totales. La existencia de estos dos períodos bien definidos, en los factores ambientales, justifica que éstos también se hallen reflejados en las variaciones de las concentraciones de nitrógeno en el suelo, ya que tales variaciones dependen fundamentalmente de las variaciones de las condiciones ambientales.

Paradójicamente en las precipitaciones del año 1971 tiene muy poca significación el ciclo semianual característico de las precipitaciones en clima mediterráneo, con máximos de primavera y otoño, ya que fuertes precipitaciones ocurridas en invierno y algunas en verano desvirtúan la frecuencia semianual, acusando aún más la frecuencia estacional que en años medios debería ser de orden secundario.

Esta distribución anómala de las precipitaciones de este año es la



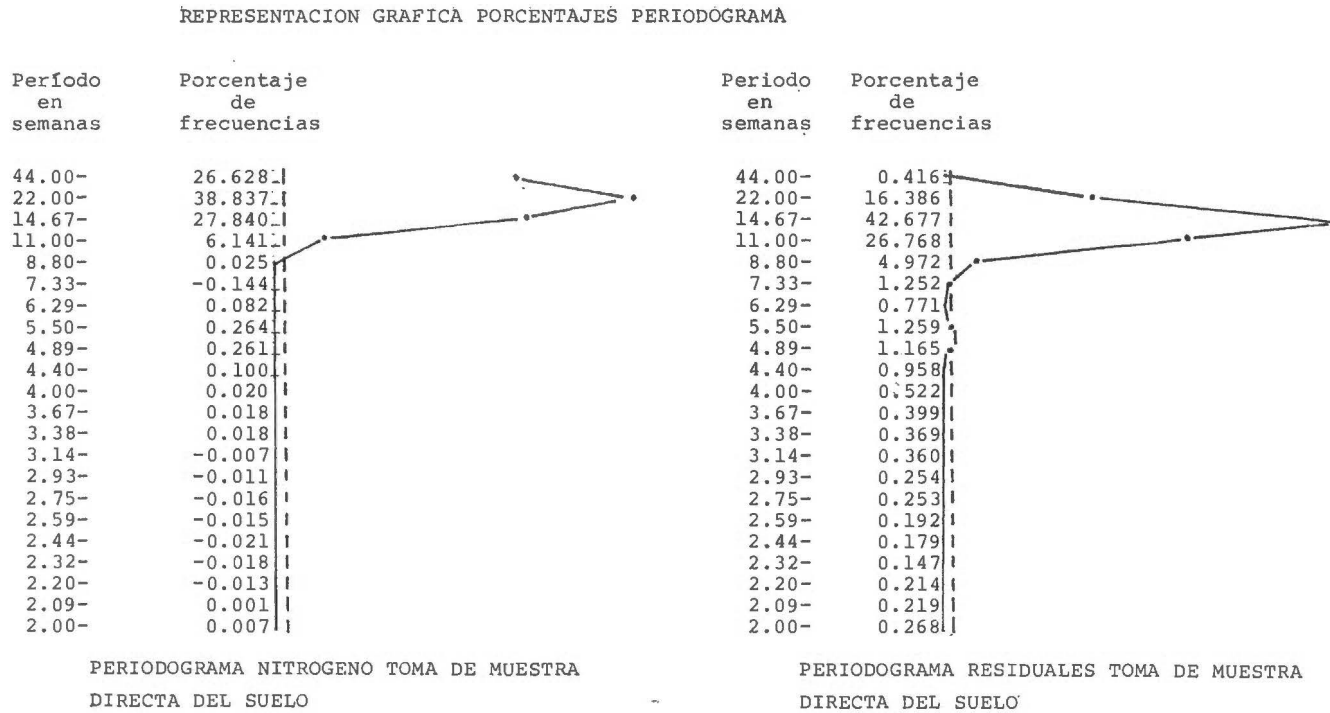
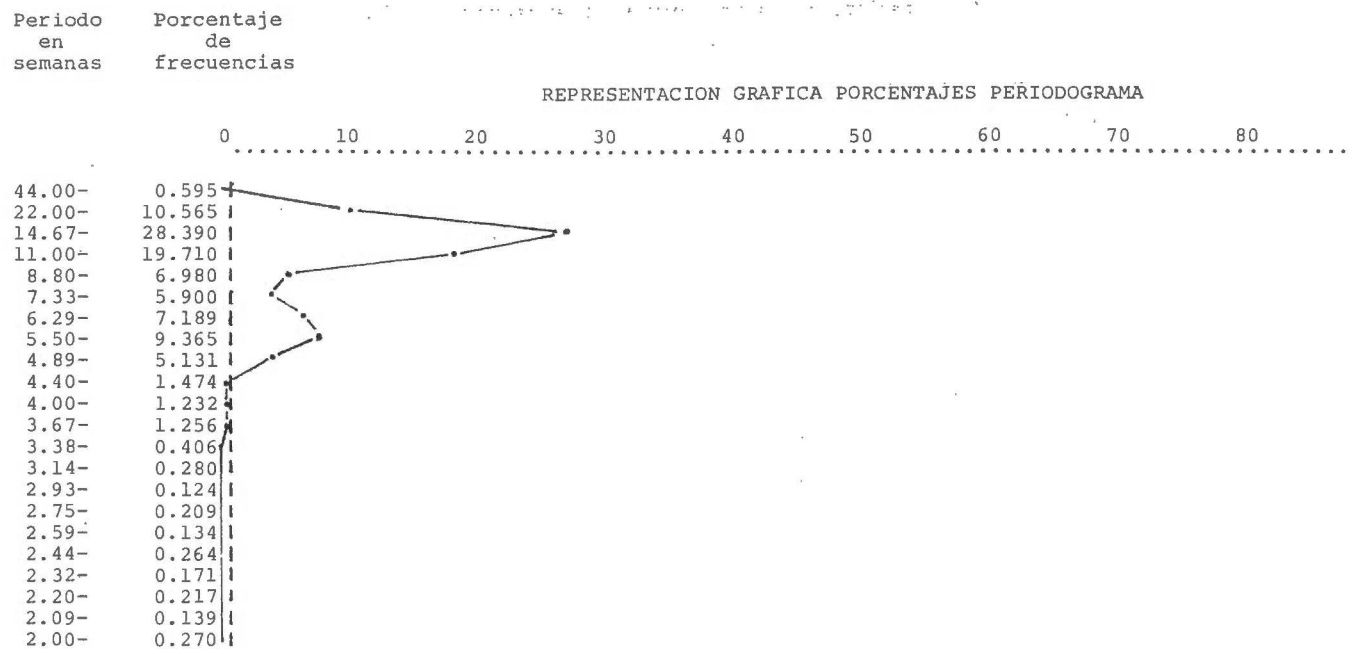


Fig. 3.—Representación gráfica valores periodograma N-NO<sub>2</sub>.



PERIODOGRAMA PRECIPITACIONES TOMA DE MUESTRA DIRECTA DEL SUELO

Fig. 4.—Representación gráfica valores periodograma pluviosidad.

causa de que el ciclo semianual, que en otros años se presenta en las concentraciones de nitrógeno, en el año 1971 sólo se insinúa en los datos reales y aún posiblemente arrastrado en parte por el ciclo térmico anual, mientras que en los valores residuales, obtenidos deduciendo la influencia de la temperatura en los datos observados, ya sólo se pone de manifiesto el ciclo estacional, desvirtuándose el semianual. No obstante, en la fig. 3 puede verse como incluso en los valores residuales se muestra la tendencia semianual, pero un mínimo en el invierno de 1970-71, debido a abundantes precipitaciones provoca que al contabilizar los datos por un proceso matemático no se contabilice como un solo ciclo sino desdoblado, lo que automáticamente dobla la frecuencia que atribuye a este armónico.

### CONCLUSIONES

Así pues, en condiciones de clima mediterráneo y en suelo desnudo las variaciones de las concentraciones de nitrógeno en el suelo deben ajustarse a una función en la cual se distinguen cuatro armónicos principales: un primer armónico de período anual debido a las variaciones de la temperatura, un segundo armónico semianual debido a la distribución característica de las precipitaciones en el clima mediterráneo, un tercer armónico de frecuencia estacional también presente en el régimen de precipitaciones durante el ensayo, y, por último, cabe señalar un cuarto armónico de período más corto que los anteriores, del orden de las cinco semanas, debido a variaciones del mismo tipo en la distribución de las precipitaciones y para cuya explicación es posible que deba recurrirse a un origen de orden telúrico.

En los estudios realizados por Libois en suelo desnudo y clima semi-continental (región de Dijon, Francia) se pone de manifiesto un desfase similar entre nitrógeno y temperatura, aunque la distribución de las lluvias de verano pueden desdoblar o modificar la situación de este máximo de nitrógeno mineral de verano.

Cabe destacar también que no se observan en nuestro ensayo variaciones importantes de período corto no relacionables con los factores ambientales que indiquen fenómenos de reorganización, corroborando en este sentido los resultados de Libois (1968) y las hipótesis de Kolenbrander (1968).

De un modo general este experimento ha puesto de manifiesto, con un sistema de muestreo sistemático de frecuencia semanal, que las variaciones cronológicas que los procesos de mineralización del nitrógeno en suelos desnudos dependen casi exclusivamente de los factores ambientales (temperatura, pluviosidad y humedad del suelo), justificando estos factores la totalidad de las variaciones si se descuenta la alta

variabilidad espacial que presenta la distribución del  $N-NO_3^-$  en el suelo.

Estas variaciones pueden sintetizarse en una función resultante de la composición de tres armónicos principales, relacionados el primero con la distribución anual de las temperaturas, el segundo con la distribución estacional de las precipitaciones en clima mediterráneo y en el tercero con una variación, de período próximo a las cinco semanas, que muestran las precipitaciones y cuyo origen no ha podido establecerse.

#### A P É N D I C E

El análisis de las componentes armónicas se ha realizado a partir del espectro potencial de frecuencias, mediante la transformada coseno de la función de autocovarianza.

$$P(w) = \frac{1}{\pi} \int_{-\infty}^{\infty} R(t) \cos w t dt,$$

en donde  $R(t)$  es la función de autocovarianza de una serie de  $t$  términos, siendo  $w$  las frecuencias angulares de esta serie.

Sin embargo, al desconocer el valor de la función continua  $R(t)$ , conociéndose únicamente  $K$  valores discretos de la misma, se ha tenido que simular la función  $P(w)$  mediante el periodograma de Schuster (Brown, 1963), que permite el cálculo de  $K$  valores discretos del espectro potencial de frecuencias:

$$P(w) = \frac{1}{\pi} (\sigma_x^2 + 2 \sum_{k=1}^k R(K) \cos K w),$$

variando  $w$  entre los valores  $w = 1$  y  $w = 2t$ .

Para eliminar la interferencia de las frecuencias próximas se ha utilizado el sistema de ventana siguiente:

$$P(w) = 0,33 P(w-1) + 0,66 P(w) + 0,33 P(w+1).$$

En los casos en que existía una tendencia de baja frecuencia muy marcada ha sido necesario eliminar previamente ésta para no desvirtuar los períodos de más alta frecuencia. Igualmente ha sido necesario eliminar por filtraje previo las altas frecuencias correspondientes a cortos períodos, probablemente debidos a variaciones al azar, y que no querían analizarse.

## RESUMEN

El ensayo ha consistido en el estudio semanal del contenido en  $N-NO_3^-$  de 16 muestras semanales de suelo (20 cm. superficiales) de cultivo en el llano de Barcelona. Se ha observado que las variaciones cronológicas del contenido de nitrógeno, que oscilan entre 1 y 55 ppm., vienen estrechamente controladas por los factores ambientales: temperatura, humedad y precipitaciones. La correlación respecto a la temperatura es directa con un desfase de ocho semanas e inversa respecto a las precipitaciones. Se obtiene un modelo de variación cronológica armónica con una componente anual (temperatura), una componente estacional (precipitaciones en régimen mediterráneo) y una componente de aproximadamente cinco semanas, también reflejada en el régimen de precipitaciones.

*Departamento de Fisiología Vegetal.  
Facultad de Ciencias. Universidad de Barcelona.*

## BIBLIOGRAFÍA

- DIAMOND, W. E. DE B. (1937). Fluctuation in the nitrogen content of some Nigerian soils. I. Fluctuations of nitric nitrogen. *Empire J. Exp. Agr.*, 5, 264-280.
- GRIFFITH, G. ap. (1951). Factore influencing nitrate acumulation in Uganda soil. *Empire J. Exp. Agr.*, 19, 1-12.
- HAGENZIEKER, F. (1965). Soil Nitrogen studies at Urambo, Tanganyka Territory, East Africa. *Pl. Soil*, 9, 97-113.
- HEBERT, J. (1960). Evolution hebdomadaire de l'azote minéral en sol nu et sous culture pendant deux années, dans le nord de la France. *Trans. 7 th. int. Congr. Soil Sci.*, 2, 82-90.
- HEBERT, J., KOTTELANNE, E., LEFEVRE, G. et al. (1965). Observations de la mineralisation de l'azote en sol nu. *C. R. Acad. Agric.*, 51, 852-858.
- JACKSON, M. L. (1958). Soil Chemical analysis. Prentice-Hall Inc. Englewood Cliffs N. J., 438.
- KOLENBRANDER, G. J. (1968). Size and nature of the variability of the mineral nitrogen content in soil. *Stikstof*, 12, 125-130.
- LEFEVRE, G. y DROUINEAU, G. (1951). Variations saisonnières de la teneur en azote minéral dans un sol calcaire soumis au climat mediterranéen. *Ann. Agron.*, 2, 1-11.
- LIPOIS, A. (1968). Dinamique de l'azote minéral dans un sol nu. *Ann. Agron.*, 19, 103-128.
- MAASZ, G. (1961). Untersuchungen über den Einfluss von Ammoniak, und Nitratdünger auf den Gehalt an mineralischen Stickstoff in Boden. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenk.*, 98, 26-38.

Recibido para publicación: 18-IX-74



# COMPOSICION DE LAS AGUAS DE PERCOLACION DE UNA INSTALACION LISIMETRICA EN BARCELONA

## I. LISIMETROS SIN COSECHA (1)

por

ESTHER SIMON MARTINEZ

### SUMMARY

#### CHEMICAL COMPOSITION OF DRAINAGE WATERS FROM LYSIMETERS IN BARCELONA. I. LYSIMETERS IN A BARE SOIL

The chemical composition of leached waters in a lysimetric station in the coastal plain near Barcelona (Spain) are studied during two years.

The model of  $N-NO_3^-$  leached following an exhaustion pattern and the temperature influence on Nitrogen mineralization are calculated. The results also show a positive correlation between  $N-NO_3^-$  and cations  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$  and  $Mg^{++}$ .

Desde 1967 y dentro de la línea de trabajo del Departamento de Fisiología Vegetal de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Barcelona, el autor viene estudiando la dinámica de la mineralización del nitrógeno en suelos de cultivo y las variaciones cronológicas que presenta la concentración de este elemento, tanto en el suelo como en la planta. Para ello se dispuso de una instalación lisimétrica, ubicada en una plantación de *Lolium perenne* en el llano de Barcelona, y durante más de cinco años se realizaron varias veces por semana análisis del contenido en nitrógeno y cationes ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$  y  $Mg^{++}$ ) de las aguas recogidas en los lisímetros. El presente trabajo no es más que una breve reseña de la composición de estas aguas, analizando las relaciones de los distintos elementos entre sí y sus procesos de agotamiento.

Por necesidades de publicación el trabajo se ha subdividido en dos

---

(1) La segunda parte de este trabajo, «Composición de las aguas de percolación de una instalación lisimétrica en Barcelona. II. Lisímetros con plantación de *Lolium perenne*», se publica en este mismo número de la revista.

partes. Una primera parte en la que se presenta una breve revisión bibliográfica de los principales trabajos realizados en instalaciones lisimétricas destinados a la valoración de las pérdidas de nutrientes en el suelo, exponiendo a continuación las características de la instalación lisimétrica y condiciones de trabajo utilizadas en Barcelona. Se termina estudiando los resultados obtenidos con un lisímetro colocado en un suelo sin cultivar para que sirva de comparación a los resultados obtenidos en los lisímetros en suelo cultivado.

En la segunda parte se exponen los resultados de tres lisímetros ubicados en una plantación de *Lolium perenne*, de la que se ha estudiado el crecimiento vegetativo y el contenido en nitrógeno en las plantas cosechadas periódicamente.

### INTRODUCCIÓN

El empleo de lisímetros constituye el método más apto de medida directa del lavado de nutrientes y con tal fin ha sido ampliamente usado hasta la fecha. No obstante, presenta ciertas limitaciones derivadas ante todo de la alteración que supone en las condiciones naturales del suelo. Konkhe (1940) efectúa un estudio detallado de los procedimientos lisimétricos discutiendo estas limitaciones y el valor de sus resultados.

La utilización de lisímetros puede dar lugar a una modificación de las características físicas del suelo, originando cambios en la permeabilidad del mismo que pueden producir, en ocasiones, un incremento de los procesos de mineralización, tardándose un cierto período de tiempo en recuperar los niveles primitivos. Por otra parte, el suelo del lisímetro suele estar sometido a un régimen de humedad distinto del suelo en condiciones naturales, detectándose a menudo regímenes de humedad más elevados con el consiguiente riesgo de anaerobiosis y desnitrificación. Al mismo tiempo, en lisímetros poco profundos las pérdidas de nutrientes pueden resultar aumentadas al impedirse el posible movimiento ascensional de los mismos.

Todo ello conduce a que los datos obtenidos en el lisímetro presenten un margen de error al referirse a condiciones naturales y comporten ciertos riesgos al juzgar la magnitud de las pérdidas por lavado. No obstante, constituye el único procedimiento de medida directa de estas pérdidas en el subsuelo y el hecho de utilizarse en ensayos de larga duración minimiza en parte sus limitaciones. Por otra parte, en los últimos años diversos autores norteamericanos han descrito modalidades lisimétricas, de pequeña o gran capacidad, que intentan paliar estos inconvenientes (Cole, 1958, 1961; Black, 1968; Jordan, 1968; Schendel, 1969; Paricezt et al., 1960; Duke et al., 1970, y Grover et al., 1970).

Una de las primeras instalaciones lisimétricas fue la de Rothamsted, construida a fines del pasado siglo, en la que se investigaron las pér-



didas medias de nitratos durante treinta y ocho años, en suelo desnudo y sin fertilización, estimando unos valores medios de 24 kg/ha. en invierno y 9 kg/ha. en verano (Russell y Richards, 1920).

Bastisse (1951, 1953) estudia el problema en la región de Versailles en suelo desnudo y con diversos tipos de cosecha. Bizzell y Lyon (1928) comparan en Cornell las pérdidas en suelo desnudo, con diversos cultivos (avena, maíz, trigo, etc.) y bajo cobertura herbácea continua, hallando que las pérdidas en régimen de cultivo son del orden del 10 por 100 de las halladas en suelo desnudo.

Kolenbrander (1969) efectúa un estudio recopilativo de los trabajos de este tipo realizados en Holanda, viéndose precisado, por la escasez de datos disponibles, a incluir también ensayos de otras latitudes para obtener unas conclusiones de orden general comparando suelos sometidos a cultivo y suelos de pradera.

Detecta una gran variación por diferencias en la textura del suelo y tipo de fertilización, situando el valor medio de las pérdidas anuales de nitrógeno alrededor de los 40 kg/ha. En suelos con un 30 por 100 o más de arcilla este valor es muy pequeño ya a una profundidad de 100-125 cms.

Estos ensayos descritos se han realizado en condiciones climáticas distintas de las nuestras, faltando experimentos de este tipo en nuestras propias regiones. Recientemente, Guitián Ojea, F., Rodríguez Seoane, P. y Díaz Fierros Vigueira, F. (1971) estudian las aguas de percolación de una instalación lisimétrica en Santiago de Compostela durante veintiséis semanas. Hallan que el nitrógeno separado por lavado es proporcional al que permanece en el suelo, ajustándose a una onda cuya concentración máxima se sitúa en invierno para casi anularse en febrero con el inicio del crecimiento vegetativo.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Las tomas de muestra de las aguas de percolación se han realizado mediante una instalación lisimétrica ubicada en los Campos Experimentales de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Barcelona, sitios en la plataforma del llano alto de Barcelona.

##### a) *Características del suelo*

El suelo en el que se han ubicado los lisímetros, y que ocupa homogéneamente toda la extensión de los Campos Experimentales, es un suelo antiguo tipo aridisol muy modificado por las condiciones de cultivo, cuyas características principales han sido descritas en una publicación anterior (Simón, 1970).

### b) *Características climáticas*

El clima de Barcelona es de tipo mediterráneo, caracterizado por veranos calurosos (media de julio 24° C) e inviernos suaves (media de enero 9° C), en el que son poco frecuentes las heladas, con lluvias escasas, 630 mm. anuales repartidos preferentemente entre primavera y otoño. Las oscilaciones térmicas totales son, sin embargo, bastante acusadas (máxima de las medias 28° C, mínima de las medias 6° C), mientras que las oscilaciones diarias son escasas, girando alrededor de los 7° C. Como característica importante debe destacarse la irregularidad de las precipitaciones, el carácter chubascoso que presentan, sobre todo en verano y otoño, reflejado esto por el escaso número de días de lluvia de cada año (cien días al año por término medio).

Como consecuencia de estos parámetros meteorológicos el clima resultante es seco, presentando un déficit de humedad durante cinco meses al año, con un potencial evapotranspiratorio según Thornthwaite, de 847,6 l/m<sup>2</sup>, que representan un déficit hídrico anual de 217 l/m<sup>2</sup>.

### c) *Instalación lisimétrica*

Los lisímetros utilizados consisten en cajas construidas en acero inoxidable, de 80 × 80 cm. de base, 50 cm. de altura mínima y 63 cm. de altura máxima. El fondo de las mismas se halla inclinado y acanalado para facilitar el avenamiento hacia el conducto de salida (Simón, 1970, figura 1).

Se colocó un lisímetro antes de la siembra en las parcelas plantadas en 1966, y otros dos en las plantadas en 1969. Junto a estos dos últimos se instaló otra caja lisimétrica idéntica a las anteriores en un pasadizo no cultivado.

### d) *Características de las muestras*

En las condiciones climatológicas y de regadío en que se ha realizado el experimento, cada uno de estos lisímetros de 0,32 m<sup>3</sup> de capacidad permite extraer dos o tres veces por semana cantidades de agua que oscilan entre uno y diez litros, siendo por lo general superior a los diez litros la cantidad semanal de agua recogida.

Las muestras de agua recogidas se analizaron en cuanto a su contenido en N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, salinidad, pH, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> y Mg<sup>++</sup>, según la metodología descrita anteriormente (Simón, 1970).

Dichas muestras presentan una concentración media de nitrógeno nítrico del orden de los 50 ppm, pudiendo oscilar los valores extremos

entre 0 y 150 ppm. La concentración de nitrógeno amoniacal se mantiene prácticamente constante alrededor de 1 a 2 ppm. Los valores de  $K^+$  oscilan entre 10 y 80 ppm, los de  $Na^+$  entre 200 y 700 ppm, los de  $Mg^{++}$  entre 20 y 70, pero los de  $Ca^{++}$  muestran un progresivo agotamiento, variando en cuatro años desde cerca de 1.000 ppm a 150 ppm. La salinidad de las muestras oscila alrededor de 1 a 3 mmhos y el pH ligeramente básico varía entre 7 y 8,5, aunque en el primer año del ensayo la salinidad alcanzó valores más elevados, de hasta 6 mmhos.

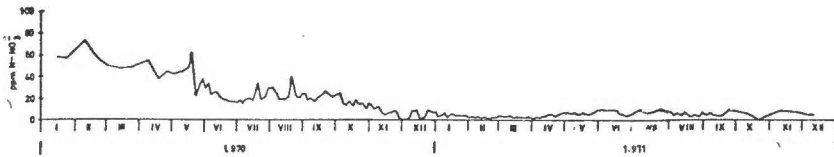


Fig. 1.—Variaciones de la concentración de  $N-NO_3^-$  en las aguas de percolación del lisímetro sin cosecha durante los años 1970 y 1971.

#### DESCRIPCIÓN DE LOS RESULTADOS

La recogida de muestras se efectuó durante los años 1970 y 1971.

Como puede observarse en la figura 1, la distribución de las concentraciones de  $N-NO_3^-$  a lo largo del experimento muestran un claro proceso de agotamiento y tendencia a un equilibrio, del mismo orden del que se observaban lisímetros instalados en condiciones controladas (Simón, 1973).

En la figura 1 puede apreciarse con claridad que las concentraciones de  $N-NO_3^-$  decrecen progresivamente desde los valores de 70-80 ppm hallados en los primeros meses hasta valores oscilantes entre 5 y 10 ppm en el segundo año del ensayo, en el cual la concentración media de  $N-NO_3^-$  es de 7 ppm.

A esta tendencia general de agotamiento se superpone un incremento sensible del  $N-NO_3^-$  en los meses de verano relacionado con el aumento de la temperatura, el cual da lugar a una amplia onda que abarca los meses de julio, agosto y septiembre en 1970, iniciando un suave descenso en octubre de este año hasta casi alcanzar concentraciones nulas en diciembre de 1970 y enero y febrero de 1971. A partir de abril-mayo se inicia de nuevo la recuperación de  $N-NO_3^-$  en las aguas de percolación, describiendo una onda de gran período y escasa amplitud durante los meses de verano y principios de otoño.

La evolución del  $N-NO_3^-$  en estas aguas de percolación sigue un proceso marcadamente distinto del de las aguas percoladas en los lisímetros plantados con *Lolium perenne*, faltando las variaciones bruscas y las altas concentraciones que presentan el nitrógeno nítrico en estas últimas y que deben atribuirse a la acción de la cosecha y el fertilizante.

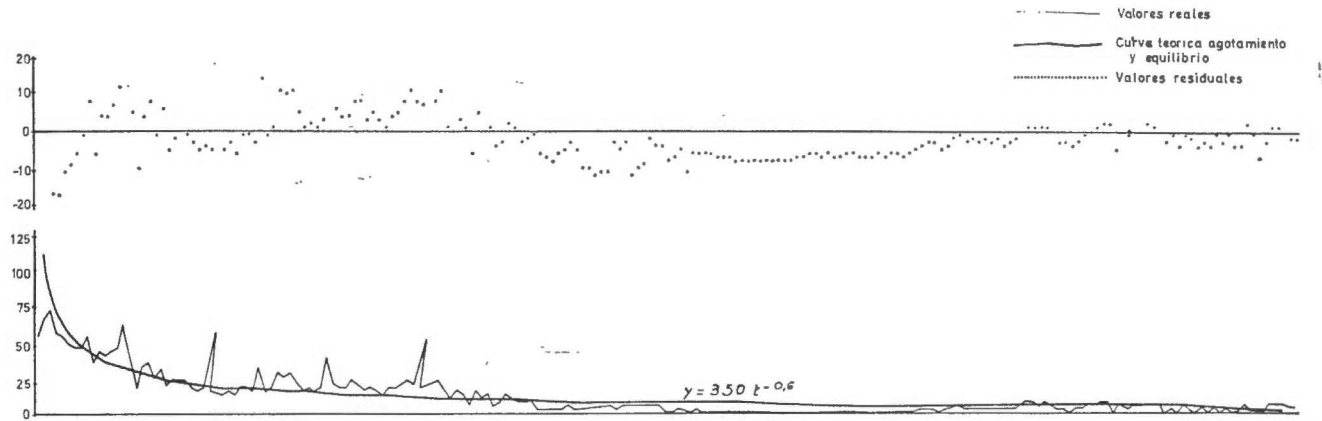


Fig. 2.—(abajo) Comparación entre los valores reales de la variación de la concentración de  $N-NO_3^-$  en las aguas de percolación del lisímetro sin cosecha y los valores teóricos deducidos de la expresión 1. (arriba) Valores residuales de la comparación de las dos curvas anteriores,

La concentración del nitrógeno nítrico en las aguas de percolación se ajusta a un modelo de claro agotamiento (fig. 2), que en las condiciones del experimento viene definido por la expresión:

$$C = 350 t^{-0.6} \quad (1),$$

en donde  $C$  es la concentración de  $N\text{-NO}_3^-$  expresada en ppm y  $t$  el tiempo expresado en días.

Los valores residuales, resultantes de restar de los valores reales los teóricamente calculados a partir de la expresión (1), muestran una neta correlación positiva con los valores de temperatura del suelo a 5 cm. de profundidad defasada unos cuarenta días como puede verse en la figura 3.

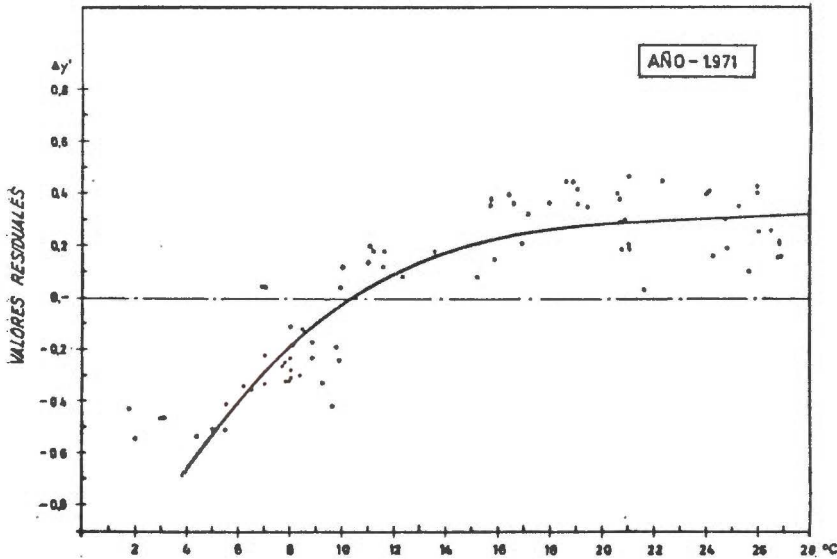


Fig. 3.—Correlación entre los valores residuales de la figura 2 y la temperatura del suelo, a 5 cm. de profundidad, cuarenta días antes de la toma de muestra.

La tabla I pone de manifiesto las pérdidas de nutrientes por lavado evaluadas a partir de la composición de las aguas de percolación durante los años 1970-71. Las pérdidas correspondientes a los cationes en 1971 se han evaluado en parte por interpolación, ya que se interrumpió su determinación durante algunas semanas de este año.

En líneas generales la magnitud de las pérdidas de nutrientes es superior en el segundo año, salvo en el caso del nitrógeno nítrico, debido al mayor volumen de agua percolada en dicho período. Respecto al  $N\text{-NO}_3^-$  la cantidad perdida por lavado es muy superior en el primer

año, lo que puede explicarse por el hecho de que en dicho período se produce un lavado de las reservas existentes en el suelo, dando lugar al progresivo agotamiento de las mismas, mientras en 1971 se ha estabilizado el sistema lavándose sólo el nitrógeno de reciente mineralización.

TABLA I

*Pérdidas de nutrientes en las aguas de percolación del lisímetro B<sub>4</sub>*

Año	Volumen l/m <sup>2</sup>	N-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
1970	1.304	289,43	4.467	190,5	3.327	632,6 Kg/ha.
		18,52	286	12,2	213	40,5 gr.
1971	1.954	109,8	5.831,5	375,66	4.312	1.236 Kg/ha.
		7,03	373,34	24,05	276,42	79,13 gr.

TABLA II

*Concentraciones medias anuales de nutrientes en las aguas de percolación del lisímetro B<sub>4</sub>*

Año	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
1970	0,90	14,03	0,60	10,46	1,98 gr/100 l
1971	0,22	12,22	0,78	9,04	2,58 gr/100 l

El Na<sup>+</sup> y Ca<sup>++</sup> recuperado en las aguas de percolación en el segundo año es evidentemente superior al recuperado en el primero, si bien no alcanza la cifra que le correspondería por el número de litros percolados, si se mantuviesen las condiciones de lavado del año anterior (428 gr. para el Na<sup>+</sup> y 319 para el Ca<sup>++</sup>).

K<sup>+</sup> y Mg<sup>++</sup> en cambio superan las previsiones del lavado que eran de esperar según los datos de 1970 (18,4 para el K<sup>+</sup> y 59 gr. para el Mg<sup>++</sup>).

La variación de la magnitud del lavado en los dos años del ensayo se pone en evidencia en la tabla II, que muestra las concentraciones medias anuales en gramos por 100 l. de agua percolada.

De dichos datos se deduce:

La intensidad del lavado de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> decrece en el segundo año como corresponde al proceso de agotamiento y equilibrio que presenta el N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en estas condiciones de experimentación.

Las concentraciones medias de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  perdidos por lavado descienden también en el segundo año del ensayo, lo que indicaría una disminución progresiva en la liberación de estos cationes.

Las concentraciones medias de  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{++}$ , por el contrario, incrementan ligeramente con el tiempo de duración del ensayo, hecho que podía interpretarse como una tendencia a restablecer el equilibrio compensando el déficit de los otros cationes mayoritarios  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$ .

Se han estudiado las correlaciones entre el  $\text{N-NO}_3^-$  y los cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$  (tabla III).

TABLA III

*Correlaciones en las aguas de percolación del lisímetro B<sub>4</sub>*

	Volumen	pH	Salinidad	$\text{NO}_3^-$	$\text{Na}^+$	$\text{K}^+$	$\text{Ca}^{++}$	$\text{Mg}^{++}$
Volumen	1	-0,220	0,025	-0,169	-0,023	0,136	0,047	0,069
pH		1	-0,208	0,096	-0,257	-0,073	-0,215	0,153
Salinidad			1	0,392	0,861	0,455	0,927	0,548
$\text{NO}_3^-$				1	0,117	0,294	0,502	0,246
$\text{Na}^+$					1	0,435	0,760	0,493
$\text{K}^+$						1	0,447	0,373
$\text{Ca}^{++}$							1	0,508
$\text{Mg}^{++}$								1

Las correlaciones son positivas y altamente significativas entre el anión  $\text{NO}_3^-$  y los cationes entre sí, y con la salinidad. Por el contrario, son negativas las de los cationes respecto al pH y la de éste respecto al volumen de agua percolada.

Contrariamente a lo que cabría esperar no es significativa la correlación de los distintos iones respecto al volumen de agua percolada, lo cual parece indicar que a pesar de la fuerte correlación que se observa en condiciones de temperatura y humedad constantes (Simón, 1973) entre la concentración de  $\text{N-NO}_3^-$  y el volumen de agua percolada el grado de influencia del volumen de agua percolada respecto a la concentración de los iones no es suficientemente grande como para quedar reflejada cuando la variación del resto de los factores es muy importante, como ocurre en el ensayo realizado en condiciones naturales, aunque se manifieste al efectuar la correlación con los datos suavizados (con 120 grados de libertad, coeficiente de correlación 0,261, significación del 99 por 100).

Dada la similitud entre estas correlaciones y las halladas en los lisímetros con cosecha (lisímetros A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>) se discutirá más detalladamente la significación de las mismas, en el apartado correspondiente a tales lisímetros con cosecha (1).

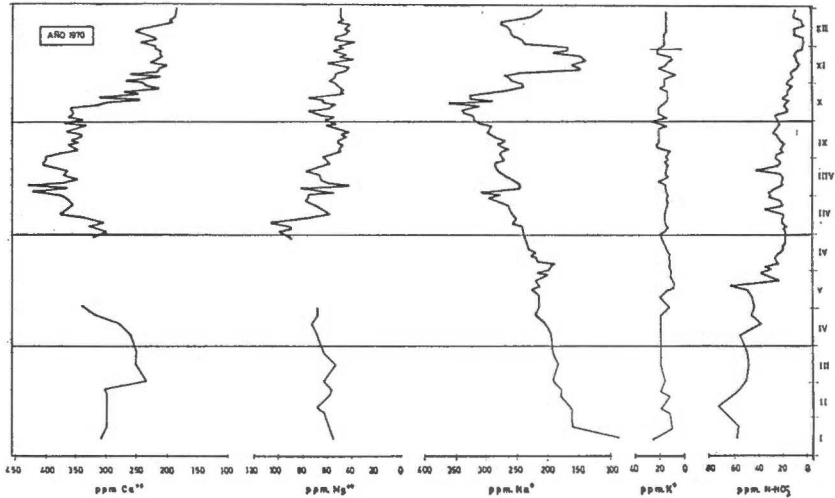


Fig. 4.—Variaciones de las concentraciones de  $N-NO_3^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$  y  $Mg^{++}$  en las aguas de percolación del lisímetro sin cosecha durante los años 1970 y 1971.

### CONCLUSIONES

La concentración de  $N-NO_3^-$  en las aguas de percolación experimental a lo largo de los dos años que dura el experimento un claro proceso de agotamiento, descendiendo desde unos 70-80 ppm al principio hasta concentraciones de 5 a 10 ppm durante el segundo año.

Dada la solubilidad de los compuestos nitrogenados y la velocidad de lavado de los mismos puesta en evidencia en ensayos utilizando abonos marcados con  $N^{15}$  (Simón, 1973), este proceso debe explicarse por el natural agotamiento de las reservas de nitrógeno mineralizable del suelo.

Las concentraciones de  $N-NO_3^-$  en las aguas de percolación presentan una fuerte desviación cíclica respecto los valores teóricos de la función de agotamiento calculada. Pero a su vez estas desviaciones presentan una fuerte correlación positiva con la temperatura del suelo de unos cuarenta días antes de la toma de muestra.

El modelo completo del lavado del  $N-NO_3^-$  en suelo sin cultivar y

(1) Ver Simón, 1975. Composición de las aguas de percolación de una instalación lisimétrica en Barcelona. II. Lisímetros con plantación de *Lolium perenne*. Ann. de Edafología y Agrobio., en este mismo número de la revista.



en sistema de cajas lisimétricas puede explicarse totalmente por un simple proceso de agotamiento de las reservas de nitrógeno mineralizable y una función de la temperatura que influye con unos cuarenta días de defasaje.

Las concentraciones de  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  decrecen a lo largo del experimento, mostrando fuertes concentraciones al principio que pueden ser debidas al lavado de sales existentes en el suelo, tendiendo posteriormente a ajustarse más a un modelo de agotamiento de las reservas. Por el contrario, las concentraciones de  $\text{K}^+$  y  $\text{Mg}^{++}$  tienden a aumentar durante el segundo año del experimento.

#### RESUMEN

Se estudia durante dos años la composición química de las aguas de percolación de un lisímetro ubicado en un suelo sin cultivar del llano de Barcelona. Ha podido calcularse el proceso de agotamiento por lavado del nitrógeno mineralizable, así como la influencia de la temperatura en los procesos de mineralización de dicho elemento.

También ha podido observarse una fuerte correlación positiva entre las concentraciones de  $\text{N-NO}_3^-$  y los cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$ .

*Departamento de Fisiología Vegetal. Facultad de Ciencias.  
Universidad de Barcelona.*

#### BIBLIOGRAFÍA

- BASTISSE, E. M. (1953). Dix-huit années d'études lysimétriques appliquées à l'agronomie. *Ann. Agron.*, 4, 519-560.
- BASTISSE, E. M. y HENIN, S. (1954). Dix-huit années d'études lysimétriques appliquées à l'agronomie. *Ann. Agron.*, 4, 203.
- BIZZELL, J. A. y LYON, T. L. (1928). Composition of drainage waters from lysimeters at Cornell University. *Proc. and Papers of First Intern. Cong. Soil Sci. Coom.* II, 342-349.
- BLACK, T. A., THURTELL, G. M. y TANNER, C. R. (1968). Hidraulic loadcell lysimeter, construction, calibration and tests. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 32, 623-629.
- COLE, D. W. (1958). Alundum tension lysimeter. *Soil Sci.*, 85, 293-296.
- COLE, D. W., GESSEL, S. P. y HELD, E. E. (1961). Tension lysimeter Studies of ion and moisture movement in glacial till and coral atoll soils. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.*, 25, 321-325.
- DUKE, H. R., KRUSE, E. y HUTCHINSON, G. L. (1940). An automatic vacuum lysimeter for monitoring percolation rates, U. S. Dep. Agric. agric. Res. Serv., 41-165, 12.
- GROVER, B. L. y LAMBOURN, R. E. (1970). Preparation of porous ceramic cups to be used for extraction of soil water having low solute concentrations. *Proc. Soil Sci. Am.*, 34, 606-708.
- GUTIÁN OJEA, F., RODRÍGUEZ SEOANE, P. y DÍAZ-FIERROS VIQUEIRA, F. (1971). Análisis de las aguas de percolación a través del suelo en condiciones controladas. *Anal. Edaf.*, 33, 323-346.
- JORDÁN, C. F. (1968). A simple Tension-Free Lysimeter. *Soil Science*. 105, 81-86.
- KOLENBRANDER, G. J. (1969 a). Nitrate content and nitrogen loss in drainwater. *Neth J. Agric. Sci.*, 17, 246-255.

- KOHNKE, H., DREIBELBIS, F. R. y DAVIDSON, J. M. (1940). A survey and discussion of lysimeters and a bibliography on their construction and performance. U. S. Dep. Agr. Misc. Pub., 372.
- PARIZEK, R. R. y LANE, B. E. (1970). Soil —water sampling using pan and deep pressure— vacuum lysimeters. J. Hydrol., 11, 1-21.
- RUSSELL, E. J. y RICHARDS, E. H. (1920). The washing out of nitrates by drainage water from uncropped and unmanured land. J. Agr. Sci., I, 10, 22-43.
- SCHENDEL, U. (1969). A newly developed groundwater lysimeter for measuring evapotranspiration from different groundwater levels in a small catchment area of the North German, coastal region. Publ. Inst. Ass. scient. Hydrol., 96, 639-645.
- SIMÓN, E. (1970). Variación del nitrógeno mineral en praderas experimentales. P. Inst. Biol. Apl., 49, 333-47.
- SIMÓN, E. (1973). Contribución al estudio de las variaciones cronológicas de nitrógeno mineral en suelos de cultivo. Resumen tesis doctoral. Pub. Univ. Barcelona.

Recibido para publicación: 18-IX-74

# COMPOSICION DE LAS AGUAS DE PERCOLACION DE UNA INSTALACION LISIMETRICA EN BARCELONA

## II. LISIMETROS CON PLANTACION DE *LOLIUM PERENNE*

por

ESTHER SIMON MARTINEZ

### SUMMARY

#### CHEMICAL COMPOSITION OF DRAINAGE WATERS FROM LYSIMETERS IN BARCELONA. II. LYSIMETERS IN A SOIL CULTIVATED WITH *LOLIUM PERENNE*

The chemical composition of leached waters in a lysimetric station cultivated with *Lolium perenne*, near Barcelona (Spain), are studied during five years.

The results show a positive correlation between  $N-NO_3^-$  and cations  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$  and  $Mg^{++}$  and also the vegetative growth and temperature influence on nitrogen mineralization.

El presente trabajo es continuación del publicado en este mismo número de la revista, en el que se exponían las características fundamentales del experimento, los principales resultados obtenidos en anteriores estudios con lisímetros en cuanto a la valoración de la pérdida de nutrientes y composición química de las aguas de percolación, y se analizaba detalladamente la composición de las aguas de percolación de un lisímetro ubicado en una parcela sin cultivo y cuyos resultados se comparan en el presente trabajo con los obtenidos con las aguas de percolación de lisímetros en parcelas cultivadas con *Lolium perenne*.

Las características climáticas del llano de Barcelona acusan durante más de seis meses al año un notable déficit hídrico. Sobre una precipitación media de 630 mm. anuales, repartidos en menos de cien días de lluvia, el potencial evapotranspiratorio, evaluado según Thorthwaite, es de 847,6 mm., lo que representa un déficit anual del orden de 217 mm.

En tales condiciones climáticas ha sido indispensable regar abundantemente las parcelas plantadas con *Lolium perenne* para que éste no se

secara en verano, y presentara un normal desarrollo por lo menos durante tres años, aunque al cuarto año se denoten síntomas de degradación de la plantación. El sistema de riego se ha mantenido ajustado a las necesidades del desarrollo vegetativo durante todo el ensayo, conservando un elevado grado de humedad en la superficie del suelo. El riego se efectúa por aspersión.

Es difícil valorar con exactitud la cantidad de agua suministrada al suelo mediante riego; sin embargo, a partir del déficit teórico calculado y del agua recogida en los lisímetros es posible evaluar, aunque sea sólo muy aproximativamente, el orden de la cuantía del volumen de riego. Este oscila entre los 1.000 y 1.500 l/m<sup>2</sup>, según la temperatura y pluviosidad de cada año.

#### CARACTERÍSTICAS DE LA PLANTACIÓN Y COSECHAS

Las instalaciones lisimétricas (1) se hallan en un terreno dividido en tres cuadros latinos de 9 × 9 parcelas cada uno, plantadas con *Lolium perenne*.

Las parcelas del primer cuadrado fueron sembradas en octubre de 1966 y tienen unas dimensiones de 1 × 2 m. de lado, mientras que las de los dos cuadrados restantes se plantaron en marzo de 1969 y tienen sólo unas dimensiones de 1 × 1 m., de tal forma que en el mismo espacio del primer cuadrado caben doble número de parcelas, doblándose así cada vez la toma de muestra. Dichas plantaciones de *Lolium perenne* se destinan al estudio de los ritmos de período largo o corto en el crecimiento vegetativo.

El conjunto de parcelas experimentales se sometió a régimen constante de abonado durante los años de duración del ensayo. Desde su iniciación hasta marzo de 1968 se aplicó un abonado, a base de nitrato sulfato amónico, superfosfato de cal y potasa, con una relación N:P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>:K<sub>2</sub>O aproximada de 1,25:1:1,1, a dosis de 29,6 gr/m<sup>2</sup> de abono después de cada siega, o sea cada veintiún días. Este abonado representaba un aporte nitrogenado de 527 kg/ha/año.

En marzo de 1967 se dobló la dosis de abonado, ya que la cosecha presentaba síntomas de deficiencia nitrogenada y las aguas de percolación arrojaban valores nulos en nitrógeno mineral. Este incremento de abonado se mantuvo hasta fines de agosto, fecha en que se volvió a la dosis inicial.

A partir de marzo de 1968, con objeto de aumentar la proporción de nitrógeno en el fertilizante se pasó a utilizar una mezcla de nitrato

---

(1) Las cajas lisimétricas se describen detalladamente en Simón (1970) y en la parte I del presente trabajo. Para el estudio con suelos cultivados se utilizaron tres cajas de 0,320 m<sup>3</sup> y 63 cm. de profundidad máxima.

amónico, superfosfato de cal y potasa con una relación 1:0,6:0,6, aplicada a igual dosis cada veintidós días.

Antes de efectuarse la plantación de 1969 se acondicionó uno de los cuadrados latinos con hygomull (urea de formaldehído) hasta una profundidad de 40 cm. y en una proporción aproximada de 5 m<sup>3</sup> por área.

## RESULTADOS OBTENIDOS

### 1. Pérdida de nutrientes

La recogida de las aguas de percolación en condiciones naturales y régimen de cultivo se ha llevado a cabo mediante lisímetros instalados en parcelas plantadas con *Lolium perenne*. Corresponden a los lisímetros denominados A<sub>1</sub> (instalado en 1966 hasta 1971) y B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub> (instalados en 1969 hasta 1971).

Las tablas I, II y III presentan las pérdidas de los distintos elementos estudiados en todos los años del ensayo, así como el volumen de agua percolada en los mismos períodos.

En líneas generales las pérdidas de los diferentes nutrientes incrementan al aumentar los volúmenes de agua percolada, aunque dicho incremento no presenta una proporción rectilínea respecto al aumento de volumen.

Para ilustrar mejor la evolución del proceso de pérdidas por lavado

TABLA I

*Pérdidas de nutrientes en las aguas de percolación del lisímetro A<sub>1</sub>*

Año	Volumen mm.	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
1967	446	208	3.90	2.186	146	3.142	445 Kg/ha
		13.3	0,25	140	9,4	201	28 gr.
1968	880	436	7.65	3 120	474	2 957	409.24 Kg/ha
		27.9	0,49	199.7	30.3	189.3	26.2 gr.
1969	872,96	319	8.12	1 777	646	1.969	335 Kg/ha
		20,4	0,52	113,8	41,3	126,3	21.4 gr.
1970	1.130,78	370	9,84	3 582	787	2 942	496 Kg/ha
		23.6	0.63	229,3	50,4	188,3	31,8 gr.
1971	1.222,34	282	10,62	5 132	914	3 777	1 159 Kg/ha
		18.06	0,68	328,6	58,52	241,8	74,2 gr.

T A B L A I I

*Pérdidas de nutrientes en las aguas de percolación del lisímetro B<sub>1</sub>*

Año	Volumen 1/m <sup>2</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> Kg/Ha	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
1969 (junio a diciembre)	386	60,13	6,42	704,4	116,83	1 069	173,3 Kg/ha
		3,84	0,41	45,1	7,48	68,5	11,1 gr.
1970	781	117,5	12,48	2.721	235	2.304	431 Kg/ha
		7,52	0,79	174,2	15,04	147,5	27,6 gr.
1971	1.581	63,16	25,28	4 657	407,8	3 397	974,5 Kg/ha
		4,04	1,61	298,2	26,9	217,5	62,3 gr.

T A B L A I I I

*Pérdidas de nutrientes en las aguas de percolación del lisímetro B<sub>2</sub>*

Año	Volumen 1/m <sup>2</sup>	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
1969 (junio a diciembre)	779	159	14,87	1 444	340	2 31	393,6 Kg/ha
		10,17	0,95	92,5	21,8	148 14	25,2 gr.
1970	1.300	252,6	24,53	4.657	567	4.098	674 Kg/ha
		16,17	1,57	298,2	36,3	262,4	43,2 gr.
1971	1.494	84,11	28,2	4 194	449	3.354	816 Kg/ha
		5,83	1 80	268,5	28,7	214,7	52,2 gr

de los distintos elementos nutritivos, con el transcurso del tiempo se presentan en las tablas IV, V y VI las variaciones de las concentraciones medias anuales del N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> y Mg<sup>++</sup> en las aguas de percolación de los lisímetros A<sub>1</sub>, B<sub>1</sub> y B<sub>2</sub>, expresadas en gr. por 100 l. de agua percolada. Asimismo, se adicionan los valores correspondientes a la producción de *Lolium perenne* en los distintos años.

En el estudio de tales resultados cabe destacar:

TABLA IV

*Concentraciones medias anuales de nutrientes en las aguas de percolación del lisímetro A<sub>1</sub>*

Año	Producción peso seco gr.	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	en gr./100 l			
				Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
1967	1.014	1,90	0,03	20,18	1,34	28,83	4 01
1968	864	2,02	0,03	14,52	2,20	13,76	1,90
1969	906	1,49	0,03	8,33	3,02	9,25	1,56
1970	594	1,33	0,03	12,90	2,85	10,66	1,79
1971	628	0,94	0,03	17,20	3,05	13,65	3,88

TABLA V

*Concentraciones medias anuales de nutrientes en las aguas de percolación del lisímetro B<sub>1</sub>*

Año	Producción peso seco gr.	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	en gr./100 l			
				Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
1969 (junio a diciembre)	484	0,63	0,06	7,42	1,23	11,35	1,83
1970	826	0,61	0,06	14,27	1,22	12,08	2,25
1971	798	0,16	0,06	12,07	1,08	8, 8	2,52

TABLA VI

*Concentraciones medias anuales de nutrientes en las aguas de percolación del lisímetro B<sub>2</sub>*

Año	Producción peso seco gr.	N-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	N-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	en gr./100 l			
				Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
1969 (junio a diciembre)	470	0 83	0,07	7,59	1,78	12,16	2,06
1970	865	0 79	0,07	14,67	1,78	12,91	2,12
1971	760	0,24	0,07	11,50	1,22	9,19	2,23

*Lisímetro A<sub>1</sub>*

La magnitud de las pérdidas de  $\text{N-NO}_3^-$  por lavado es considerable, oscilando entre 208 y 436 kg/ha., lo que representa de un 39 a un 65 por 100 del nitrógeno suministrado por el fertilizante (527 kg/ha. en 1967 y 670 kg/ha. en los años restantes).

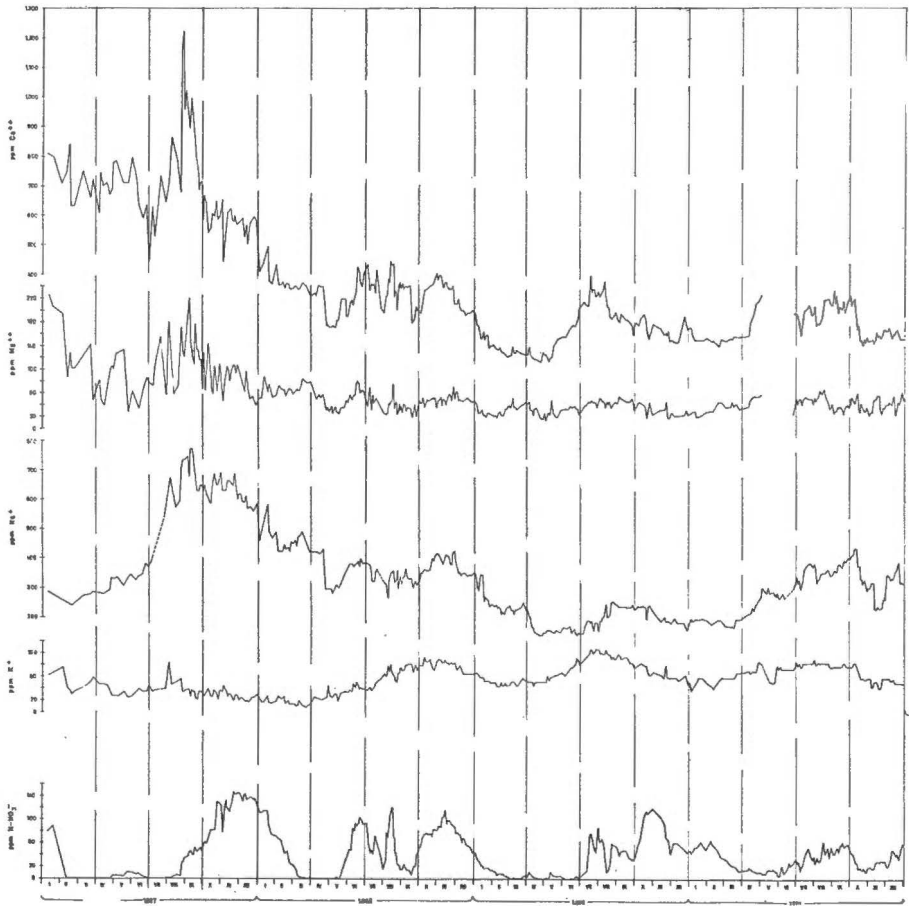


Fig. 1.—Variación de las concentraciones de  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  en el lisímetro  $A_1$  desde 1967 a 1971.

El lavado de nitrógeno nítrico decrece progresivamente durante los cinco años de experimentación en el lisímetro  $A_1$ . Así en 1971 la concentración de este elemento en las aguas de percolación es aproximadamente la mitad que en 1967, lo cual indica un progresivo agotamiento



de las reservas nitrogenadas no compensado por las regulares aplicaciones de fertilizante ni por la paralela disminución de la producción de *Lolium perenne*, que en 1971 recupera tan sólo 24,24 gr. de nitrógeno frente a los 40,42 gr. evaluados para 1967. Esta regular y progresiva disminución del nitrógeno nítrico perdido por lavado sólo se altera en 1968, año en que se superan ligeramente las pérdidas del año ante-

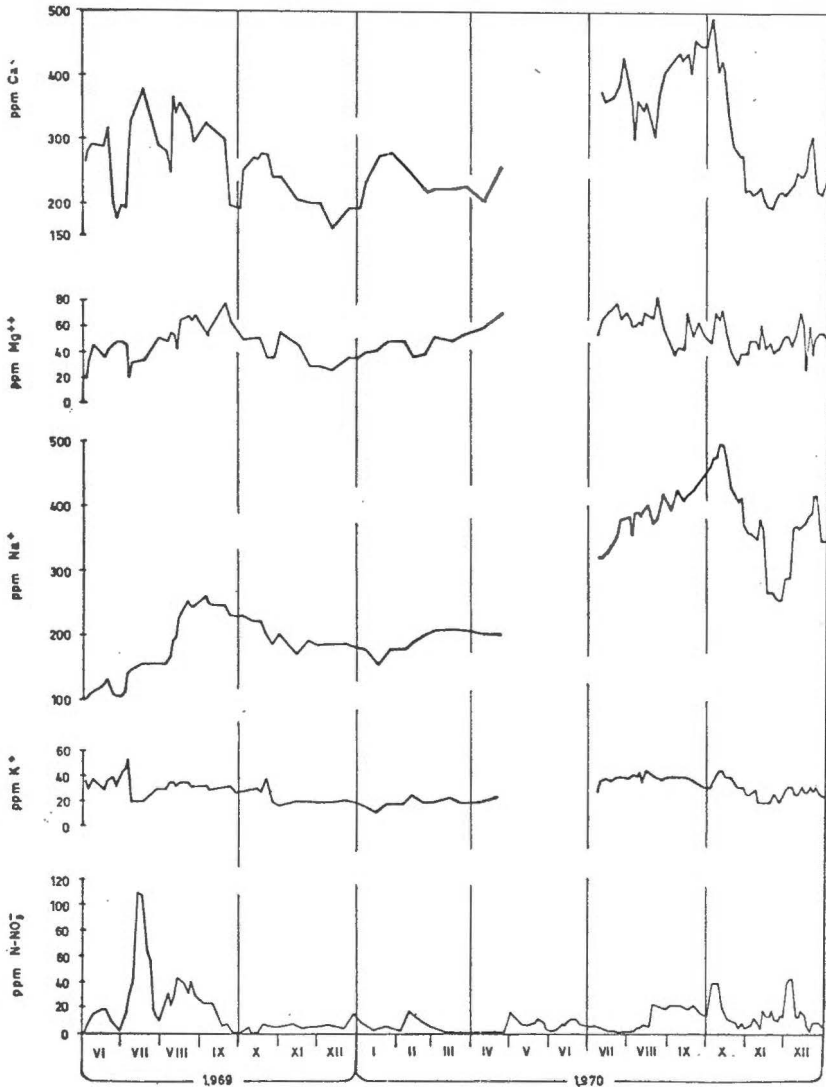


Fig. 2.—Variación de las concentraciones de  $N-NO_3^-$ ,  $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$ ,  $Mg^{++}$  en el lisímetro  $B_1$  desde 1969 a 1971.

rior; este hecho se relaciona con la disminución de la cantidad de nitrógeno extraído por la planta, favoreciéndose las pérdidas por lavado.

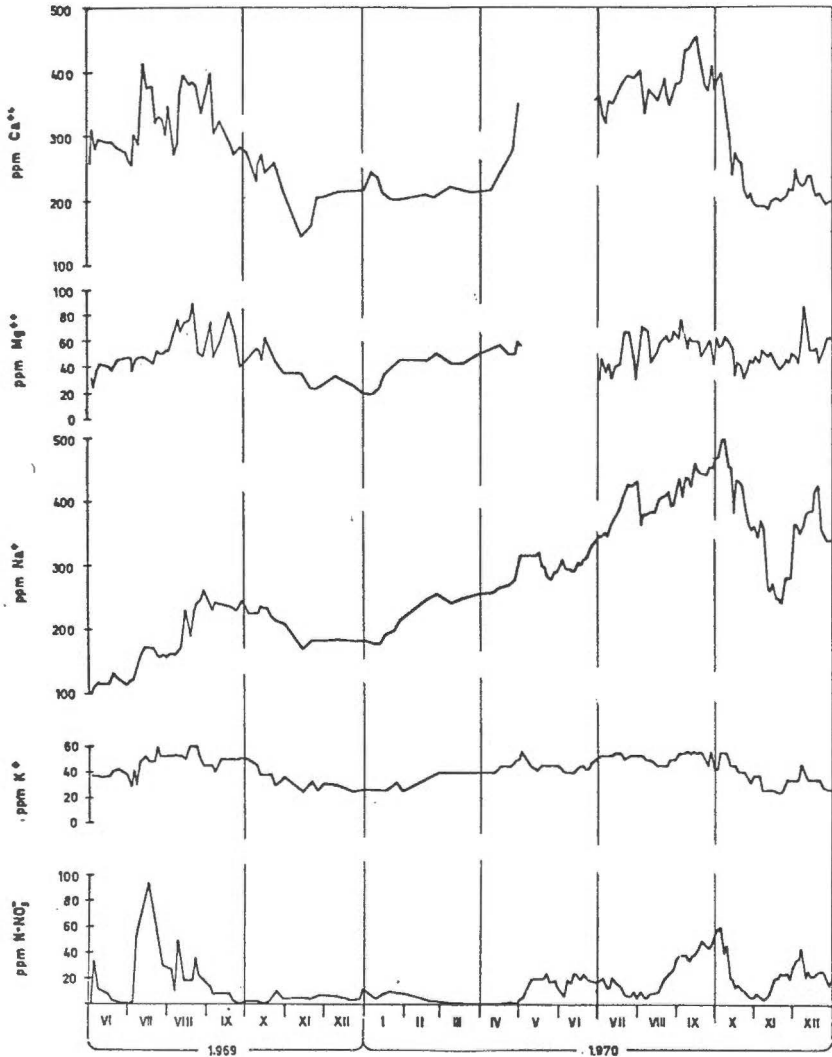


Fig. 3.—Variación de las concentraciones de  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$  en el lisímetro  $\text{B}_2$  desde 1969 a 1971.

Las pérdidas por lavado de  $\text{N-NH}_4^+$ , que oscilan entre 3,9 y 10,6 kg/ha/año, se hallan en íntima correlación con el volumen de agua percolada, manteniendo durante todo el período del ensayo una concentración media anual homogénea, lo que indica un nivel constante de  $\text{N-NH}_4^+$  en la solución libre del suelo.

Los cationes  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  son los que se pierden en mayor grado por lavado. Así el  $\text{Na}^+$  sumaría en los cinco años del ensayo un total de 15.797 kg/ha. y el  $\text{Ca}^{++}$  14.787 kg/ha. frente a los 2.967 kg/ha. de  $\text{K}^+$  y 2.844 kg/ha. del  $\text{Mg}^{++}$ . Los valores de pérdidas de cationes por lavado correspondiente a 1971 han sido en parte interpolados, ya que la determinación de estos iones se interrumpió en este período. El proceso de pérdidas por lavado de los cationes  $\text{Na}^+$  y  $\text{Ca}^{++}$  sigue una evolución totalmente paralela, con una disminución progresiva de la concentración media de estos iones desde el inicio del ensayo hasta 1969.

A partir de 1970, en cambio, aumentan ligeramente las pérdidas de estos elementos coincidiendo también con un incremento sensible en los volúmenes de agua percolada, lo que podría modificar las anteriores condiciones de lavado. Asimismo, en estos dos últimos años disminuye de un modo importante la producción anual de *Lolium perenne*.

Las pérdidas relativas de  $\text{Mg}^{++}$  decrecen en el segundo año del ensayo para casi estabilizarse en años sucesivos. En 1971 se observa un ligero incremento de las mismas que debe considerarse con cautela por la interpolación de datos efectuada en este año.

El régimen de pérdidas de  $\text{K}^+$  sigue un proceso distinto debido al consumo mayoritario de la planta y a las sucesivas aplicaciones de potasio con el fertilizante (405,51 kg/ha/año).

Así pues, las pérdidas relativas de  $\text{K}^+$  incrementan ligeramente a lo largo del ensayo, con la salvedad del año 1970, en el que se prescindió del abono potásico.

Durante todos los años del ensayo, a excepción hecha de 1967, las pérdidas anuales de  $\text{K}^+$  en el lisímetro  $A_1$  son superiores al potasio añadido con el fertilizante (25,95 gr. anuales por lisímetro). La escasez de pérdidas en 1967 debe explicarse por el poco volumen de agua percolada en dicho período. Así en 1967 se pierde sólo un 36 por 100 del potasio añadido, mientras que en 1968 las pérdidas suponen el 116 por 100 del añadido.

En 1969 y 1971, en que el aporte potásico fue menor (13,5 gr. y 23,4 gr. por lisímetro, respectivamente), las pérdidas representan el triple del potasio añadido en 1969 y 2,5 veces el añadido en 1971.

Como puede observarse en la tabla IV la concentración media de potasio incrementa sensiblemente a partir del tercer año de experimentación, manteniéndose después a nivel casi constante, atribuyéndose las variaciones en las pérdidas de potasio a los diversos volúmenes de agua percolada.

#### *Lisímetros $B_1$ y $B_2$*

En líneas generales la evolución de las pérdidas en ambos lisímetros sigue una trayectoria totalmente paralela, como puede observarse en las tablas V y VI.

La magnitud total de las pérdidas de  $N-NO_3^-$  en estos lisímetros se mantiene siempre inferior al lisímetro  $A_1$ , con valores comprendidos entre los 60 y 252 kg/ha/año.

La concentración media anual de  $N-NO_3^-$  se mantiene constante durante los dos primeros años de experimentación, descendiendo muy sensiblemente en 1971, año en que la adición de nitrógeno fue muy inferior en estos lisímetros debido al ensayo con  $N^{15}$  (117 kg/ha.) (Simón, 1975).

El régimen de pérdidas de  $N-NH_4^+$  mantiene la misma constancia que en el lisímetro  $A_1$ .

Las pérdidas de  $Na^+$  y  $Ca^{++}$  se mantienen como en el lisímetro  $A_2$  mayoritarias respecto a los otros cationes.

Las pérdidas de  $Ca^{++}$  descienden marcadamente en el año 1971, en relación posiblemente con el descenso de  $N-NO_3^-$ .

La evolución del  $Mg^{++}$  y el  $Na^+$  incrementa de un modo sensible durante los años del ensayo, en especial en el caso del  $Na^+$ , al igual que en el lisímetro  $A_1$ .

La concentración media anual de potasio disminuye ligeramente en el año 1971.

No obstante, la interpolación de datos efectuada en este último período y la relativa poca duración del ensayo en estos lisímetros limita la significación de tales resultados.

## 2. Composición de las aguas

Asimismo se ha estudiado la posible relación existente entre la concentración de  $N-NO_3^-$  en las aguas de percolación y el volumen de las mismas, así como la que pudiera existir entre el nitrógeno mineral y la salinidad y los diversos iones analizados en dichas aguas (tablas VII, VIII y IX).

Como puede observarse, existe una fuerte correlación positiva entre el nitrógeno nítrico y la salinidad con coeficientes de correlación altamente significativos (0,568 con 171 grados de libertad en el lisímetro  $B_2$ , 0,489 con 124 grados de libertad en el lisímetro  $B_1$  y 0,402 con 414 grados de libertad en el lisímetro  $A_1$ ).

Asimismo existe correlación positiva entre el nitrógeno nítrico y los cationes ( $Na^+$ ,  $K^+$ ,  $Ca^{++}$  y  $Mg^{++}$ ), acusándose sólo una disminución del grado de correlación en el caso del  $Na^+$ . Por otra parte, los cuatro cationes y la salinidad se hallan también positivamente correlacionados entre sí.

El volumen de agua recogida no presenta correlación significativa con ninguno de los iones estudiados y tan sólo manifiesta una correlación positiva, algo dudosa, en el caso volumen/ $Na^+$ .

Los valores de pH en cambio arrojan coeficientes de correlación

TABLA VII

*Correlaciones en las aguas de percolación del lisímetro A<sub>1</sub>*

	Volumen	pH	Salinidad	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
Volumen	1	- 0,331	- 0,125	- 0,091	0,184	- 0,132	0,206	- 0,102	- 0,094
pH		1	0,036	0,045	- 0,247	0,046	- 0,316	0,052	- 0,038
Salinidad			1	0,402	0,367	0,881	- 0,219	0,910	0,717
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>				1	0,005	0,395	0,105	0,233	0,156
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>					1	0,226	- 0,065	0,436	0,338
Na <sup>+</sup>						1	- 0,397	0,718	0,644
K <sup>+</sup>							1	- 0,285	- 0,324
Ca <sup>++</sup>								1	0,728
Mg <sup>++</sup>									1



T A B L A I X

*Correlaciones en las aguas de percolación del lisímetro B<sub>2</sub>*

	Volumen	pH	Salinidad	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	K <sup>+</sup>	Ca <sup>++</sup>	Mg <sup>++</sup>
Volumen	1	- 0,2291	0,0176	- 0,0124	0,0261	- 0,0611	0,0722	0,1028	0,1245
pH		1	- 0,3888	- 0,0519	0,1201	- 0,4559	- 0,0966	- 0,1704	-- 0,3136
Salinidad			1	0,5223	0,2079	0,7247	0,6935	0,7936	0,4877
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>				1	0,3131	0,1928	0,4865	0,5753	0,2321
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>					1	- 0,1502	0,2716	0,3027	0,1638
Na <sup>+</sup>						1	0,2565	0,3362	0,2708
K <sup>+</sup>							1	0,8470	0,3844
Ca <sup>++</sup>								1	0,3781
Mg <sup>++</sup>									1

negativos con la salinidad, el  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$ ; por el contrario no son satisfactoriamente significativas las relaciones  $\text{pH}/\text{K}^+$  y  $\text{pH}/\text{N-NO}_3^-$ .

Las correlaciones del ión amonio son poco significativas debido probablemente a la baja concentración y poco variabilidad que presenta,

#### T A B L A X

*Significación de los coeficientes de correlación de las tablas VII, VIII y IX*

##### *Lisímetro A<sub>1</sub>*

Correlaciones del  $\text{N-NH}_4^+$ .

Grados de libertad 296.

Coefficiente de correlación  $> 0,113$  significación 95 %.

Coefficiente de correlación  $> 0,148$  significación 99 %.

Correlaciones restantes.

Grados de libertad 414.

Coefficiente de correlación  $> 0,098$  significación 95 %.

Coefficiente de correlación  $> 0,128$  significación 99 %.

##### *Lisímetro B<sub>1</sub>*

Correlaciones del  $\text{N-NH}_4^+$ .

Grados de libertad 52.

Coefficiente de correlación  $> 0,273$  significación 95 %.

Coefficiente de correlación  $> 0,354$  significación 99 %.

Correlación volumen/pH, volumen  $\text{N-NO}_3^-$ ,  $\text{pH}/\text{N-NO}_3^-$ .

Grados de libertad 167.

Coefficiente de correlación  $> 0,159$  significación 95 %.

Coefficiente de correlación  $> 0,208$  significación 99 %.

Correlaciones restantes.

Grados de libertad 124.

Coefficiente de correlación  $> 0,174$  significación 95 %.

Coefficiente de correlación  $> 0,228$  significación 99 %.

##### *Lisímetro B<sub>2</sub>*

Correlaciones del  $\text{N-NH}_4^+$ .

Grados de libertad 53.

Coefficiente de correlación  $> 0,273$  significación 95 %.

Coefficiente de correlación  $> 0,354$  significación 99 %.

Correlaciones restantes.

Grados de libertad 171.

Coefficiente de correlación  $> 0,159$  significación 95 %.

Coefficiente de correlación  $> 0,208$  significación 99 %.



aunque de los resultados hallados puede suponerse un sistema de relaciones paralelo al del resto de los iones, con correlaciones positivas entre sí y con la salinidad y negativas con el pH.

Este esquema presenta alguna discrepancia en el caso del lisímetro A<sub>1</sub> instalado en 1966. En este caso, si bien al principio el sistema de relaciones sería el mismo, el K<sup>+</sup> actúa de modo independiente invirtiendo su relación con los otros cationes. Así las correlaciones K/Ca, K/Na, K/Mg y K/salinidad son significativas y negativas, de igual modo que la K/pH, mientras que la correlación volumen/K es positiva y significativa.

La correlación K/N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> presenta un coeficiente de correlación muy bajo, con una significación próxima al 95 por 100 que difícilmente puede aceptarse, ya que invalidaría además las fuertes correlaciones positivas del nitrógeno nítrico con Na<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup> y salinidad.

Ocurre una situación similar en el caso del NH<sub>4</sub><sup>+</sup>/volumen, con un coeficiente de correlación de 0,184 y 292 grados de libertad, correlación muy baja que de ser cierta invalidaría las correlaciones de mayor significación del N-NH<sub>4</sub><sup>+</sup> con el Na<sup>+</sup>, Mg<sup>++</sup> y Ca<sup>++</sup>. No obstante, las relaciones del nitrógeno amoniacal son menos significativas, ya que los datos oscilan entre límites muy reducidos y la influencia inherente al error metodológico podría enmascarar sus relaciones con las otras variables analizadas.

### CONCLUSIONES

La concentración de nitrógeno en las aguas de percolación presenta una fuerte correlación positiva con la salinidad y con la concentración de cationes NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, Ca<sup>++</sup> y Mg<sup>++</sup>, mientras que presenta correlación negativa respecto al pH. Parece independiente respecto al volumen de agua percolada, aunque esta independencia es posible que sólo sea aparente y que la correlación no llegue a aparecer significativa debido a la poca importancia de la variable volumen de agua respecto a la concentración de N-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> comparado con la fuerte influencia que representa el desarrollo de la plantación de *Lolium perenne*.

En el lisímetro A<sub>1</sub>, debido a condiciones particulares del sistema de abonado periódico, la correlación entre el nitrógeno y el potasio es inversa, siendo también inversa la de este catión respecto al resto de cationes y a la salinidad. Todas las correlaciones analizadas respecto al catión amonio son poco significativas debido a la poca variabilidad que presenta a lo largo del tiempo.

A pesar de las fuertes cantidades de nitrógeno añadidas a modo de abono, que representan unos 670 kg/ha/año, la concentración de este elemento en las aguas de percolación presenta un fuerte descenso, de tipo parabólico, del mismo orden del que se encuentra en el lisímetro

sin cultivo ni abonado, y en lisímetros en condiciones controladas (Simón, 1973). Ello pone de manifiesto el agotamiento progresivo de las reservas mineralizables, ya que como puede observarse en el estudio de los balances (Simón, 1973), la cantidad de nitrógeno asimilado por la planta es muy superior a la suministrada por los abonados y se precisan altos niveles de mineralización para asegurar el suministro de nitrógeno a la planta y compensar las pérdidas por lavado.

Por el contrario, en el caso del potasio, con abonado del orden de los 400 kg/ha. se logra una perfecta estabilización del nivel sin que se produzca agotamiento en las reservas del mismo. El resto de los cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$  presentan un fuerte descenso inicial los dos primeros años, seguidos de un cierto aumento en los años siguientes. Tal evolución quizás debe explicarse por un proceso inicial de lavado y preparación para la alteración de los minerales suministradores, los cuales al cabo de un cierto tiempo de hallarse bajo las nuevas condiciones hídricas que supone el régimen de lisímetro y regadío son capaces de liberar mayor cantidad de cationes que en las condiciones propias del régimen natural de clima mediterráneo.

#### RESUMEN

Se estudia durante cinco años la composición química de las aguas de percolación de unos lisímetros ubicados en una plantación de *Lolium perenne* en el llano de Barcelona. Estas aguas muestran una fuerte correlación positiva entre las concentraciones de  $\text{N-NO}_3^-$  y los cationes  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$  y  $\text{Mg}^{++}$ .

Ha podido también ponerse en evidencia la influencia de la temperatura y del crecimiento vegetativo en los procesos de mineralización del nitrógeno, así como el agotamiento de las reservas de nitrógeno mineralizable por lavado.

*Departamento de Fisiología Vegetal, Facultad de Ciencias,  
Universidad de Barcelona.*

#### BIBLIOGRAFÍA

- SIMÓN, E. (1970). Variación del nitrógeno mineral en praderas experimentales. P. Inst. Biol. Apl., 49, 333-47.
- SIMÓN, E. (1973). Contribución al estudio de las variaciones cronológicas de nitrógeno mineral en suelos de cultivo. Tesis doctoral (Resumen). Pub. Univ. Barcelona.
- SIMÓN, E. (1975). Desplazamiento vertical de nitrato marcado con  $\text{N}^{15}$  en el perfil del suelo. Pub. Inst. Biol. Apl., 55. (En prensa.)

Recibido para publicación: 18-IX-74

# CONTRIBUCION AL ESTUDIO DEL METABOLISMO FOSFORICO DE *ASPERGILLUS NIGER*

por

M. PARRA, A. ORTUÑO y J. NOGUERA

## SUMMARY

### CONTRIBUTION TO THE STUDY OF THE *ASPERGILLUS NIGER* PHOSPHORIC METABOLISM

In this paper we are studying the comparative metabolic processes which are present in microbiological systems: *Aspergillus niger* + Czapek soluble phosphorus and *Aspergillus niger* + Czapek insoluble phosphorus.

In micelia of different ages of *A. niger* the following fractions of phosphorus were extracted: Acid soluble phosphorus; Acid insoluble phosphorus; Phospholipids; ARN + ADN + Phosphoproteins; Nucleotides ARN + ADN + Phosphoproteins; Phosphoproteins; Nucleotides of ARN and Nucleotides of ADN. In these fractions the evolutions of the phosphorus in relation to the time of incubation of the microorganism were studied.

This has shown the great phosphoric mobilization power of *A. niger*, as well as the importance of biological fertilizers in agricultural soils.

## INTRODUCCIÓN

Los estudios sobre microorganismos solubilizadores de fosfatos, aislados de la rizosfera (3, 7, 9, 10) han adquirido un significativo interés científico, como coadyuvantes de la nutrición vegetal, abriéndose así el amplio campo de investigación de los fertilizantes microbianos (2, 4, 16, 17, 23).

El fósforo está considerado fisiológicamente como un bioelemento plástico y funcional imprescindible en el crecimiento y desarrollo de las plantas, así como en la formación de los órganos reproductores y maduración de los frutos (19). Se trata de uno de los elementos constituyentes de los ácidos nucleicos y moléculas destinadas a la captación, almacenamiento y transferencia de energía. Las plantas lo absorben en su mayor parte bajo la forma de anión fosfato dihidrógeno o monohidrógeno (1, 16).

El fósforo de los compuestos orgánicos no es utilizable por la acción directa de los vegetales. La participación de los microorganismos en la transformación del fósforo orgánico a fósforo asimilable, se convierte en un fenómeno con características mineralizadoras de los fosfatos orgánicos, fundamentalmente para el aprovechamiento agrícola de los sustratos fosforados. En primer lugar los gérmenes liberan iones fosfatos del complejo orgánico, quedando así un fósforo mineralizado, el cual constituye una forma asimilable para las plantas (4, 17, 20). No todo este fósforo es asimilado, sino que una vez satisfechas las necesidades de los vegetales, el que aún queda en condiciones asimilables no se pierde, pues los microorganismos que antes lo mineralizaron lo acumulan en el interior de sus células, en parte bajo forma mineral (polifosfatos), en parte bajo forma orgánica. Este fósforo inmovilizado transitoriamente en las células microbianas es liberado más tarde en el suelo (por excreción de ortofosfatos o por autólisis de aquellas células), en forma disponible para las plantas (4, 14, 20, 24). Todo este proceso es de capital importancia en la nutrición fosforada de los vegetales (1, 8).

En la presente comunicación se estudia el mecanismo de solubilización del fósforo insoluble por el *Aspergillus niger*, como continuación de trabajos anteriores (16, 17).

## PARTE EXPERIMENTAL

### *Material y métodos*

#### *Sistemas microbioquímicos*

La parte experimental de este trabajo ha sido realizada con los sistemas microbioquímicos siguientes:

1. *Aspergillus niger* + Czapek fósforo soluble.
2. *Aspergillus niger* + Czapek fósforo insoluble.

En ambos sistemas, los períodos de incubación de *A. niger* en frascos de Roux fueron de treinta días.

#### *Técnicas microbiológicas*

Las sistemáticas seguidas en todas las experiencias realizadas han sido descritas en comunicaciones anteriores (15, 16).

*Criterios analíticos*

En micelios de distintas edades de *Aspergillus niger* se han extraído las fracciones de fósforo siguientes: Fósforo soluble; Fósforo insoluble; Fosfolípidos; ARN + ADN + Fosfoproteínas; Nucleótidos de ARN + ADN + Fosfoproteínas; Fosfoproteínas; Nucleótidos de ARN y Nucleótidos de ADN (18, 21, 22). En cada una de estas fracciones se ha determinado la concentración total de fósforo por técnicas adaptadas a nuestras condiciones experimentales (5, 6, 11, 12, 13).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta comunicación se estudian comparativamente los procesos metabólicos relacionados con el fósforo que tienen lugar en los sistemas microbioquímicos:

*Aspergillus niger* + Czapeck fósforo soluble.  
*Aspergillus niger* + Czapeck fósforo insoluble.

Se observa en los sistemas microbioquímicos considerados las grandes necesidades de fósforo para el crecimiento de *Aspergillus niger*, como consecuencia de la intervención decisiva de este bioelemento en los procesos anabólicos y catabólicos del mismo.

Los niveles de fósforo soluble total en los micelios son máximos en los períodos de juventud; decrecen paulatinamente durante la madurez, con mínimos en la senectud del microorganismo ( $P_1$ , figura 1). Por el contrario, los contenidos de fósforo insoluble total se incrementan en relación con la edad del microorganismo y alcanzan los valores máximos en la madurez del mismo ( $P_2$ , figura 1).

Las evoluciones de las restantes fracciones fosfóricas de *A. niger*: Fosfolípidos ( $P_3$ , figura 2); ARN + ADN + Fosfoproteínas ( $P_4$ , figura 2); Nucleótidos de ARN + ADN + Fosfoproteínas ( $P_5$ , figura 3); Fosfoproteínas ( $P_6$ , figura 3); Nucleótidos de ARN ( $P_7$ , figura 4) y Nucleótidos de ADN ( $P_8$ , figura 4), ponen de manifiesto la gran analogía de los sistemas microbioquímicos estudiados en cuanto a la dinámica evolutiva que sigue el fósforo, en relación con el tiempo de incubación del *A. niger*, cuyos niveles experimentan aumentos progresivos con máximos en el período de madurez del mismo.

Las ecuaciones de regresión, coeficientes de correlación y niveles de probabilidad, correspondientes a las evoluciones de fósforo consideradas, se especifican en las tablas I y II.

Es interesante destacar el gran poder de movilización fosfórica de *A. niger*, y como consecuencia la gran importancia que puede tener este microorganismo como fertilizante biológico en los suelos agrícolas.

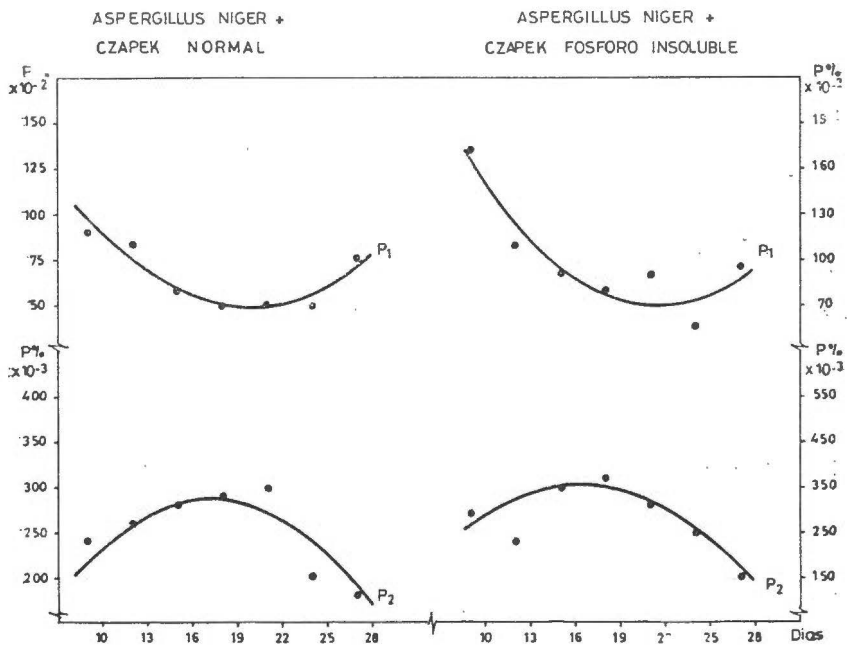


Fig. 1.

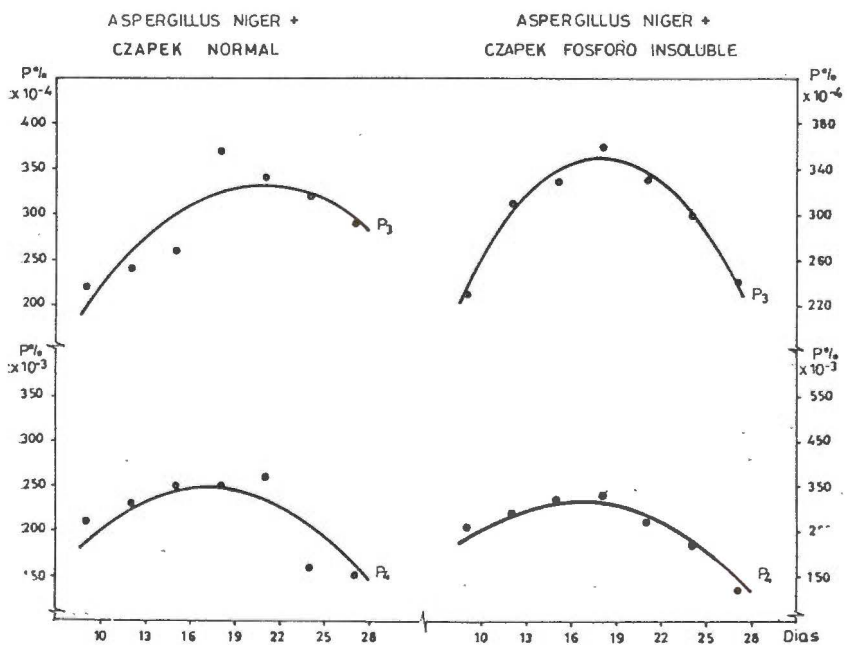


Fig. 2.

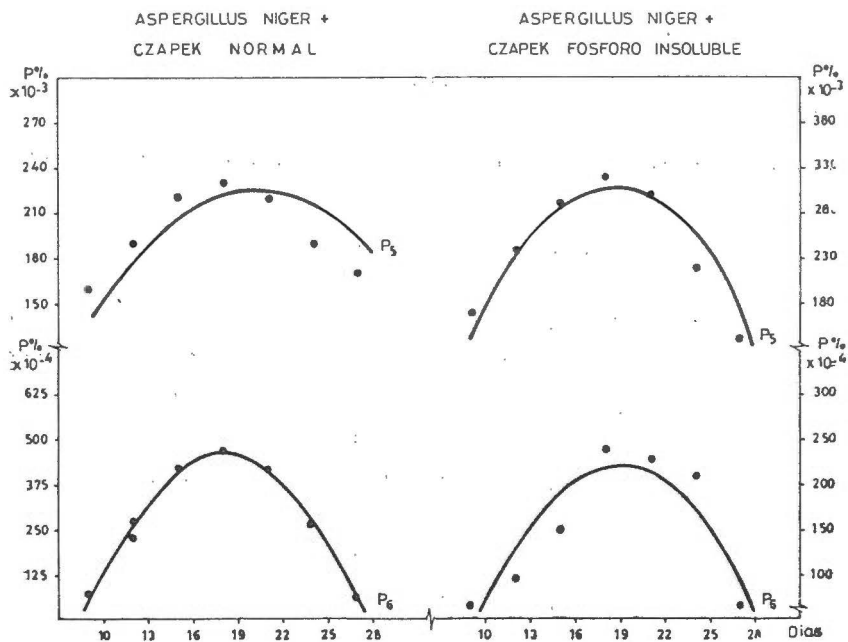


Fig. 3.

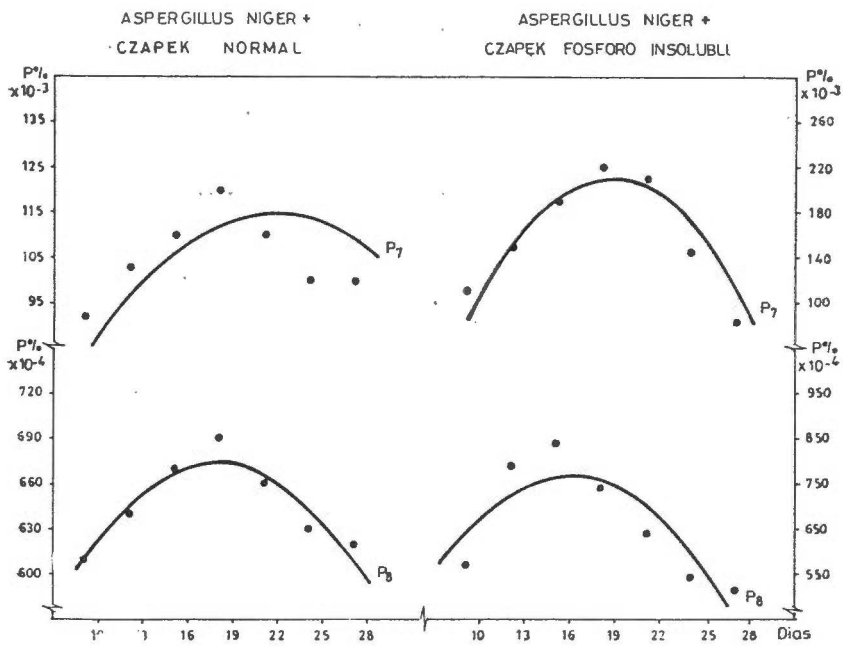


Fig. 4.

TABLA I

*Ecuaciones de regresión, coeficientes de correlación y niveles de probabilidad*

<i>Aspergillus niger + Czapeck normal</i>		
$P_1 = 40,00 \cdot 10^{-4} t^2 - 16,00 \cdot 10^{-2} t + 2,09$	R = 0,949	0,1 %
$P_2 = -10,00 \cdot 10^{-4} t^2 + 34,70 \cdot 10^{-3} t - 14,60 \cdot 10^{-3}$	R = 0,812	0,1 %
$P_3 = -96,56 \cdot 10^{-2} t^2 + 401,19 \cdot 10^{-1} t - 83,10$	R = 0,866	0,1 %
$P_4 = -90,00 \cdot 10^{-5} t^2 + 31,00 \cdot 10^{-3} t - 18,30 \cdot 10^{-3}$	R = 0,775	0,1 %
$P_5 = -70,00 \cdot 10^{-5} t^2 + 28,40 \cdot 10^{-3} t - 62,06 \cdot 10^{-3}$	R = 0,954	0,1 %
$P_6 = -4,93 \cdot t^2 + 179,33 t - 1162,86$	R = 0,990	0,1 %
$P_7 = -20,00 \cdot 10^{-5} t^2 + 87,00 \cdot 10^{-4} t + 20,40 \cdot 10^{-3}$	R = 0,894	0,1 %
$P_8 = -79,36 \cdot 10^{-2} t^2 + 235,71 \cdot 10^{-1} t + 417,13$	R = 0,922	0,1 %

TABLA II

*Ecuaciones de regresión, coeficientes de correlación y niveles de probabilidad*

<i>Aspergillus niger + Czapeck fósforo insoluble</i>		
$P_1 = 62,00 \cdot 10^{-4} t^2 - 26,69 \cdot 10^{-2} t + 3,56$	R = 0,951	0,1 %
$P_2 = -16,00 \cdot 10^{-4} t^2 + 52,60 \cdot 10^{-3} t - 78,00 \cdot 10^{-3}$	R = 0,908	0,1 %
$P_3 = -141,53 \cdot 10^{-2} t^2 + 510,71 \cdot 10^{-1} t - 109,77$	R = 0,987	0,1 %
$P_4 = -15,00 \cdot 10^{-4} t^2 + 49,40 \cdot 10^{-3} t - 90,70 \cdot 10^{-3}$	R = 0,891	0,1 %
$P_5 = -19,00 \cdot 10^{-4} t^2 + 70,00 \cdot 10^{-3} t - 33,60 \cdot 10^{-2}$	R = 0,948	0,1 %
$P_6 = -1,92 t^2 + 72,74 t - 468,13$	R = 0,894	0,1 %
$P_7 = -14,00 \cdot 10^{-4} t^2 + 52,20 \cdot 10^{-3} t - 27,74 \cdot 10^{-2}$	R = 0,931	0,1 %
$P_8 = 264,55 \cdot 10^{-2} t^2 + 847,62 \cdot 10^{-1} t + 88,09$	R = 0,863	0,1 %



## RESUMEN

En este trabajo se estudian comparativamente los procesos metabólicos que tienen lugar en los sistemas microbioquímicos: *Aspergillus niger* + *Czapeck fósforo soluble* y *Aspergillus niger* + *Czapeck fósforo insoluble*.

En micelios de distintas edades de *A. niger* se han extraído las fracciones de fósforo siguientes: Fósforo soluble; Fósforo insoluble; Fosfolípidos; ARN + ADN + Fosfoproteínas; Nucleótidos de ARN + ADN + Fosfoproteínas; Fosfoproteínas; Nucleótidos de ARN y Nucleótidos de ADN. En estas fracciones se estudian las evoluciones del fósforo en relación con el tiempo de incubación del microorganismo.

Se pone de manifiesto el gran poder de movilización fosfórica de *A. niger*, así como la importancia de los fertilizantes biológicos en los suelos agrícolas.

*Sección de Fisiología Vegetal. Departamento de Biología.  
Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura.*

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) AZCÓN, R. 1972. Efectos de la inoculación de microorganismos movilizadores de fósforo y fijadores de nitrógeno sobre cultivos enarenados de judía y tomate. Tesis doctoral. Estación Experimental del Zaidín, Granada.
- (2) BAREA, J. M. 1969. Estudio sobre gérmenes del suelo capaces de mineralizar los fosfatos orgánicos. I. Introducción y revisión bibliográfica. *Ana. Pharm.*, 10, 117-128.
- (3) BAREA, J. M., RAMOS, A. y CALLAO, V. 1970. Incidencia de gérmenes mineralizadores de fosfatos en suelos de vega y secano de la provincia de Granada. *Microbiol. Español.*, 23, 149-156.
- (4) BAREA, J. M., RAMOS, A. y CALLAO, V. 1970. Contribución al estudio in vitro de la mineralización bacteriana de fosfatos. *Microbiol. Español.*, 23, 257-270.
- (5) BARTLETT, G. R. 1959. Phosphorus assay in column chromatography. *J. Biol. Chem.*, 234, 466-468.
- (6) BERENBLUM, I. and CHAIN, E. 1938. Studies on the colorimetric determination of phosphate. *Biochem. J.*, 32, 286-294.
- (7) CHIRIKOV, F. V. and VOLKOVA, V. V. 1941. *Vest. Udolbr. Agrotekh. Agropochvoved*, 3, 115. Ref.: McLaren y Peterson, 1967, *Soil Biochemistry*, cap. 9, 216, Dekker, Nueva York.
- (8) DOMMERGUES, Y. et MANGENOT, F. 1970. *Écologie Microbienne du sol*. VI. Masson et Cie., Editeurs, París.
- (9) EID, M. T., BLACK, C. A. and KEMPTHORNE. 1951. Importance of soil organic and inorganic phosphorus to plant growing at low and high soil temperatures. *Soil Sci.*, 71, 361.
- (10) ESTERMANN, E. F. and McLAREN, A. D. 1961. Contribution of rizophane organisms to the total capacity of plant to utilise organic nutrients. *Plant Soil.*, 15, 243.
- (11) FISKE, C. H. and SUBBAROW, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66, 375-400.
- (12) KITSON, R. E. and MELON, M. G. 1944. Colorimetric determination of phosphorus as molybdivanato phosphoric acid. *Ind. Enf. Chem. Anal. Ed.*, 16, 379-383.
- (13) MARTIN, J. B. and DOTY, D. M. 1949. Determination of inorganic phosphate. *Anal. Chem.*, 21, 965-967.
- (14) NAPLEKOVA, N. N. 1967. *Soviet Soil Sci.*, 1495-1503.
- (15) ORTUÑO, A., CARPENA, O., HERNANSÁEZ, A. and PARRA, M.ª. 1968. *Microbioche-*

- mical systems suppling iron as ferrous ion in calcareous soils. 9th International Congress of soil Science Transactions. IV, 694-697.
- (16) ORTUÑO, A., PARRA, M.<sup>a</sup>, HERNANDEZ, A. y NOGUERA, J. 1972. Sistemas microbioquímicos que suministran fósforo asimilable en suelos calizos. XXX Congreso Luso-Español. Anal. Edaf. Agrob., 32, 391-399.
- (17) ORTUÑO, A., PARRA, M.<sup>a</sup>, HERNANDEZ, A. y NOGUERA, J. 1973. Sistemas microbioquímicos que suministran fósforo asimilable en suelos calizos de zonas citricolas del Sureste español. «1973 International Citrus Congress», Proceedings of the Congress.
- (18) PRAKASH, S., KIRSHMAM, P. S. and TEWARI, K. K. 1967. Aspects of Parasitism by the Angiosperm Parasites. I. Phosphate Fractions in the Leaves of Loranthus and Hosts. Plant. Physiol., 42, 347-351.
- (19) RIVERO, J. M. 1968. Los estados de carencia en los agrios. 2.<sup>a</sup> ed., 49-69. Mundi-Prensa, Madrid.
- (20) SAUCHELLI, V. 1965. Phosphates in Agriculture. Reinhold Publishing Corporation, Nueva York.
- (21) SCHMIDT, G. and THANNHAUSSER, S. J. 1945. A method for the detection of deoxyribonucleic acid, ribonucleic acid and phosphoprotein in animal tissues. J. Biol. Chem., 161, 83-89.
- (22) SCHNEIDER, W. C. 1945. Phosphorus compounds in animal tissues. I. Extraction and estimation of deoxypentose nucleic acid and pentose nucleic acid. J. Biol. Chem., 161, 293-303.
- (23) STOKLASA. 1908. Ref. O. VERONA. Microbiología Agraria. Edit. U. T. E. T.
- (24) TARDIEUX-ROCHE, A. 1966. Contribution a l'étude des interactions entre phosphates naturels et microflore du sol. Ann. Agron., 17, 403-471 y 479-528.

Recibido para publicación: 27-IX-75

# FRUCTOSA-1,6-DIFOSFATASA DE CLOROPLASTOS DE HOJAS DE ESPINACA: PURIFICACION DEL FACTOR PROTEICO LIGADO A DICHA ACTIVIDAD

por

A. CHUECA, J. J. LAZARO, J. LÓPEZ GORGÉ y F. MÁYOR (\*)

## SUMMARY

FRUCTOSE - 1,6 - DIPHOSPHATASE FROM SPINACH LEAVES CHLOROPLASTS: PURIFICATION OF THE PROTEIN FACTOR LINKED TO THIS ACTIVITY

«Protein factor» (PF) involved in the spinach leaves photosynthetic fructose-1,6-diphosphatase system has been highly purified. The procedure includes: acid precipitation, long dialysis, acetonic precipitation (75 %), filtration through Sephadex G-100 and chromatography on DEAE-52 cellulose. This preparation is completely free of  $Mg^{2+}$  and FDPase, and so can be properly used for study the regulation of this enzyme in accordance with the system PF- $Mg^{2+}$ -ferredoxin. Its behaviour along the purification methodology assumes a molecular weight between 30.000 and 60.000, and a neutral or weakly acidic character.

## INTRODUCCIÓN

La fructosa-1,6-difosfatasa constituye, junto con la ribulosa-1,5-difosfato carboxilasa, el sistema clave de regulación del ciclo reductivo de las pentosas-fosfato (2). Esta posición clave hizo sospechar que, al igual que sucede con el enzima de la gluconeogénesis, estaría sometida su actividad a una regulación muy sutil.

Puesto que se observó que la actividad enzimática se potenciaba enormemente con elevadas concentraciones de  $Mg^{2+}$  (10, 11), se pensó que la existencia de un flujo de estos iones a través de las paredes del cloroplasto sería el factor determinante en la regulación de la actividad. Cuando posteriormente (1) se comprobó que existía también una activación del enzima por la luz, se supuso que esta fotoactivación actuaba induciendo la acumulación de  $Mg^{2+}$  en el cloroplasto. Sin embargo, recientes estudios (8) han demostrado que el  $Mg^{2+}$  es expelido de los

---

(\*) Departamento de Bioquímica, Facultad de Ciencias, Universidad Autónoma, Madrid.

cloroplastos al ser iluminados, mientras que es reabsorbido en la oscuridad.

En un reciente trabajo Buchanan y col. (3) han expuesto una hipótesis que, si bien en parte experimentalmente comprobada, deja aún muchos puntos que solucionar. Según ella la regulación fisiológica de este enzima constituye un complejo sistema, necesitándose para que se exprese la actividad una baja concentración en  $Mg^{2+}$ , un factor proteico (FP) presente en los cloroplastos, y ferredoxina en estado reducido. En estas condiciones la ferredoxina oxidada existente en los mismos sería reducida fotoquímicamente —y de ahí la activación del enzima por la luz— actuando en colaboración con el factor proteico y los iones  $Mg^{2+}$  en la activación, por un mecanismo aún desconocido, de la fructosa-1,6-difosfatasa.

El análisis de la cinética de este sistema de regulación, así como el estudio del mecanismo de acción de cada uno de los elementos integrantes del mismo, nos ha obligado a la preparación en alto estado de pureza de cada uno de ellos: enzima, ferredoxina y factor proteico. La preparación de este último constituye el objeto de la presente comunicación.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

La actividad FDPasa se determinó en buffer tris-ClH 0,1 M pH = 8,8 en presencia de fructosa-1,6-difosfato 4 mM, EDTA 1,6 mM, cisteína 5 mM,  $Cl_2Mg$  5 mM y preparado problema, en un volumen final de 2 ml.

El nivel de FP se midió, a su vez, en buffer tris-ClH 0,1 M pH = 8,8 en presencia de fructosa-1,6-difosfato 4 mM, EDTA 0,07 mM,  $Cl_2Mg$  0,7 mM, ditiotreitól 3,3 mM —en sustitución del reductor fisiológico ferredoxina—, 0,06 unidades de FDPasa y preparado problema, en un volumen final de 1 ml. La fructosa difosfatasa para este ensayo se obtuvo como se indica en un trabajo anterior (6), siendo un preparado exento de cualquier otra proteína. En ambos casos el período de incubación fue de treinta minutos a 28° C, determinándose después el fósforo liberado según una modificación de Fiske y Subbarow (5).

Una unidad enzimática se definió como liberación de 1 micromol de P por minuto en las condiciones indicadas. La actividad específica es el número de unidades enzimáticas por mg. de proteína.

El contenido proteico se determinó según Lowry y col. (7), y el  $Mg^{2+}$  por absorción atómica.

El control de pureza se llevó a cabo por electroforesis en gel de poliacrilamida al 7,5 por 100 y 5 por 100 de bis-acrilamida, según Orstein (9) y Davis (4), con tinción final de los geles con negro de amido. En los fraccionados en columna se llevó un control del proceso de elución por lectura a 280 nm. en célula de flujo continuo.

*Purificación.*—A no ser que expresamente se indique lo contrario, todas las operaciones se efectuaron a 4° C.

Lotes de 800 g de espinacas frescas, adquiridas en el mercado de la localidad, se lavaron abundantemente con agua y dejaron alcanzar un estado de turgencia manteniéndolas en bolsas de plástico a 4° C durante una noche. Una vez eliminados los peciolo y las nerviaciones prominentes se cortaban las hojas en pequeños fragmentos y se homogeneizaron en buffer fosfato 7 mM pH = 7,0 (p/v), filtrándose por gasa de nylon y obteniendo un extracto crudo por centrifugación a 13.000 g durante quince minutos.

El sobrenadante se llevó a pH = 4,5 con ácido fórmico. El precipitado que se forma, conteniendo la mayor parte de la FDPasa, se separó por centrifugación a 13.000 g durante quince minutos. El sobrenadante ácido se neutralizó con tris 1 M, dializándose —una 400 ml— con agitación continua y flujo continuo de buffer frente a un exceso de tris-ClH 0,03 M pH = 8,0. El extracto dializado se llevó al 75 por 100 de concentración en acetona previamente enfriada a —20°, con adición lenta de la misma. Se dejó reposar una hora, pudiéndose entonces decantar la mayor parte del sobrenadante. El resto del mismo se eliminó por centrifugación a 3.000 g durante diez minutos. Del precipitado acetonico se eliminaron restos de acetona mediante una corriente de aire frío obtenida con un secador de pelo, con agitación continua del precipitado. Este se sometió después a una extracción por maceración agitando con buffer tris-ClH 0,03 M pH = 8,0, separándose el material extraído —unos 14 ml— por centrifugación a 13.000 g durante quince minutos.

Estos se sometieron luego a una filtración por una columna de Sephadex G-100 (2,5 × 90 cm), estabilizada y eluida con el mismo buffer anterior, a un flujo de 0,5 ml/min. Se recogieron fracciones de 9 ml. Se reunieron las fracciones que contenían el factor proteico —unos 70 ml—, y se pasaron por una columna (1,5 × 20 cm) de DEAE-52 celulosa estabilizada con buffer tris-ClH 0,03 M pH = 8,0. El material fijado, que era la mayor parte, se eluyó fraccionadamente estableciendo un gradiente lineal continuo entre 250 ml de dicho buffer, y otros 250 ml del mismo hechos 0,5 M en ClNa. Se recogieron fracciones de 8 ml a un flujo de 0,5 ml/min, reuniéndose las que dieron reacción positiva al test de FP.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las referencias bibliográficas sobre las características del factor proteico objeto de nuestro estudio son prácticamente nulas, si hacemos excepción del mencionado trabajo de Buchanan y col. (3). Más aún; el carácter indeterminado de dicha denominación nos ha llevado a algún

confusionismo bibliográfico. Así, un reciente trabajo de Terpstra y Weijman (12) sobre un titulado factor proteico de hojas de espinaca hace referencia a una proteína con actividad clorofilásica que, por sus características, aparece ajena por completo al factor proteico implicado en la actividad FDPasa.

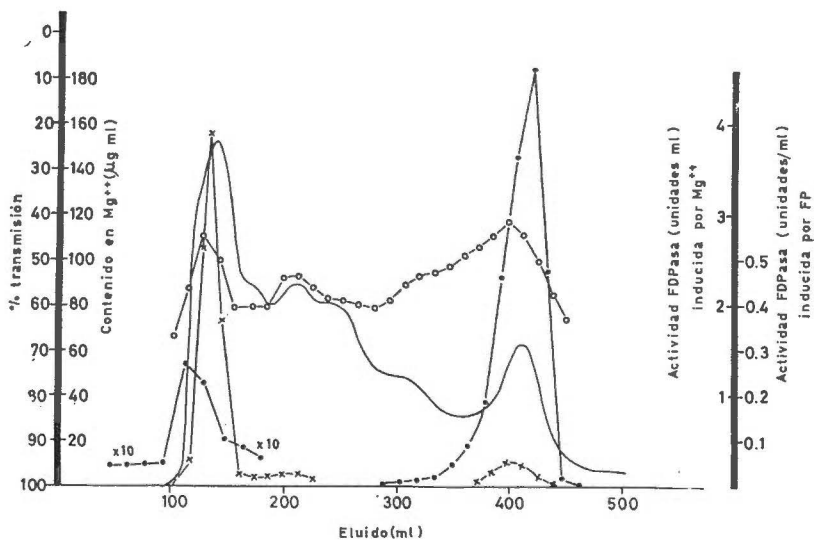


Fig. 1.—Filtración por Sephadex G-100. (—) % de transmisión a 280 nm. (●—●) Contenido en  $Mg^{2+}$  (los valores de la primera parte de la elución son expresados  $\times 10$ ). (x—x) Actividad FDPasa inducida por  $Mg^{2+}$ . (○—○) Actividad FDPasa inducida por FP. Las determinaciones son llevadas a cabo según el texto.

En dicho trabajo (3) Buchanan y colaboradores esbozan un procedimiento de purificación. A la vista del esquema de regulación expuesto, lo verdaderamente fundamental para estudiar la influencia de cada uno de los factores determinantes de la actividad FDPasa, radica en obtener un preparado de FP rigurosamente exento, por un lado, de FDPasa y, por otro, de  $Mg^{2+}$ , toda vez que una contaminación por ferredoxina es muy improbable. En especial resulta fundamental la ausencia de  $Mg^{2+}$ , ya que la FDPasa resulta también operativa, en ausencia de ferredoxina y factor proteico, a una concentración ya de 5 mM en  $Mg^{2+}$ .

Una modificación sustancial respecto a la metódica usada por Buchanan y col. (3), radica en efectuar una diálisis previa a la precipitación acetónica. Cuando la diálisis tiene lugar con posterioridad a ésta, se origina en el interior de la membrana de diálisis un abundante y pesado precipitado de oxalatos —de los que las espinacas son especialmente

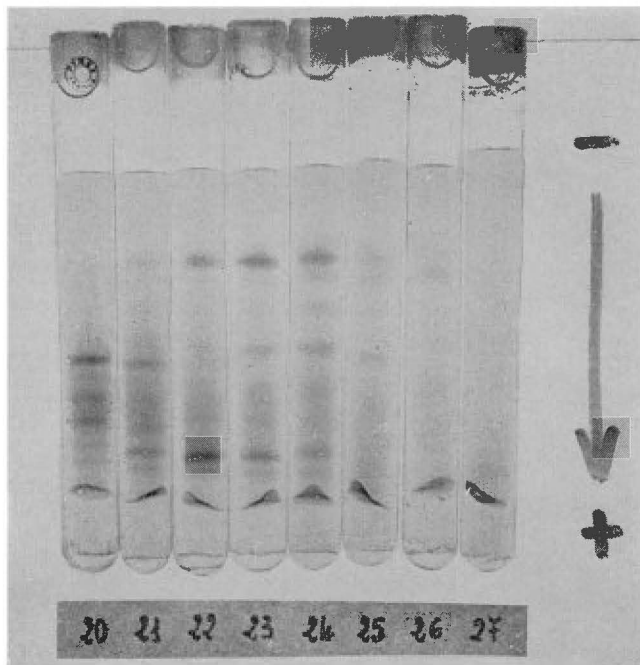


Fig. 2.—Electroforesis en gel de poliacrilamida (7,5 %) de las fracciones 20-27 eluidas por Sephadex G-100.

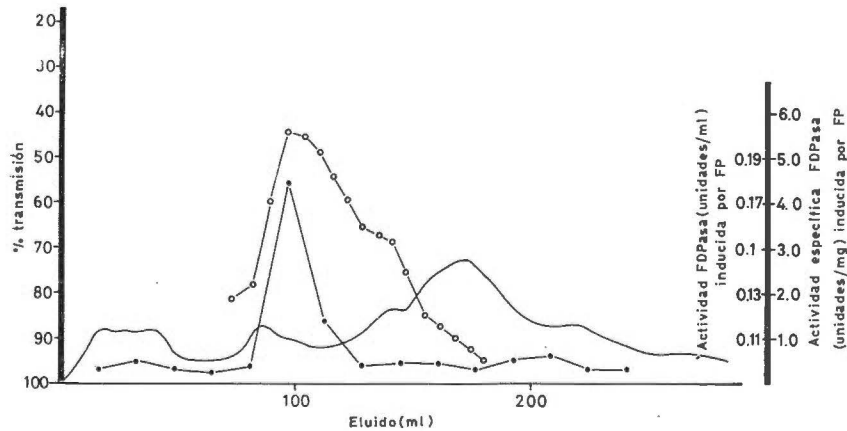


Fig. 3.—Cromatografía sobre DEAE-52 celulosa. (—) % de transmisión a 280 nm. (●—●) Actividad FDPasa inducida por FP. (○—○) Actividad específica FDPasa. Las determinaciones son llevadas a cabo según texto.

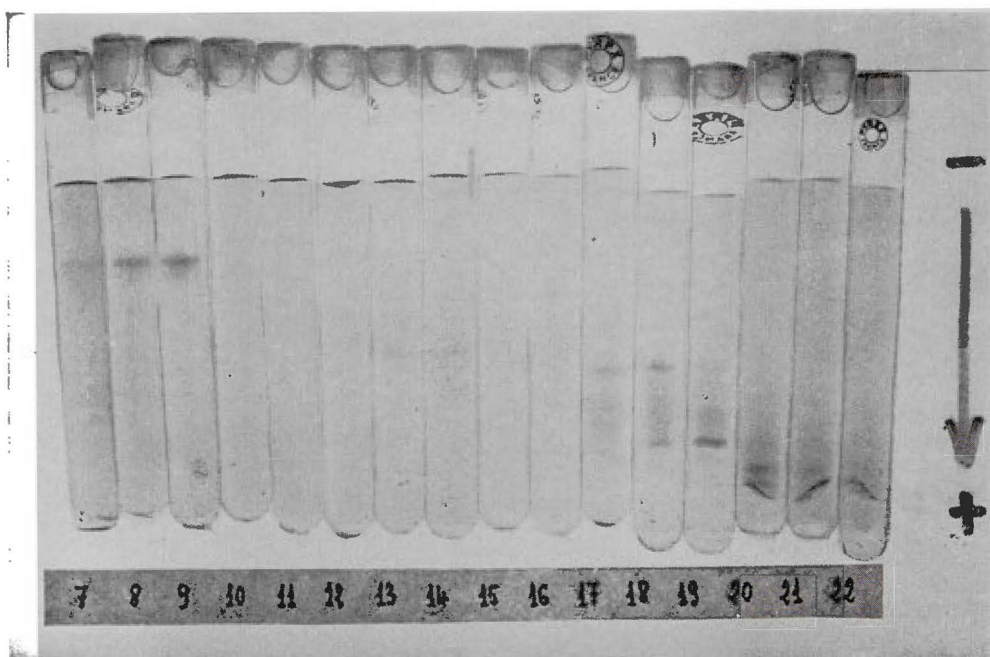


Fig. 4.—Electroforesis en gel de poliacrilamida (7.5 %) de las fracciones 7-22 eluidas por DEAE-52.

ricas—, que actúan fijando por adsorción parte del factor proteico, y provocan una fuerte pérdida de material.

En la figura 1 aparece esquematizado el proceso de elución en Sephadex G-100. Puede observarse cómo con un ligero retraso respecto al volumen de exclusión eluye una cantidad residual de FDPasa, no precipitada en el previo tratamiento con ácido fórmico. Ensayos efectuados con anterioridad (6) nos indican que dicha posición es la correspondiente al peso molecular del enzima. La débil actividad enzimática que parece manifestarse a nivel de los 400 ml de elución se debe a restos de fósforo inorgánico, ya que se anula cuando la determinación se efectúa con un blanco paralelo. En esta misma posición, que corresponde a compuestos de bajo peso molecular, eluye el  $Mg^{2+}$  que no dializó con anterioridad. Trazas de  $Mg^{2+}$  aparecen también a nivel de la FDPasa, seguramente por estar ligado al enzima.

El gráfico indicativo de elución del FP presenta tres máximos. En el primero y último la actividad enzimática manifestada es ajena al mismo, debiéndose al  $Mg^{+2}$  que eluye en esas posiciones. El máximo del centro, con un volumen de elución 180 a 250 ml, es el que corresponde



al factor proteico. En la figura 2 aparecen los controles por electroforesis en acrilamida de las fracciones 20 a 27, correspondientes a dicha zona.

La figura 3 muestra el esquema de elución por DEAE-52 celulosa, indicándose para cada fracción la actividad FDPasa global inducida por el FP, así como las correspondientes actividades específicas. En la figura 4 pueden verse las electroforesis en gel de acrilamida de las fracciones 7 a 22 del fraccionado. El FP aparece acumulado en las fracciones 13 y 14 como una banda de movilidad media. Esto, junto con su comportamiento de elución en Sephadex G-100, define a esta sustancia como una proteína con un peso molecular comprendido entre 60.000 y 30.000, y con un carácter neutro o ligeramente ácido.

### *Agradecimientos*

Queremos agradecer al Dr. A. Aguilar las determinaciones de  $Mg^{2+}$  tan magistralmente realizadas. Igualmente la excelente asistencia técnica de la señorita Matilde Garrido.

### RESUMEN

El factor proteico (FP) implicado en la actividad fructosa-1,6-difosfatasa (FDPasa) fotosintética de hojas de espinaca se ha aislado en alto grado de pureza mediante una metodología que incluye: precipitación ácida, diálisis prolongada, precipitación acetónica, filtración por Sephadex G-100, y cromatografía en DEAE-52 celulosa. Su comportamiento a lo largo de esta metodología hace presumir un peso molecular entre 30.000 y 60.000, y un carácter neutro o ligeramente ácido. El preparado así obtenido está completamente exento de  $Mg^{2+}$  y FDPasa, pudiendo entonces ser utilizado para el estudio de la regulación de este enzima por el sistema FP- $Mg^{2+}$ -ferredoxina (Buchanan y col., 1971).

Departamento de Bioquímica,  
Estación Experimental del Zaidín (C. S. I. C.),  
Granada

### BIBLIOGRAFÍA

- (1) BASSHAM, J. A., KIRK, M. y JENSEN, R. G. (1968). Photosynthesis by isolated chloroplasts. I. Diffusion of labeled photosynthetic intermediates between isolated chloroplasts and suspending medium. *Biochim. Biophys. Acta*, 153, 211-218.
- (2) BASSHAM, J. A. (1971). Photosynthetic carbon metabolism. *Proc. Nat. Acad. Sci.*, 68, 2877-2882.
- (3) BUCHANAN, B. B., SCHÜRMAN, P. y KALBERER, P. P. (1971). Ferredoxin activated fructose diphosphatase of spinach chloroplasts. *J. Biol. Chem.*, 246, 5952-5959.
- (4) DAVIS, B. J. (1964). Disk electrophoresis. II. Method and application to human serum proteins. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 404-427.

- (5) FISKE, C H. y SUBBAROW, Y. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biol. Chem.*, 66, 375-400.
- (6) LÁZARO, J. J., CHUECA, A., LÓPEZ-GORGÉ, J. y MAYOR, F. (1974). Fructose 1,6-diphosphatase from spinach leaf chloroplasts: Purification and heterogeneity. *Phytochemistry*, 13, 2455-2461.
- (7) LOWRY, O. H., ROSEBROUGH, N. J., FARR, A. L. y RANDALL, R. J. (1951). Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-290.
- (8) NOBEL, P. S. (1967). Relation of swelling and photophosphorylation to light-induced ion uptake by chloroplasts in vitro. *Biochim. Biophys. Acta*, 131, 127-132.
- (9) ORSTEIN, L. (1964). Disk electrophoresis. I. Background and theory. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 121, 321-349.
- (10) PREISS, J., BIGGS, M. L. y GREENBERG, E. (1967). The effect of magnesium ion concentration on the pH optimum of the spinach leaf alkaline fructose diphosphatase. *J. Biol. Chem.*, 242, 2292-2294.
- (11) RACKER, E. y SCHROEDER, E. A. R. (1958). The reductive pentose phosphate cycle. II. Specific C-1 phosphatases for fructose 1,6-diphosphate and sedoheptulose 1,7-diphosphatate. *Arch. Biochem. Biophys.*, 74, 326-344.
- (12) TERPSTRA, W. y WEIJMAN, A. C M. (1972). Spinach protein factor and chlorophyllase. *Planta*, 108, 319-331.

Recibido para publicación: 4-X-74

# CAMBIOS DE LOS POTENCIALES QUIMICOS DEL FOSFATO MONOCALCICO Y DEL HIDROXIDO CALCICO EN PRESENCIA DE MINERALES DE LA ARCILLA Y DE FOSFATOS CALCICOS CRISTALIZADOS

por

J. GARCIA DE LEANIZ y P. DE ARAMBARRI

## SUMMARY

CHANGES OF PHOSPHATE AND LIME CHEMICAL POTENTIALS IN PRESENCE OF CLAY MINERALS AND CRYSTALIZED CALCIUM PHOSPHATES

Solutions originated in media in which clay minerals and stoichiometric calcium phosphates were suspended are used to study the reliability of the phosphate and lime chemical potential method applied to the identification of phosphates in soil-like systems.

In media in which considerable amounts of precipitated dicalcium phosphate (DCPD) are present the phosphate and lime potentials can vary between 1.5 and 1.8 and between 2.5 and 3.7 respectively. It is concluded that this method has only an orientative value.

Another method consisting in calculating the value of the solubility product of the phosphates in the media, has been applied to the same solutions. This method proves to be better in some aspects than that of the potentials.

Las ideas de Schofield sobre potenciales químicos (17, 18) abrieron una fructífera línea de investigación que ha sido ampliamente utilizada, con objeto de identificar la naturaleza de los fosfatos existentes en los suelos de labor y/o determinar cuánto fósforo del presente en los suelos puede ser asimilado por las plantas, Aslyng (4), Ulrich (21) y Wild (22). También uno de nosotros ha realizado con anterioridad trabajos sobre el tema (1).

De iguales características existen trabajos dedicados al potasio, difícilmente separables de los acabados de reseñar. Woodruff (23), Mengel (13), Beckett (7) y Oertli (15).

Recientemente se ha demostrado que puede usarse una función logarítmica de las concentraciones (5), e incluso la misma concentración de P en la solución del suelo, con objeto de obtener datos utilizables para predecir la cantidad de este nutriente suministrado a una planta. Estos

datos no se diferencian, en nivel de significación, de los obtenidos usando los potenciales químicos del ión monofosfato en el suelo.

Por otra parte, la evidencia presentada por Mattingly (12) muestra que la nutrición vegetal se explica mejor cuando se conoce además de la cantidad de nutriente en la solución del suelo, factor intensidad, la cantidad total de nutriente lábil, factor cantidad, presente en el suelo. Todo ello ha hecho que los potenciales químicos se usen cada vez menos en estudios de fertilidad.

Los potenciales químicos del fosfato monocálcico y del hidróxido cálcico suelen usarse en la forma propuesta por Aslyng (4), para tratar de determinar las clases de fosfato presentes en los suelos de labor. Parece lógico suponer que el fosfato en la solución de un suelo de labor provenga de una serie de fosfatos que pueden ser químicamente distintos: fosfatos naturales del suelo, restos de fertilizantes, fosfatos de nueva formación originados de los anteriores y fosfatos adsorbidos, los cuales no suelen estar en equilibrio entre sí. Suele admitirse que si uno de los fosfatos anteriormente reseñados es una especie química y existe en proporción predominante en el suelo estudiado, el método de los potenciales químicos es capaz de proporcionar un valor del potencial del fosfato monocálcico próximo o igual al teórico de dicho fosfato. Desgraciadamente ha sido posible pocas veces identificar en un suelo la existencia de un fosfato estequiométrico (14) (11), por lo cual el método que nos ocupa ha sido constatado en contadas ocasiones.

En experiencias, en que se hicieron reaccionar soluciones con iones fosfato a diferentes pH en presencia de un fosfato sólido y minerales de la arcilla, se consiguieron medios en los que pudo identificarse por análisis directo la existencia de fosfatos cálcicos estequiométricos cristalizados (2). Los medios resultantes de dichas experiencias son indudablemente menos complejos que los que resultarían de suspender suelos de labor en soluciones de fuerza iónica constante, pero creemos proporcionan un adecuado medio de estudio que permite verificar la bondad y fiabilidad del método de Aslyng aplicado a la identificación de la existencia de fosfatos específicos en suelos.

En consecuencia, el objeto de este trabajo es estudiar la posible diferencia existente entre los valores de los potenciales químicos del fosfato monocálcico y del hidróxido cálcico en medios en los que existen fosfatos cálcicos estequiométricos cristalizados y en medios en los que además de estos fosfatos existen minerales de la arcilla.

## MATERIALES Y MÉTODOS

Se emplearon cuatro minerales de la arcilla.

### *Caolinita*

Un caolín cerámico de Pontevedra suministrado por la Fábrica de Cerámica «La Cartuja», de Sevilla, que contiene como impurezas cuarzo en apreciable cantidad y mica y óxido de hierro en muy pequeña proporción, junto con fósforo, evaluado en 0,03 por 100, expresado como  $P_2O_5$ .

### *Montmorillonita*

Número 30a A. P. I. de Bayard, Nuevo Méjico, material impurificado por trazas de calcita o dolomita y de óxidos de hierro, y que también posee fósforo evaluable en 0,02 por 100, expresado como  $P_2O_5$ .

### *Illita*

Número 35 A. P. I. de Fithian, Illinois, material bastante degradado e impurificado por caolinita en apreciable cantidad y óxidos de hierro, cuarzo y fósforo, evaluado este último en 0,2 por 100, expresado como  $P_2O_5$ .

### *Hidrobiotita*

Denominado «clorita de Colorado», en el catálogo de la Ward's Natural Science Establishment Inc., casa que nos suministró además de este material la montmorillonita y la illita referidas anteriormente. Es una hidrobiotita con impurezas de clorita y óxidos de hierro y aluminio, que como los dos materiales anteriores posee fósforo en proporción de 0,04 por 100, expresado como  $P_2O_5$ .

## *Fosfatos*

Se obtuvieron en el laboratorio cantidades suficientes de fosfato monocálcico monohidrato (MCPM), fosfato dicálcico dihidrato (DCPD) e hidroxilapatito (HA), según los métodos descritos en el tomo IV de la serie «Inorganic Syntheses» (6). Los productos obtenidos demostraron tras el examen pertinente poseer pureza espectroscópica.

### *Soluciones*

Se prepararon soluciones saturadas de cada uno de los fosfatos obtenidos. Dada la disolución no congruente que sufren el MCPM y el DCPD en contacto con agua, estas soluciones saturadas se prepararon siempre utilizando cantidades fijas e idénticas de agua y de cada fosfato (2) (3).

### *Sistemas a estudiar*

Los medios en que se basó el estudio estaban compuestos de la siguiente forma: sistemas de referencia o «sistemas standard», consistentes en 100 ml. de una solución saturada de un fosfato, preparada con las precauciones indicadas más arriba más una cantidad pesada del mismo fosfato sólido, colocado dentro de un saco de diálisis, y suspendido en la solución saturada. Estos sistemas sirven para estudiar el fenómeno de hidrólisis, disolución no congruente, de los fosfatos utilizados en las condiciones experimentales usadas, así como para obtener los potenciales químicos correspondientes.

Los «sistemas problema» son sistemas standard a los que se añade además 5 gr. de un mineral de la arcilla. Los fosfatos sólidos de cada sistema se encerraron en sacos de diálisis para asegurar que cualquier fosfato sólido que pueda aparecer mezclado a los minerales de la arcilla es un fosfato de nueva formación por precipitación desde la solución saturada sobre la fase suspendida y no una impurificación de ésta por mezcla mecánica del fosfato sólido añadido en exceso.

### *Método operatorio*

Se prepararon 5 sistemas standard para cada fosfato y 8 sistemas problema para cada fosfato y cada arcilla. Cada sistema se coloca en baño termostataado a 30° C y se agita a tiempos determinados, que oscilan entre cero y 504 horas (tres semanas).

Después de cada tiempo de agitación se midió el pH de cada sistema. Seguidamente se separó el fosfato sólido en suspensión, retirando el saco de diálisis que lo contenía. Se secó el fosfato con alcohol y acetona y se identificó por difracción de rayos X y espectroscopía de infrarrojo.

De los sistemas problema, se recuperó por centrifugación el mineral de la arcilla suspendido y se analizó por difracción de rayos X para comprobar si se había producido en el medio la precipitación de un fosfato cristalino. Cada solución se analizó asimismo para conocer su con-

centración en P (19) y Ca (20). Igualmente se determinó la cantidad de P y Ca existente en fase sólida, sobre las arcillas.

A partir de estos datos se calcularon las actividades de los iones  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{PO}_4\text{H}_2^-$  y de éstas los potenciales químicos modificados en solución (10). Es sabido que a partir de los productos de solubilidad de los distintos fosfatos cálcicos y de los valores de las constantes de disociación del agua y del ácido fosfórico (9), se obtienen ecuaciones del tipo

$$p \text{ PO}_4\text{H}_2 + \frac{1}{2} p \text{ Ca} = f(\text{pH} - \frac{1}{2} p \text{ Ca}), \quad [11]$$

cuyas líneas se corresponden con las isotermas de disolución de cada fosfato cálcico. Estas isotermas, representadas gráficamente en la forma propuesta por Aslyng (4), se usan con el fin de identificar la naturaleza de los fosfatos existentes en fase sólida y en equilibrio con una solución.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La tabla I muestra los datos correspondientes a los potenciales químicos modificados (10), de los sistemas standard para los tres fosfatos utilizados.

El MCPM puesto en contacto con sus soluciones saturadas se hidroliza, evolucionando rápida y totalmente a DCPD en la primera hora de reacción (2). Como consecuencia aumenta la concentración de P en solución y el valor del potencial del ión monofosfato baja regularmente. La disolución no congruente, hidrólisis, del MCPM acidifica inicialmente el medio y no produce variación de la concentración del ión Ca en solución. El potencial del hidróxido cálcico también disminuye con el tiempo aunque no de forma regular. Esta disminución no regular también puede estar influenciada por un posible incremento de la disolución del fosfato producido, debida a la acidificación del medio en los primeros momentos de la reacción.

El DCPD, por su parte, evoluciona en forma casi total a fosfato octocálcico, que representaremos en lo que sigue por OCP, en forma lenta mediante otro proceso de disolución no congruente originado, asimismo, por una reacción de hidrólisis. El final es una mezcla de DCPD y OCP (3), en un medio que inicialmente se acidifica. El aumento inicial de P en solución se ve compensado ampliamente por la disminución subsiguiente originada por la formación de OCP, mucho más insoluble que el DCPD. Todas estas circunstancias actúan en diferentes sentidos sobre los potenciales químicos del medio haciéndolos variar en forma irregular.

El HA no evoluciona hacia otro fosfato en contacto con sus soluciones saturadas y el pH del medio se mantiene consecuentemente sin variación apreciable durante las tres semanas de reacción. La disminu-

ción del potencial del fosfato monocalcico que se registra en la tabla I puede deberse a la existencia de un fosfato más soluble que el HA impurificando nuestra muestra, aunque esta impurificación no sea detectable por rayos X. También puede deberse a la solubilización del propio HA hasta alcanzar la saturación del medio. La escasa solubilidad del HA podría justificar la lentitud con que se alcanza el equilibrio en estos sistemas.

TABLA I

*Potenciales químicos modificados (10) de los sistemas standard*

## SISTEMA STANDARD

Fosfato inicial (saco diálisis)	Fosfato final (saco diálisis)	Tiempo reacción horas	Potenciales químicos modificados	
			$1/2 \text{ pCa} + \text{pPO}_4\text{H}_2$	$\text{pH} - 1/2 \text{ pCa}$
MGPM	DCPD	0	1,71	2,42
		1	1,68	2,29
		24	1,68	2,30
		168	1,62	2,40
		504	1,63	2,31
		media	1,65	2,34
		desv. stand.	0,03	0,06
DCPC	DCPC + OCP	0	5,06	5,72
		1	5,08	5,69
		24	5,08	5,65
		168	5,06	5,79
		504	5,00	5,22
		media	5,05	5,26
		dcsv. stand.	0,03	0,06
H. A.	H. A.	0	7,14	4,25
		1	6,89	4,29
		24	6,84	4,84
		168	6,76	5,01
		504	6,69	5,17
		media	6,86	4,71
		desv. stand.	1,17	0,42



En la figura 1 se han representado los valores correspondientes de la tabla I.

En la zona 1 de la figura 1 se localizan los puntos, representados por cruces, correspondientes a los potenciales químicos modificados de los sistemas standard compuestos por la solución saturada de MCPM mantenida en contacto con MCPM cristalizado, en exceso. Hemos dicho que en las condiciones de experimentación demostramos que a la hora de reacción todo el MCPM se transforma en DCPD (2), y de acuerdo con ello, los puntos de la zona 1 de la figura 1 se sitúan exactamente sobre la línea *a*, isoterma característica del DCPD.

Las cruces de la zona 2 de la figura 1 corresponden a los valores del potencial de los sistemas standard que inicialmente contenían DCPD. A pesar de que los sistemas standard contienen una mezcla DCPD-OCP las cruces de la zona 2 se encuentran por encima, aunque próximos a la línea *a*, lo que debe interpretarse admitiendo que el medio se encuentra sobresaturado en DCPD.

Las cruces de la zona 5 de la figura 1 corresponden a los valores del potencial de los sistemas standard que contenían inicialmente HA. Se deduce de la observación de la figura 1 que el sistema standard con HA alcanza el valor de los potenciales correspondientes a este fosfato, puntos de la línea *c*, sólo después de dos semanas de reacción.

En lo que respecta a los sistemas problema, los que inicialmente contenían MCPM evolucionan igual que los correspondientes sistemas standard a sistemas con DCPD dentro de la primera hora de reacción. Si estos sistemas contienen caolinita poseen un pH de valor medio para los distintos tiempos de reacción de 3,38 y un valor máximo de pH de 3,62 a las tres semanas de reacción; con illita los sistemas problema alcanzan un pH medio de 3,54 y un pH máximo de 3,72 a las tres semanas de reacción; con montmorillonita el pH medio es 3,63 y el pH máximo es 3,83 y se alcanza en los primeros momentos de reacción; con hidrobiotita el pH medio alcanza el valor de 4,16 con valor de pH 4,21 en las primeras horas de reacción. El valor medio del pH de los sistemas standard con MCPM inicial que evoluciona a DCPD es 3,16 y el valor máximo correspondiente es 3,25. Lo anterior muestra que todos los minerales de la arcilla empleados alcalinizan el medio, y en el caso de la montmorillonita y de la hidrobiotita la alcalinización es suficientemente intensa, próxima al pH 4, óptimo de precipitación del DCPD (6), como para que este compuesto precipite desde la solución y sea fácilmente detectable por rayos X sobre-impuesto al diagrama correspondiente a estos minerales, según mostramos en un trabajo anterior (2).

La tabla II muestra que los sistemas MCPM inicial-mineral de la arcilla poseen potenciales del ión monofosfato y potenciales del hidróxido cálcico mayores que los valores correspondientes de los sistemas standard (tabla I).

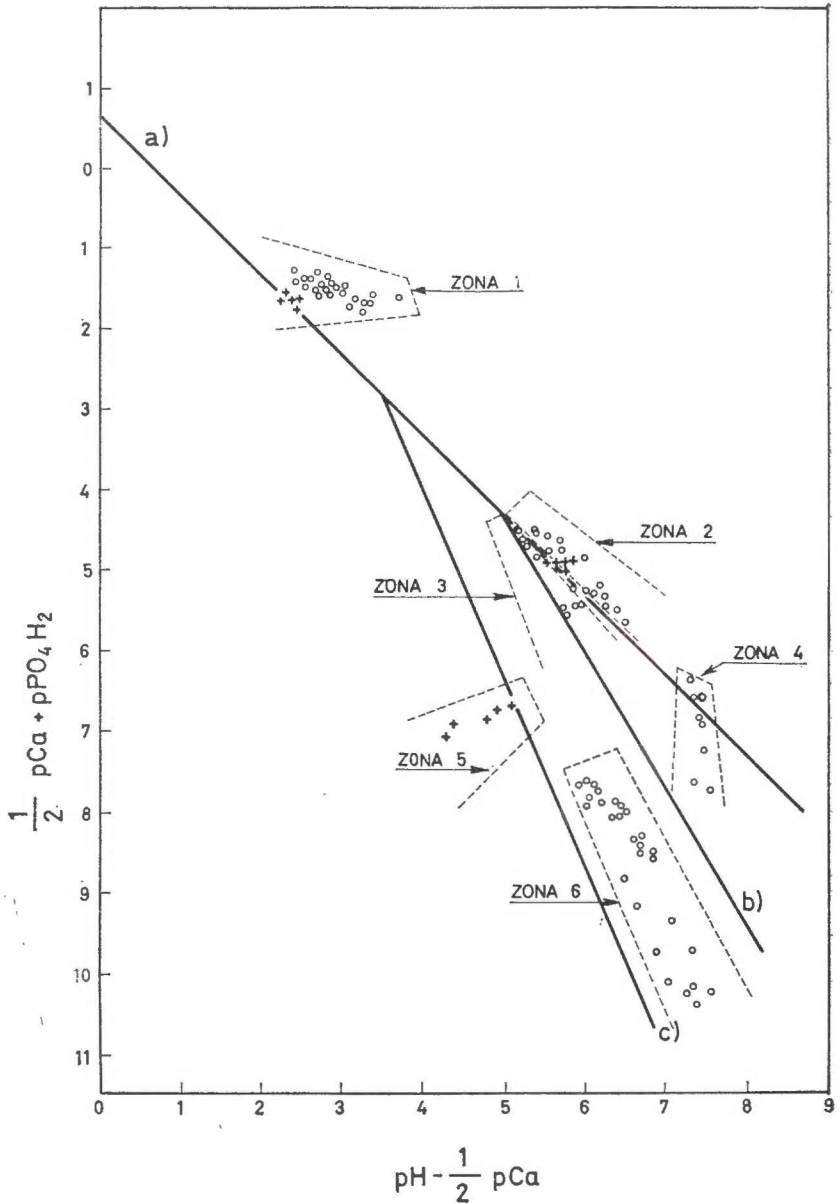


Fig. 1.—Representación en un diagrama tipo Aslyng ( $\pm$ ) de los valores de los potenciales de los sistemas standard (+) y de los sistemas problema (0).

T A B L A I I

Potenciales químicos modificados (10) de los sistemas problema conteniendo inicialmente MCPM

Fosfato inicial (saco diálisis)	Mineral de la arcilla	Fosfato final (saco diálisis y junto o sobre arcilla)	Tiempo reacción horas	Potenciales químicos n odificados	
				$1/2 pCa + pPO_4H_2$	$pH - 1/2 pCa$
MCPM	caolinita	DCPD (saco diálisis)	1	1,66	2,62
			4	1,65	2,52
			24	1,63	2,54
			48	1,61	2,60
			72	1,62	2,52
			168	1,63	2,59
			336	1,64	2,56
			504	1,60	2,85
			media	1,63	2,60
			desv. stand.	0,02	0,10
MCPM	montmorillonita	DCPD (saco diálisis y junto o sobre la arcilla)	1	1,67	3,02
			4	1,63	3,00
			24	1,65	2,96
			48	1,67	2,88
			72	1,68	2,72
			168	1,70	2,70
			336	1,70	2,69
			504	1,70	2,70
			media	1,67	2,83
			desv. stand.	0,02	0,14
MCPM	ilita	DCPD (saco diálisis)	1	1,66	2,67
			4	1,64	2,52
			24	1,62	2,64
			48	1,61	2,71
			72	1,62	2,70
			168	1,61	2,91
			336	1,63	2,90
			504	1,65	2,92
			media	1,63	2,74
			desv. stand.	0,01	0,14
MCPM	hidrobiotita	DCPD (saco diálisis y junto o sobre la arcilla)	1	1,80	3,37
			4	1,76	3,31
			24	1,76	3,20
			48	1,79	3,26
			72	1,81	3,12
			168	1,85	3,28
			336	1,67	3,41
			504	1,67	3,27
			media	1,76	3,34
			desv. stand.	0,06	0,14

Al representar en la figura 1 los datos de la tabla II encontramos que éstos se sitúan en la zona 1 justo por encima de la línea  $\alpha$ , indicando que las soluciones examinadas están sobresaturadas respecto al DCPD. Aunque los cuatro minerales de la arcilla están impurificados por una cierta cantidad de fósforo, como se puso de manifiesto al describir los materiales usados, la cantidad de P separable con la fase sólida de los sistemas problema es muy grande, de tal manera que en el caso, por ejemplo, de la hidrobiotita la proporción de fósforo antes del tratamiento: fósforo después del tratamiento llega a ser de 1:250 y en el caso de la ilita existe 10 veces más P sobre la arcilla después del tratamiento que antes de él.

El hecho de que son los valores de la tabla II correspondientes al sistema con hidrobiotita los que más se alejan de la línea  $\alpha$ , hace que estos resultados sean anómalos, puesto que experimentalmente hemos demostrado (2) que es precisamente nuestra hidrobiotita la que posee más DCPD cristalizado. Creemos que los sistemas empleados son suficientemente permeables y convenientemente homogéneos como para alcanzar el equilibrio después de tres semanas de reacción, por lo que, si los sistemas problema no han alcanzado dicho equilibrio, se deberá a que los minerales de la arcilla que contienen influyen sobre ellos, modificándolos con el tiempo.

Variaciones del pH o de la concentración de calcio y otros iones deben ser los motivos de estos cambios, más que el propio fosfato. Supongamos que existe un suelo que esté en equilibrio con el fósforo que contenga, por ejemplo, porque dicho fósforo lleva añadido al suelo muchos años. Lo deducido anteriormente nos hace sospechar que si suspendemos dicho suelo en un medio de fuerza iónica alta, como el que se emplea en este tipo de estudios, alteraremos su estado de equilibrio, el cual no se restablecerá en tres semanas de reacción.

Creemos que ésta es la causa de los variados potenciales obtenidos en los distintos sistemas estudiados por diferentes autores durante los últimos veinte años.

Cabe, pues, preguntarse si los resultados que se obtendrían por este método serían suficientemente importantes y reproducibles como para justificar la prolongación de estos estudios por más de tres semanas, o por el contrario si podría admitirse que existe DCPD precipitado cuando un suelo de labor al que se ha añadido superfosfato cálcico, cuyo principal fosfato es MCPM, posea valores del potencial del fosfato monocálcico y del hidróxido cálcico que oscilen aproximadamente entre 1,50 y 1,80 y entre 2,50 y 3,70, respectivamente.

Los sistemas problema que inicialmente contienen DCPD evolucionan a otros en que existe una mezcla de este fosfato y de OCP, caso de los sistemas con caolinita e ilita, o a otros, caso de la montmorillonita y la hidrobiotita, en que se produce un fosfato cuyo espectro de rayos X

e infrarrojo no se ajustan a los citados en las tablas ASTM. Posiblemente este fosfato sea en realidad una mezcla mal cristalizada de DCPD, OCP y un fosfato magnésico o mixto de calcio y magnesio (3).

Cuando estos sistemas problema contienen caolinita, poseen un valor medio del pH de 7,36 y un máximo de 7,79; con ilita la media de los pH es 7,28 y el máximo es 7,69; con montmorillonita la media de los pH es 7,25 y el máximo es 8,13; para la hidrobiotita la media de los pH es 9,35 y el máximo 9,67. En todos los casos el pH alcanza su valor máximo a las cuatro horas de reacción. El valor medio de los pH en los sistemas standard con DCPD inicial es de 7,26 y el valor máximo correspondiente es 7,33, alcanzado a las tres semanas de reacción, de donde se deduce que sólo los sistemas problema con hidrobiotita alcanzan un valor medio de pH superior al de los sistemas standard correspondientes. En los sistemas problema con DCPD inicial no aparece ningún fosfato cristalizado identificable por rayos X junto o sobre los minerales de la arcilla.

La tabla III muestra que los sistemas DCPD inicial-mineral de la arcilla poseen potenciales del fosfato monocálcico y del hidróxido cálcico, similares, salvo en el caso de la hidrobiotita, a los correspondientes de los sistemas standard. Al representar en la figura 1 los datos de la tabla III encontraremos que los puntos correspondientes a los potenciales de los sistemas problema con caolinita y montmorillonita se sitúan en la zona 2, mientras que los correspondientes a los sistemas problema conteniendo ilita se encuentran en la zona 3.

Los potenciales de los sistemas con caolinita y montmorillonita que se encuentran respectivamente en presencia de una mezcla OCP-DCPD, éste último en exceso, y una mezcla «OCP-DCPD-fosfato Mg», poseen potenciales que son mayores en la primera etapa de la reacción que los del sistema standard correspondiente, el cual posee una mezcla de OCP y DCPD, este último en exceso. A tiempos más largos de reacción los sistemas problema que comentamos poseen potenciales del fosfato cálcico menores que los sistemas standard. Estos resultados pueden deberse a que el pH influye sobre el estado de equilibrio o a que el DCPD es más rápido descomponiéndose que el OCP formándose, a pesar de que este último fosfato es el más estable, a pH 6.

En presencia de la hidrobiotita el sistema alcanza un pH muy elevado desde el comienzo de la reacción, y el mineral retira cantidades apreciables de P y Ca de la solución, todo lo cual le hace alcanzar valores elevados del potencial del fosfato cálcico y del hidróxido cálcico. Los puntos experimentales se sitúan en la zona 4 de la figura 1, lejos de los correspondientes de la montmorillonita, resultado difícil de explicar habida cuenta que ambos sistemas poseen idéntica mezcla de fosfatos sólidos (3).

Por el contrario, la localización en la figura 1, zona 3, de los datos

T A B L A I I I

Potenciales químicos modificados (10) de los sistemas problema conteniendo inicialmente DCPD

Fosfato inicial (saco diálisis)	Mineral de la arcilla	Fosfato final (saco diálisis y junto o sobre arcilla)	Tiempo reacción horas	Potenciales químicos modificados	
				$1/2 \text{ pCa} + \text{pPO}_4\text{H}_2$	$\text{pH} - 1/2 \text{ pCa}$
DCPD	caolinita	DCPD + OCP (saco diálisis)	1	5,50	6,07
			4	5,53	6,15
			24	5,15	5,71
			48	5,17	5,81
			72	5,97	5,64
			168	4,76	5,55
			336	—	—
			504	4,76	5,52
			media	5,26	5,57
			desv. stand.	0,43	0,24
DCPD	montmorillonita	DDPD + OCP + fosfato Mg-Ca {mezcla mal cristalizada} (saco diálisis)	1	5,60	6,23
			4	5,82	6,48
			24	5,64	6,37
			48	5,32	6,12
			72	4,95	5,95
			168	5,54	5,48
			336	4,77	5,60
			504	4,92	5,67
			media	5,32	5,98
			desv stand.	0,39	0,37
DCPD	ilita	DCPD + OCP este último parece predominar (saco diálisis)	1	5,71	5,85
			4	5,78	5,86
			24	5,64	5,98
			48	5,48	5,99
			72	5,68	5,51
			168	4,46	5,13
			336	4,55	5,12
			504	4,57	5,04
			media	5,23	5,56
			desv. stand.	0,59	0,41
DCPD	hidrobiotita	DCPD + OCP + fosfato Mg-Ca {mezcla mal cristalizada} (saco diálisis)	1	7,77	7,31
			4	7,89	7,53
			24	7,32	7,47
			48	6,98	7,41
			72	7,07	7,43
			168	6,72	7,39
			336	6,74	7,34
			504	6,53	7,31
			media	7,12	7,39
			desv. stand.	0,49	0,07

experimentales de la tabla III correspondientes a la ilita son perfectamente explicables dada la naturaleza del fosfato sólido presente, y que es OCP en forma mayoritaria.

La figura 2a muestra el diagrama de rayos X representativo de la mezcla OCP-DCPD dominante, y la figura 2b el correspondiente a la mezcla DCPD-OCP dominante, representativo de los experimentos con ilita que comentamos.

Por último, los sistemas que inicialmente contienen HA conservan

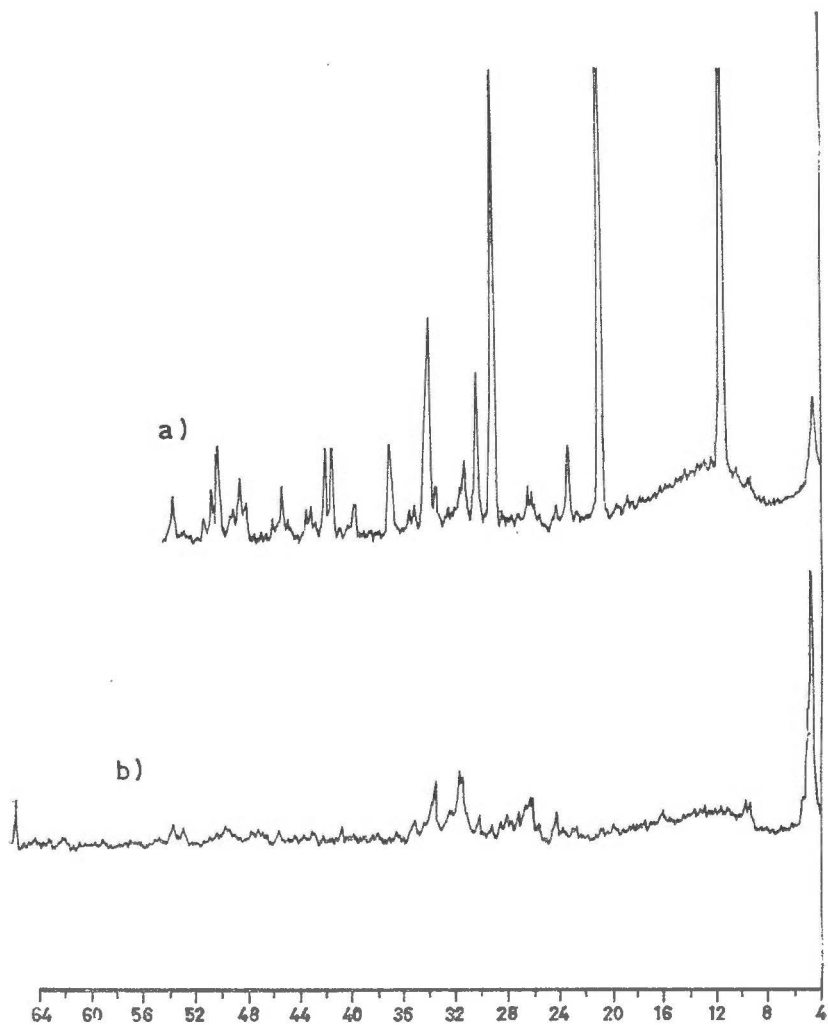


Fig. 2.—Diagrama de difracción de rayos X de: a) mezcla de DCPD y OCP con el primer fosfato en mayor proporción, y b) mezcla de DCPD y OCP con el segundo fosfato en mayor proporción.

sin alteración aparente este fosfato hasta el final de la reacción. Los valores medios y máximo del pH en estos medios son: sistema problema con caolinita, pH medio 8,63, pH máximo 8,86 a las cuatro horas de reacción; sistema problema con montmorillonita, pH medio 8,03, pH medio 8,24 al día de reacción; sistema problema con ilita, pH medio 7,89, pH máximo 8,03 al día de reacción; sistema problema con hidrobiotita, pH medio 9,60, pH máximo 9,97 al día de reacción. Todos estos valores son más alcalinos que los del sistema standard, el cual posee un valor medio del pH de 6,73 y un valor máximo del mismo de 7,04.

La tabla IV muestra que los sistemas HA inicial-mineral de la arcilla poseen potenciales del fosfato monocálcico y del hidróxido cálcico apreciablemente mayores que los correspondientes del sistema standard (tabla I). Al representar en la figura 1 los datos de la tabla IV, los potenciales considerados se reúnen en la zona 6 que muestra que los medios estudiados poseen soluciones sobresaturadas respecto al HA. Los valores correspondientes a la hidrobiotita, mineral que alcaliniza fuertemente el medio, se apartan algo de los potenciales de los sistemas problema con otro mineral de la arcilla, aunque dos de los puntos correspondientes al sistema conteniendo caolinita se sitúan muy próximos a los de la hidrobiotita. En el presente caso la caolinita alcaliniza el medio más que la montmorillonita y que la ilita.

De todo lo anterior puede deducirse que los sistemas standard poseen soluciones que llegan a equilibrarse con el fosfato existente en el medio, aunque este fosfato esté separado de la solución por una membrana de diálisis.

Algunos fosfatos cuya formación es muy rápida, caso del DCPD, imponen al medio el pH y las concentraciones iónicas correspondientes desde los primeros momentos de la reacción, mientras que otros, caso HA, que no evolucionan, se equilibran en el medio sólo después de dos semanas de reacción.

Cuando en los medios anteriores se suspende un mineral de la arcilla, el pH y la concentración iónica en solución varían, y este efecto se sobrepone al regulador del fosfato sólido presente con el resultado de que los medios no alcanzan el equilibrio tras tres semanas de reacción.

Esta circunstancia se pone de manifiesto en forma especial en los sistemas problema que inicialmente contenían DCPD. A esta situación contribuye el hecho de que en presencia de montmorillonita e hidrobiotita, que proporcionan cantidades notables de  $Mg^{2+}$  a la solución, la lenta evolución natural del DCPD a OCP se ve complicada por la aparición de un fosfato mal cristalizado. En estas condiciones los resultados obtenidos parecen indicar que la especial configuración del diagrama de Aslyng no permite deducir la composición del fosfato dominante en el medio. Por otra parte, supongamos que un suelo se encuentra lo más cercano posible al equilibrio con el fosfato residual del fertilizante



T A B L A I V

Potenciales químicos modificados (10) de los sistemas problema conteniendo inicialmente H. A.

Fosfato inicial (saco diálisis)	Mineral de la arcilla	Fosfato final (saco diálisis y junto o sobre arcilla)	Tiempo reacción horas	Potenciales químicos modificados	
				$\frac{1}{2} pCa + pPO_4H_2$	$pH - \frac{1}{2} pCa$
H. A.	caolinita	H. A. (saco diálisis)	1	8,54	6,78
			4	8,74	6,94
			24	8,78	6,93
			48	8,67	6,77
			72	8,58	6,73
			168	8,71	6,76
			336	9,40	6,70
			504	9,03	6,59
			media	8,73	6,77
			desv. stand.	0,36	0,11
H. A.	montmorillonita	H. A. (saco diálisis)	1	—	—
			4	8,05	6,39
			24	8,14	6,49
			48	8,08	6,36
			72	8,16	6,45
			168	8,17	6,30
			336	8,75	6,30
			504	—	—
			media	8,22	6,38
			desv. stand.	0,26	0,07
H. A.	illita	H. A. (saco diálisis)	1	8,14	6,11
			4	8,06	6,14
			24	8,12	6,29
			48	7,95	6,22
			72	7,95	6,26
			168	7,95	6,22
			336	7,85	6,12
			504	7,87	6,07
			media	7,98	6,17
			desv. stand.	0,10	0,07
H. A.	hidrobiotita	H. A. (saco diálisis)	1	10,39	7,24
			4	10,53	7,34
			24	10,31	7,49
			48	10,31	7,25
			72	9,82	7,27
			168	10,23	6,98
			336	9,85	6,84
			504	9,50	7,04
			media	10,11	7,18
			desv. stand.	0,35	0,21

que se le añade, como en el caso de los suelos de las Parcelas Históricas de Rothamsted, con los que realizó su trabajo Aslyng (4).

Al suspender estos suelos en un electrolito fuerte se destruye el estado de pseudoequilibrio en que se encuentran, y el nuevo pseudoequilibrio puede no alcanzarse originando resultados ambiguos, como los obtenidos en este trabajo. En estas circunstancias la rentabilidad de un método largo y costoso es muy dudosa.

En sistemas como los estudiados, en los que puede presuponerse la naturaleza del fosfato formado, la proporción directa existente entre la insolubilidad de un fosfato y el valor de la suma algebraica de los pK de las actividades de las especies iónicas que lo componen, puede utilizarse para confirmar su existencia de mejor forma que utilizando un diagrama bidimensional como el de Aslyng.

Para ello, calculamos en función del pH el porcentaje de cada especie iónica presente en cada sistema y a continuación la actividad de cada uno de estos iones. Siguiendo un método de prueba y error y admitiendo que los sistemas problema que inicialmente contenían DCPD siguen poseyendo este fosfato en porcentaje dominante durante toda la reacción, calculamos el valor de la suma algebraica de los pK de las actividades de las especies iónicas  $\text{PO}_4\text{H}_2^-$  y  $\text{Ca}^{2+}$  en el medio. Si el valor del pK obtenido de esta forma es mayor que el valor teórico del menos logaritmo del producto de solubilidad del DCPD suponemos que en el medio existe un fosfato más insoluble y obtenemos la suma algebraica

de los pK de las actividades de las especies iónicas  $\text{PO}_4^-$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{H}^+$  en la forma conveniente, admitiendo que el fosfato existente en el medio es el OCP. Si el nuevo valor es mayor o menor que el teórico del OCP, admitiremos que el medio está gobernado por la presencia de un fosfato más insoluble que el OCP, o que el medio está sobresaturado respecto a este fosfato. En el primero de estos casos se vuelve a realizar el cálculo suponiendo que en el medio existe HA.

La tabla V recoge la expresión transformada de los productos de solubilidad de los tres fosfatos cálcicos que pueden formarse en los medios que inicialmente contenían DCPD así como los valores medios de los pK respectivos obtenidos para cada uno de los sistemas problema estudiados.

Estos datos muestran que los sistemas problema con caolinita poseen prácticamente un valor de su producto iónico, idéntico al teórico del producto de solubilidad del DCPD, por lo que debemos aceptar que este es el fosfato que predomina en el medio y que el OCP, existente en proporción similar a la mostrada en la figura 2a, no es suficiente como para influir en los resultados. La tabla V muestra a su vez que los otros tres minerales de la arcilla utilizados están en presencia de fosfatos más insolubles que el DCPD, pero sólo en el caso del sistema problema con ilita el fosfato dominante es el OCP, figura 2b, pues en esta ocasión

el valor medio del producto iónico correspondiente es casi idéntico al pK teórico del OCP, y en ocasiones, tiempo de reacción tres semanas, puede llegar a valores algo mayores, por ejemplo, 47,07, que indican un comienzo de formación de HA en el medio.

T A B L A V

*Expresión de los productos iónicos y de los productos de solubilidad teóricos de los fosfatos DCPD, OCP y HA (9), y valores medios de los productos de solubilidad obtenidos en los sistemas problema que inicialmente contenían DCPD*

$$\begin{aligned} \text{DCPD} \quad pK_{\text{DCPD}} &= p\text{Ca} + p\text{PO}_4\text{H} = 6,56 \\ \text{OCP} \quad pK_{\text{OCP}} &= 4 p\text{Ca} + 3 p\text{PO}_4 + p\text{H} = 46,91 \\ \text{HA} \quad pK_{\text{HA}} &\equiv 10 p\text{Ca} + 6 p\text{PO}_4 + 2 p\text{OH} = 113,71 \end{aligned}$$

Sistema problema	Productos de solubilidad		
	pK <sub>DCPD</sub>	pK <sub>OCP</sub>	pK <sub>HA</sub>
DCPD inicial-caolinita.....	6,55	45,12	94,19
DCPD inicial-montmorillonita.....	6,71	45,14	89,26
DCPD inicial-ilita.....	6,78	46,26	98,24
DCPD inicial-hidrobiotita.....	6,89	42,48	84,09

Este procedimiento propuesto, parece eliminar alguna de las incertidumbres inherentes al método de potenciales, pero no simplifica ni la parte analítica ni la de cálculo. Una simplificación apreciable en estos aspectos puede ser el método propuesto por Ponnampertuma (16) y Griffin y Jurinak (8), que permite estimar los coeficientes de actividad globales de los iones en solución acuosa o en extractos de suelo a partir de medidas de conductividad eléctrica.

R E S U M E N

Se han utilizado las soluciones provenientes de medios en que se suspendieron mezclas de minerales de la arcilla y fosfatos cálcicos estequiométricos, para estudiar la fiabilidad de la utilización del método de los potenciales químicos del fosfato monocálcico y del hidróxido cálcico aplicado a la determinación indirecta de la existencia de fosfatos de composición fija en sistemas heterogéneos, tales como los suelos de labor.

En el caso de medios en que existe gran cantidad de fosfato dicálcico (DCPD) precipitado, los potenciales de fosfato y calcio pueden oscilar entre 1,5 y 1,8 y entre 2,5

y 3,7, respectivamente. Se concluye, por tanto, que este método sólo tiene un valor orientativo.

Se prueba en las mismas suspensiones otro método más directo, consistente en calcular el producto de solubilidad medio de los fosfatos existentes en el sistema. Este método parece ser en algunos aspectos mejor que el de los potenciales en las condiciones experimentales del presente trabajo.

*Centro de Edafología y Biología Aplicada del Cuarto. Sevilla.*

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) ARAMBARRI, P. DE. 1964. Clases de fósforo inorgánico cambiabile isotópicamente en los suelos calizos. IV. El potencial de calcio y fosfato como índice de la clase de fosfatos presentes en los suelos calizos. *An. Edaf. y Agrob.*, XXIII, 533-546.
- (2) ARAMBARRI, P. DE, GONZÁLEZ GARCÍA, F. y GARCÍA DE LEÁNIZ, J. 1969. Interacción de cuatro minerales de la arcilla con ortofosfato monocálcico monohidrato. *An. Edaf. y Agrob.*, XXVIII, 881-894.
- (3) ARAMBARRI, P. DE, GONZÁLEZ GARCÍA, F. y GARCÍA DE LEÁNIZ, J. 1970. Interacción de cuatro minerales de la arcilla con ortofosfato dicálcico dihidrato. *An. Edaf. y Agrob.*, XXIX, 147-162.
- (4) ASLYNG, H. H. 1954. The lime and phosphate potentials of soils: the solubility and availability of phosphate. *Yearbook of the Roy. Veter. and Agric. College. Copenhagen*, 1-50.
- (5) BACHE, B. W. 1965. The thermodynamics of soil phosphate. *Soil phosphorus. Tech. Bull. Minist. Agric. Fish Fd. núm. 13*, 10-18. H. M. S. O., London.
- (6) BAILAR, J. E. (Editor). 1953. *Inorganic Syntheses*, vol. IV, 18, 19-20 y 63, Mc. Graw-Hill, N. Y.
- (7) BECKETT, P. T. H. 1964. Studies on soil potassium. Confirmation of the ratio-law. *J. Soil Sci.*, 15, 1-8.
- (8) GRIFFIN, R. A. y JURINAK, J. J. 1973. Estimation of activity coefficients from the electrical conductivity of natural aquatic systems and soil extracts. *Soil Sci.*, 116, 26-30.
- (9) JACOBS, T. 1964. Equilibres de solubilité et transformation des phosphates minéraux dans le sol. *Rev. de l'Agriculture*, 17, 1.
- (10) LARSEN, S. y COURT, M. N. 1960. The chemical potentials of phosphate ions in soil solutions. 7th Intern. Cong. Soil Sci. Madison, Wisconsin vol. II, 413-421.
- (11) LARSEN, S. y WIDDOWSON, A. E. 1970. Evidence of dicalcium phosphate precipitation in a calcareous soils. *J. Soil Sci.*, 21, 364-367.
- (12) MATTINGLY, G. E. G. 1965. The influence of intensity and capacity factors on the availability of soil phosphorus. «Soil Phosphorus». *Tech. Bull. Minist. Agric. Fish Fd.*, núm. 13, 1-9, H. M. S. O., London.
- (13) MENDEL, K. 1963. Untersuchungen über das «Kalium-Calcium-Potential». *Z. Pflanzener nähr. Düng. Bodenk.*, 103, 99-111.
- (14) NAGELSCHEIDT, G. y NIXON, H. L. 1944. Formation of apatite from superphosphate in the soil. *Nature*, 154, 428.
- (15) OERTLI, J. J. 1973. The use of chemical potentials to express nutrient availabilities. *Geoderma*, 9, 81-95.
- (16) PONNAMPERUMA, F. N., TIANCO, E. N. y LOY, T. A. 1966. Ionic strengths of the solutions of flooded soils and other natural aqueous solutions from specific conductance. *Soil Sci.*, 102, 408-413.
- (17) SCHOFIELD, R. K. 1949. Thermodynamic potentials of soil constituents. *Rothamsted Exp. Stn. Report.*, 29.

- (18) SCHOFIELD, R. K. 1955. Can a precise meaning be given to «available» soil phosphorus. *Soils Fer.*, 18, 373-375.
- (19) TROUG, E. y MEYER, A. H. 1929. Improvements in the Deniges colorimetric method of phosphorus and arsenic. *Indust. Engng. Chem. (Anal. Ed.)*, 1, 136.
- (20) TUCKER, B. M. 1959. Calcein as an indicator for the titration of calcium with ethylen-diaminetetra acetate. *Analyst.*, 82, 284-285.
- (21) ULRICH, B. 1963. Die Umsetzungen der anorganischen phosphate als Funktion des Kalkpotentials. *Z. Pflanzenernähr, Düng Bodenkd.*, 100, 97-102.
- (22) WILD, A. 1964. Soluble phosphate in soil and uptake by plants. *Nature*, 203, 326-327.
- (23) WOODRUFF, C. M. 1955. The energies of replacement of calcium by potassium in soils. *Soil Sci. Soc. Proc.*, 19, 167-171.

Recibido para publicación: 14-X-74



# NUEVAS INVESTIGACIONES SOBRE LA INOCULACION CRUZADA ENTRE LAS ESPECIES FIJADORAS DE NITROGENO *ALNUS GLUTINOSA* (L.) GAERTN. Y *MYRICA GALE* L.

por

F. BERMUDEZ DE CASTRO

## SUMMARY

NEW INVESTIGATIONS ON THE CROSS-INOCULATION BETWEEN THE NITROGEN-FIXING SPECIES *ALNUS GLUTINOSA* AND *MYRICA GALE*

An experiment has been carried out on soils to test for the possibility of a cross-inoculation between *Alnus glutinosa* and *Myrica gale*.

Forty four soil samples from the West of Spain were tested for their capability to nodulate both *Alnus* and *Myrica*. Seventeen soils out of twenty one from alder sites nodulated both alder and *Myrica*. The other four only nodulated alder deficiently.

The nodules, wherever formed showed to have the nitrogen-fixing ability, this deducted from the growth of the plants in a medium free of combined nitrogen.

Electron microscope studies of the nodules formed showed abundant septate hyphae and aberrant, irregular vesicular forms not described before for any of the two genera studied.

## INTRODUCCIÓN

Según la bibliografía existente (4) la inoculación cruzada entre especies de géneros distintos de plantas no-leguminosas noduladas no es viable, excepto en géneros pertenecientes a una misma familia, como ocurre entre *Elaeagnus*, *Hippophaë* y *Shepherdia*. Por tanto, no sólo existe variación en la morfología de los endófitos respectivos de estas plantas, puesta de manifiesto en los estudios de secciones de nódulos, sino también en su diferente poder infectivo.

Los investigadores de la fijación simbiótica de nitrógeno en plantas no-leguminosas están de acuerdo en que los endófitos nodulares del aliso (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) y del mirto de Bravante (*Myrica gale* L.) son actinomicetos. Estas dos especies han sido muy estudiadas por la escuela inglesa, por ser ejemplos típicos de plantas con raíces

noduladas muy comunes en la flora británica. Difieren entre sí por la estructura de sus nódulos y por la morfología y ciclo vital de sus respectivos endófitos (10). Así, los nódulos de *M. gale* presentan raíces nodulares con geotropismo negativo, lo cual no sucede en *A. glutinosa*. Por otra parte, el aliso es un árbol y el mirto de Bravante un arbusto. Si bien ambas plantas requieren una elevada humedad ambiental, debemos señalar que el aliso crece en suelos bien aireados, mientras que *Myrica* lo hace en suelos encharcados y pantanosos. Estas diferencias conducen a una distribución ecológica distinta. Se puede pensar, por tanto, que existen grandes diferencias en la fisiología de sus respectivas simbiosis.

Considerando todos estos factores, cabe esperar que una inoculación cruzada *Alnus* × *Myrica* no sea factible. En efecto, Fletcher (6) no obtiene nódulos en pruebas de inoculación cruzada entre dichos géneros.

Existen otros trabajos sobre inoculación cruzada entre especies de un mismo género, pero, con frecuencia, no conducen a una relación constante entre la nodulación obtenida y su función fijadora de nitrógeno (12, 14 y 15).

Según Rodríguez-Barrueco (15) en su estudio sobre la distribución del endófito de aliso en Escocia, los suelos que inducen nodulación en *Alnus* también nodulan *Myrica*. Sin embargo, no todos los suelos que inducen nodulación en *Myrica* son capaces de inducirla en *Alnus*. No se descarta, en el primer caso, la posibilidad de que las plantas de *Myrica* sean noduladas por su propio endófito. La amplia distribución de *Myrica* en la zona de muestreo puede ser la explicación de la presencia del endófito de *Myrica* en los suelos ensayados. Sin embargo, el hecho de que *Myrica* nodule mejor y en mayor proporción en los suelos recogidos donde crece el aliso sugiere, además de la posibilidad de que ambos endófitos estén presentes en un mismo suelo, que el endófito de *Alnus* nodula también *Myrica*. Esta coincidencia en los resultados obliga a examinar, de nuevo, la última posibilidad.

Puesto que no todos los suelos capaces de nodular *Myrica* nodulan *Alnus*, se presentan dos hipótesis: Por un lado, que el endófito de *Myrica* no tenga poder para nodular *Alnus* y, por otro, que el endófito de *Alnus* no prospere en los habitats propios de *Myrica*. Así, el pH de los suelos que nodularon solamente *Myrica*, en el experimento de referencia, está comprendido entre 3,5 y 3,8 y es probable que tal acidéz impida la nodulación de *Alnus*, cuyo pH óptimo es 5,4 (3).

Cuando se trata de interpretar los resultados anteriores, se debe tener en cuenta cómo penetra el endófito en la planta y cuáles son las sustancias implicadas en el proceso de nodulación.

Silver, Bendana y Powell (21) encuentran auxinas abundantes en los nódulos de aliso y no las encuentran en los nódulos del mirto de Bravante. La ausencia de auxinas en esta planta parece ser el factor



responsable del geotropismo negativo de sus raíces nodulares. Dado que las auxinas representan un papel primordial en la iniciación del nódulo, es muy probable que los resultados positivos, al emplear inóculos de aliso, se deba a la presencia de dichas sustancias. La falta de cultivos puros de los endófitos correspondientes obliga a inocular con macerados de nódulos, lo cual incluye el riesgo de la presencia de contaminantes superficiales. Por el momento, preparar un inóculo efectivo, libre de todo contaminante, es muy improbable, incluso considerando los resultados obtenidos por Lalonde y Fortin (11) en la obtención de nódulos axénicos.

En el presente trabajo tratamos de confirmar la posibilidad de una inoculación cruzada *Alnus* x *Myrica* mediante el método de cultivo, de las plantas a ensayar, en suelos procedentes de diversos lugares de la zona Oeste de España.

## MÉTODOS

### I. Germinación de las semillas

Semillas de *A. glutinosa*, recogidas directamente en los setos ribereños del río Tormes, en la provincia de Salamanca, y de *M. galè*, enviadas por el Prof. A. Fernández, del Jardín Botánico de Coimbra (Portugal), fueron esterilizadas superficialmente con hipoclorito cálcico y sembradas en vermiculita, humedecida con solución de Crone, fórmula libre de nitrógeno, a 1/4 de su concentración (16). La germinación de la semilla comenzó al cabo de un mes de la siembra.

### II. Recogida de muestras de suelos

Se retiró con una azadilla la zona superficial del suelo, estrato herbáceo y materia orgánica, y, procurando no tocar el suelo con las manos, se procedió a recoger la tierra con un bote de hojalata, esterilizado por calor seco durante seis horas a 150° C, hasta una profundidad de 10-15 cm., nivel en que el aliso y el mirto de Bravante tienen abundantes nódulos y, en consecuencia, debe ser el habitat preferido del endófito. La tierra se introdujo en bolsas de plástico nuevas.

En el laboratorio se llenaron cuatro macetas de barro rojo, de 11 centímetros de diámetro, esterilizadas en autoclave, con cada muestra, destinándose dos para aliso y otras dos para mirto de Bravante. Como algunos suelos procedían de zonas de baja fertilidad, se añadieron a cada tiesto 0,14 g. de  $PO_4HCA$  y 0,1 g. de  $SO_4K_2$  para evitar que la falta de nutrientes minerales perjudicase el crecimiento y la posible

T A B L A I

## Suelos ensayados

Núm.	Localidad	Provincia	pH	Uso actual y observacion e
1	La Pinilla .....	Salamanca	5.2	Labradío
2	Arapiles .....	»	7.0	Pastos
3	Mozárbez.....	»	4.3	Monte bajo
4	» .....	»	5.3	Pastos
5	» .....	»	6.2	Labradío
6	Beleña .....	»	7.6	Huerta
7	Fresno-Alhándiga .....	»	6.9	Pastos
8	La Maya .....	»	5.8	Chopera
9	Guijuelo .....	»	4.8	Labradío
10	Endrinal .....	»	5.7	Ladera con robles
11	Fuentes de Oñoro .....	»	5.6	Pinar
12	Linares de Riofrio.....	»	5.9	Alisos (río Alagón)
13	Alba de Tormes.....	»	6.6	Alisos (río Tormes)
14	Puente del Congosto ...	»	5.1	» »
15	Zorita.....	»	7.0	» »
16	La Maya .....	»	4.8	» »
17	La Serna.....	»	7.0	» »
18	Montemayor del Rio ...	»	4.4	Alisos (río Cuerpo de Hombre)
19	Baños de Montemayor..	Cáceres	5.6	Alisos (arroyo)
20	Plasencia.....	»	7.4	Alisos (río Jerte)
21	Cargüera.....	»	5.6	Alisos (arroyo de Gargüera)
22	Aldeanueva de la Vera .	»	5.5	Alisos (Cuacos)
23	Navaconcejo.....	»	5.2	Alisos (río Jerte)
24	Tornavacas (Puerto)....	Avila	5.3	Alisos (arroyo)
25	Gredos.....	»	5.5	Bosquete de abedules
26	Navacepeda de Tormes .	»	5.6	Bosquete de abedules
27	Mondego.....	Coruña	5.6	Prados con alisos
28	» .....	»	4.7	Aliseda
29	Cecebre .....	»	6.2	Prados con alisos
30	Guiliade.....	»	5.6	Alisos (río Mero)
31	Gandarío.....	»	4.7	Brañas con alisos
32	Sigüeiro.....	»	5.0	Alisos (río Longüelles)
33	La Esclavitud.....	»	4.4	Prados con alisos
34	Guitiriz.....	Lugo	4.8	Gándara de Boedo ( <i>Myrica gale</i> )
35	Sacedón .....	Guadalajara	7.9	Ladera con gayuba
36	Hoz de Beteta.....	Cuenca	8.1	Avellanos (río Guadiela)
37	Solán de Cabras.....	»	8.2	Jardín del Balneario
38	Monsaete .....	»	8.2	Pinar con gayuba
39	Torralba .....	»	8.1	Ladera de un camino
40	Alcázar del Rey.....	»	8.3	Labra
41	Tarancón.....	»	7.8	Ladera de un camino
42	Torrijos.....	Toledo	5.5	Pinar
43	Maqueda.....	»	7.4	Olivar con viñas
44	Escalona .....	»	6.1	Alisos (río Alberche)

nodulación. Se comprobó que la adición de estas sales, en las cantidades indicadas, no ejercía efecto apreciable sobre el valor del pH del suelo.

Los 44 suelos ensayados, según se reseña en la tabla I, corresponden a tierras cultivadas, praderas, huertas, choperas, bosquetes de abedules y avellanos, pinares, monte bajo, gándaras, laderas de caminos y tierras donde el aliso crece actualmente. Los suelos de aliso fueron recogidos en la base de árboles bien nodulados. Debemos señalar que no existen citas de *M. gale* en Salamanca, donde se han recogido la mayor parte de los suelos. Por tanto, la posibilidad de que los resultados se vean afectados por la presencia de ambos endofitos, el de *A. glutinosa* y el de *M. gale*, en el suelo es mínima.

### III. *Trasplante a los suelos*

Transcurridas cuatro semanas desde su germinación, se trasplantaron 8 plántulas de *A. glutinosa* y 3 de *M. gale* de las bandejas donde habían germinado a cada uno de los tiestos. Se colocaron en el invernadero intercalando macetas control con vermiculita y suelos esterilizados en autoclave. Se mantuvo una temperatura próxima a 20° C, óptima para la nodulación del aliso, y se regaron diariamente con agua destilada, procurando evitar contaminaciones por salpicaduras.

En estas condiciones permanecieron las plantas durante once semanas, al cabo de las cuales se cosecharon para proceder al recuento de nódulos.

### IV. *Estudios al microscopio electrónico*

Para observar la estructura fina de los nódulos formados se hizo uso del microscopio electrónico, para lo cual se fijó el material nodular en una solución acuosa de permanganato potásico al 2 por 100, a temperatura ambiente. A continuación fue deshidratado por pases sucesivos de quince minutos en alcohol del 25, 50, 75 y 100 por 100. Previa inmersión de quince minutos en óxido de propileno, se incluyó el material nodular en Araldite III. Se practicaron secciones de 700 Å con cuchilla de cristal en un ultramicrotomo LKB, siendo posteriormente observadas en un microscopio electrónico Philips EM 300.

## RESULTADOS

Con el paso del tiempo se observó que las hojas de algunas plantas presentaban un color verde intenso, índice de nodulación efectiva en sus raíces, que se puso de relieve de modo especial, cuando en un mismo tiesto coexistían plantas con hojas cloróticas en mayor o menor grado.

y plantas con hojas verdes. Sin embargo, hubo casos de plantas sin nódulos que no mostraron deficiencias nutricionales, sin duda debido a la buena fertilidad del suelo.

En el transcurso del experimento se logró eliminar las fuentes de contaminación externa, ya que todas las plantas control, 63 alisos y 21 mirtos de Bravante, permanecieron sin nódulos. La tabla II muestra los resultados obtenidos. Como se ve, existe cierto paralelismo entre el poder infectivo de un suelo dado para nodular *A. glutinosa* y *M. gale*, ocurriendo esto con mayor intensidad en los suelos procedentes de plantaciones de aliso. De los 21 suelos de aliso estudiados, 17 nodularon simultáneamente ambos géneros y el resto solamente aliso. De las tierras recogidas en lugares donde actualmente no hay alisos, 4 nodularon *A. glutinosa* y *M. gale*; 7 nodularon solamente *A. glutinosa* y 12 no mostraron capacidad noduladora. Debemos señalar que el porcentaje de nodulación en este grupo de suelos fue menor para ambos géneros y que, por otra parte, el tipo de tierra y la baja humedad relativa del invernadero crearon condiciones adversas para *M. gale*, manifestadas en el crecimiento deficiente de las plantas, algunas de las cuales murieron antes de la cosecha. Esto puede explicar también la falta de nodulación de *M. gale* en los suelos 2, 10, 13, 17, 24 y 42, contrario a lo que cabría esperar dado el alto porcentaje de nodulación conseguido por los alisos. No obstante debemos señalar que en estos suelos el crecimiento de ambas plantas fue deficiente y los nódulos de los alisos, muy pequeños y poco numerosos.

Si tenemos en cuenta los lugares donde fueron recogidas las muestras, observamos que las plantas objeto de nuestro estudio nodulan perfectamente con porcentajes de nodulación iguales o superiores al 50 por 100 en los 8 suelos de Galicia, región donde abunda el aliso y *M. gale* está citada (2). Asimismo, 13 suelos, procedentes de Salamanca, Cáceres, Avila, Guadalajara, Cuenca y Toledo, donde, según la bibliografía no existe *M. gale* y el aliso está confinado en ciertas orillas de los ríos, que tienen la propiedad de nodular aliso, también inducen nodulación en el mirto de Bravante.

Aunque no se han obtenido datos numéricos de fijación de nitrógeno atmosférico, por el color verde intenso de las hojas y el buen crecimiento de las plantas, se deduce que los nódulos formados eran efectivos. Con el fin de medir, en el momento oportuno, la cantidad de nitrógeno fijada, algunas de las plantas de *M. gale*, noduladas en suelos habitat de aliso, se trasplantaron a cultivos hidropónicos con solución de Crone sin nitrógeno. A los seis meses alcanzaron una altura media de 35 cm. que comparada con la media de 4 cm. de las plantas no noduladas confirma la existencia de un proceso fijador de nitrógeno en dichas plantas. Posteriormente fueron trasplantadas a macetas con perlábón regadas únicamente con agua del grifo, donde continúan cre-

TABLA II

*Plantas noduladas de Alnus glutinosa y Myrica gale  
crecidas en muestras de diferentes suelos*

Número	Nodulación		Porcentaje de nodulación	
	<i>A. glutinosa</i>	<i>M. gale</i>	<i>A. glutinosa</i>	<i>M. gale</i>
1	1/15	0/2	7	0
2	9/16	0/6	56	0
3	0/15	0/6	0	0
4	0/12	0/2	0	0
5	5/11	1/6	45	16
6	0/6	0/4	0	0
7	3/16	0/5	19	0
8	0/16	0/6	0	0
9	1/16	0/4	6	0
10	7/12	0/6	58	0
11	0/16	0/6	0	0
12	8/12	6/6	66	100
13	6/16	0/5	38	0
14	15/15	6/6	100	100
15	16/16	1/6	100	16
16	16/16	6/6	100	100
17	9/15	0/4	60	0
18	14/16	4/6	88	67
19	14/16	5/5	88	100
20	3/15	0/6	20	0
21	16/16	5/5	100	100
22	16/16	5/5	100	100
23	13/16	5/5	81	100
24	12/15	0/5	80	0
25	13/16	5/6	81	83
26	16/16	6/6	100	100
27	15/16	5/6	94	83
28	15/15	3/5	100	60
29	13/14	3/3	93	100
30	15/16	6/6	94	100
31	14/15	2/4	94	50
32	13/16	3/4	81	75

T A B L A I I (continuación)

Número	N o d u l a c i ó n		Porcentaje de nodulación	
	<i>A. glutinosa</i>	<i>M. gale</i>	<i>A. glutinosa</i>	<i>M. gale</i>
33	16/16	2/3	100	67
34	9/16	6/6	56	100
35	0/16	0/6	0	0
36	1/15	0/6	6	0
37	0/16	0/6	0	0
38	0/12	0/6	0	0
39	0/16	0/6	0	0
40	0/16	0/6	0	0
41	0/15	0/6	0	0
42	6/16	0/6	37	0
43	0/16	0/6	0	0
44	15/16	6/6	94	100
Control suelo	0/8	—	0	—
» »	0/8	—	0	—
» »	0/7	—	0	—
» »	0/8	—	0	—
» »	0/8	—	0	—
Control vermiculita	0/8	—	0	—
» »	0/8	—	0	—
Control Perlabón	0/8	—	0	—
Control suelo	—	0/3	—	0
» »	—	0/3	—	0
» »	—	0/3	—	0
Control vermiculita	—	0/3	—	0
» »	—	0/3	—	0
Control Perlabón	—	0/3	—	0
» »	—	0/3	—	0

Los controles se establecieron con suelos, perlabón y vermiculita, esterilizados en autoclave durante quince minutos.

ciendo sin presentar deficiencias nutricionales como se aprecia en la figura 1.



Fig. 1.—Plantas de *M. gale* noduladas en suelos de *A. glutinosa* a los dos años de crecimiento en ausencia de nitrógeno combinado. ( $\times 1/10$ .)

#### ESTUDIOS AL MICROSCOPIO ELECTRÓNICO

De las observaciones al microscopio electrónico se deduce que el endófito microbiano difiere del que habita normalmente en los nódulos de *M. gale*. Se aprecian vesículas tabicadas de estructura tan compleja como la que presenta el endófito del aliso, según Becking (1) y Gardner (8), si bien su forma no es esférica. En efecto, su aspecto es muy irregular adquiriendo formas aberrantes no descritas hasta ahora para un endófito de plantas no-leguminosas (fig. 2). Las subunidades, formadas dentro de las vesículas contienen zonas nucleoides, menos densas, características de un microorganismo procariótico que se presentan también en los filamentos tabicados. Estos últimos alcanzan un diámetro aproximado de  $0,5 \mu\text{m}$ . Las vesículas maduras tienen alrededor de  $1,6 \mu\text{m}$  de diámetro, es decir, son menores que las estructuras similares de los nódulos de aliso, donde alcanzan  $3 \mu\text{m}$  y están rodeadas de una capa gruesa de material capsular. Se originan, aparentemente, por fragmentación de las hifas. De su tamaño y contenido se puede deducir que el número de tabiques aumenta con la edad. También abundan las formas irregulares y aberrantes mostradas en la figura 3. En

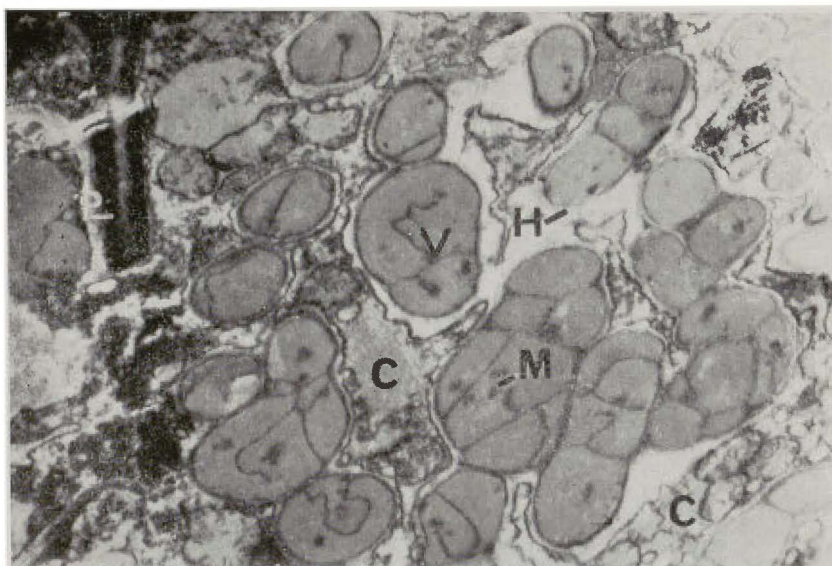


Fig. 2.—Vesículas e hifas irregulares y tabicadas del endófito microbiano en un citoplasma rico en subestructuras celulares. V: Vesículas; H: Hifas; M: Mesosomas; C: Citoplasma de la célula huésped; P: Pared celular de la célula huésped. ( $\times 22.120$ .)

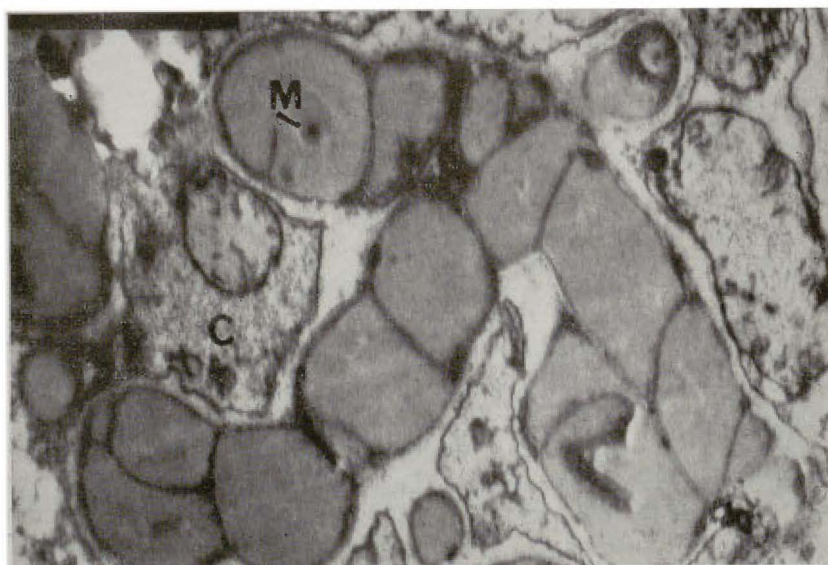


Fig. 3.—Hifas tabicadas, con formas aberrantes, en el citoplasma de una célula huésped. Nótese la presencia de mitocondrias. M: Mesosomas; C: Citoplasma de la célula huésped. ( $\times 43.680$ .)



la mayor parte de los casos estas formas coexisten con los orgánulos celulares del huésped vegetal abundando entre aquellos las mitocondrias.

## DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos, los suelos procedentes de lugares donde *A. glutinosa* crece actualmente y *M. gale* no ha sido citada tienen la capacidad de inducir nodulación en ambas especies. Los datos de la tabla II sugieren la posibilidad de que los endófitos de estas plantas pueden estar presentes en un mismo suelo y que tienen necesidades ecológicas parecidas.

El método de cultivo empleado se considera el óptimo para investigar la presencia de endófitos en el suelo, ya que las raíces, en su crecimiento, explorarán en su mayor parte la tierra y pueden llegar hasta los lugares en que se encuentran las formas vegetativas o resistentes de los microorganismos.

La hipótesis de que éstos viven saprófitos en el suelo es muy difícil de conciliar con los fracasos repetidos de los investigadores que han tratado de aislarlos en cultivo puro. Tal hecho puede implicar que los citados endófitos sean simbioses casi obligados y que sólo pueden crecer dentro de las raíces o, quizá, en inmediata proximidad. En el suelo se encontrarían como formas de resistencia que necesitan para su desarrollo la presencia de las raíces de una planta huésped.

Sin embargo, el método no permite observar el desarrollo del nódulo ni seguir el proceso de nodulación, pues, como se ha dicho, debido a la diferente fertilidad de los suelos ensayados, no existe una relación estricta entre el crecimiento normal de las plantas y la nodulación efectiva. Asimismo, como los suelos provienen de lugares diversos, la ausencia de nódulos en las plantas, cuando se cosechan, puede ser debido a la composición mineral, textura y pH inadecuados de ciertas muestras, que provocan condiciones desfavorables para la penetración del microorganismo en las raíces. Además, los factores complejos que existen en un suelo pueden modificar la población microbiana, favoreciendo el desarrollo de ciertas especies de microorganismos e impidiendo que otras crezcan debidamente y, por tanto, queda la duda de si los nódulos formados están inducidos por endófitos diferentes a los que se pretende estudiar. En esta misma línea de ideas, se ha demostrado recientemente (18) que las citoquininas poseen actividad paraseudonodular el aliso.

Todas estas fuentes de error no podrán ser eliminadas hasta que se consigan cultivos puros de los endófitos nodulares de las plantas no-leguminosas.

No obstante lo dicho al principio de esta Discusión, la ausencia de *M. gale* en las regiones donde se recogieron 21 muestras de suelos y la

semejanza de los resultados obtenidos con estas tierras y los conseguidos en los demás suelos respecto de su capacidad de infectar tanto *M. gale* como *A. glutinosa* sugiere extraordinariamente que un mismo endófito, el de *A. glutinosa*, presente en muchas de estas tierras, nodula ambas especies. Sin embargo, solamente con estos datos, es arriesgado afirmar que uno solo y el mismo endófito es el responsable de la nodulación en las dos especies estudiadas sin haber observado el aspecto que presenta en el interior de las células nodulares. Sabemos que los endófitos respectivos de *Alnus* y *Myrica* difieren entre sí en morfología y estructura (10). Mientras el endófito de *Alnus* es muy parecido al de *Hippophaë* y *Elaeagnus* (9), el endófito de los nódulos radiculares de *Myrica* muestra notables diferencias con los microorganismos simbiotes de los huéspedes mencionados.

Los cortes de los nódulos de *M. gale*, aparentemente habitados por el endófito de *A. glutinosa*, vistos al microscopio electrónico, muestran un microorganismo diferente al descrito en los nódulos normales de *M. gale* y de *M. cerifera* (19) y, en cambio, muy similar al microorganismo de los nódulos de aliso, si bien debemos señalar que no se han observado vesículas esféricas como en aquellos, sino formas irregulares aberrantes y a veces ovaladas. Asimismo se han visto estructuras irregulares tabicadas no descritas, hasta la fecha, para ninguno de los géneros estudiados. Tal hecho sugiere la influencia del huésped en la forma adoptada por un endófito que no es el suyo propio.

El fracaso de otros autores para tratar de inducir nodulación en *Myrica* con inóculos de aliso, creciendo las plantas en cultivos hidropónicos, pudiera estar ocasionado por la dilución excesiva de los inóculos. Fletcher no indica en su trabajo cuál fue la concentración de su inóculo; sin embargo, en otra publicación (7) sobre el desarrollo y estructura de los nódulos radiculares de *M. gale*, usa diluciones del 3,5 por 100. Rodríguez-Barrueco y col. (17) han logrado resultados positivos empleando inóculos más concentrados. Dichos autores atribuyen estos resultados a una hipotética contaminación superficial en los inóculos; pero, a juicio del presente autor, la explicación vendría dada por la mayor densidad de microorganismo en el inóculo que aumenta la probabilidad de contacto con la raíz y por el mayor aporte de factores de crecimiento que contribuyen a la penetración del microorganismo en los tejidos vegetales. Así, Silver, Bendana y Powell (21) demuestran que los nódulos de aliso son ricos en auxinas, sustancias que influyen en la deformación y curvatura de los pelos radiculares, requisito previo, confirmado por Thornton (22) para la entrada de *Rhizobium* en las raíces de leguminosas. Las diversas especies de *Myrica* estudiadas carecen de auxinas (20), lo que explicaría los resultados negativos cuando se ha intentado nodular aliso con inóculos procedentes de aquellas plantas.

Con respecto a la morfología externa, los nódulos inducidos en *M.*

*gale* por suelos de aliso son idénticos a los nódulos normales de *Myrica*, presentando en ambos casos raíces nodulares con geotropismo negativo.

A la luz de estos resultados parece interesante el fracaso de Roberg (13) en los intentos de inoculación cruzada entre *Alnus* e *Hippophaë*, cuyos respectivos endófitos son mucho más parecidos entre sí que los de *Alnus* y *Myrica*. Se pueden explicar los resultados negativos de Roberg, como indican Bond, Fletcher y Ferguson (5), por la diferencia entre el pH empleado y el pH óptimo para la nodulación de *Alnus* e *Hippophaë*.

De todo lo dicho, podemos deducir, provisionalmente, que *M. gale* entra en simbiosis con dos microorganismos diferentes: el de *A. glutinosa* y el suyo propio, dando lugar, en ambos casos, a la constitución de dos sistemas simbióticos fijadores de nitrógeno. En efecto, aunque no se ha medido el nitrógeno acumulado, por el aspecto general de las plantas, es evidente que la fijación de nitrógeno ha tenido lugar en cantidad muy notable en las plantas de *M. gale* noduladas en suelos de aliso.

#### Agradecimientos

El autor agradece al Dr. C. Rodríguez-Barrueco sus orientaciones para la realización del presente trabajo; al Prof. J. R. Villanueva las facilidades dadas para el uso del microscopio electrónico del Departamento de Microbiología de la Facultad de Ciencias de Salamanca, y a D.<sup>a</sup> M. A. Sánchez la valiosa ayuda técnica prestada.

#### RESUMEN

Se estudia la posibilidad de que el endófito simbiote de *Alnus glutinosa* nodule las raíces de las plantas de *Myrica gale* por medio de experimentos en los que se determina la incidencia de nodulación de plantas crecidas en invernadero en suelos procedentes de diversas zonas del Centro y Oeste de España.

Se ensayaron 44 suelos, entre ellos 21 tomados de la base de alisos, en lugares donde *M. gale* no está presente ni tampoco ha sido citada. De estos últimos, 17 nodularon tanto a *Alnus* como a *Myrica*. Los 4 suelos de aliso restantes nodularon sólo de forma deficiente al aliso.

Observando al microscopio electrónico la estructura fina de los nódulos formados en *M. gale* por un suelo habitat de aliso se ha visto un microorganismo de estructura compleja y formas irregulares nunca descritas hasta ahora para ninguno de los géneros estudiados. Se aprecian hifas y vesículas tabicadas en el interior de las células corticales de los nódulos.

Los nódulos formados benefician a las plantas, manifestado esto por su buen crecimiento en un medio desprovisto de nitrógeno combinado, razón por la que se sugiere que los nódulos formados son efectivos y capaces de fijar nitrógeno atmosférico.

Laboratorio de Microbiología del Suelo,  
Centro de Edafología y Biología Aplicada, Salamanca.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) BECKING, J. H. 1966. Interactions nutritionnelles plantes-Actinomycètes. Rapport général. Ann. Inst. Pasteur, 111, 211-246.
- (2) BELLOT, F. 1966. La vegetación de Galicia. An. Jard. Bot., Madrid, 24, 5-306.
- (3) BOND, G. 1951. The fixation of nitrogen associated with the nodules of *Myrica gale* L. with special reference to its pH relation and ecological significance. Ann. Bot., Lond., N. S., 15, 447-459.
- (4) BOND, G. 1963. The root-nodules of non-leguminous angiosperms. In Symbiotic Associations, 13th Symposium Soc. gen. Microbiol., Nutman, P. S. and Mosse, B., Eds. Cambridge.
- (5) BOND, G., FLETCHER, W. W. and FERGUSON, T. P. 1954. The development and function of the root nodules of *Alnus*, *Myrica* and *Hippophaë*. Plant and Soil, 5, 309-323.
- (6) FLETCHER, W. W. 1953. Ph. Thesis. University of Glasgow.
- (7) FLETCHER, W. W. 1955. The Development and Structure of the Root-Nodules of *Myrica gale* L., with Special Reference to the Nature of the Endophyte. Ann. Bot., N. S. 19, 501-513.
- (8) GARDNER, I. C. 1965. Observations on the Fine Structure of the Endophyte of the Root Nodules of *Alnus glutinosa* (L.) Gaertn. Arch. Mikrobiol., 51, 365-383.
- (9) GATNER, E. M. S. and GARDNER, I. C. 1970. Observations on the Fine Structure of the Root Nodule Endophyte of *Hippophaë rhamnoides* L. Arch. Mikrobiol., 70, 183-196.
- (10) HAWKER, L. E. and FRAYMOUTH, J. 1951. A re-investigation of root-nodules of species of *Elaeagnus*, *Hippophaë*, *Alnus* and *Myrica*, with special reference to the morphology and life histories of the causative organisms. J. gen. Microbiol., 5, 369-386.
- (11) LALONDE, M. et FORTIN, J. A. 1972. Formation de nodules racinaires axéniques chez *Alnus crispa* var. *mollis*. Can. J. Bot., 50, 2597-2600.
- (12) MACKINTOSH, A. M. and BOND, G. 1970. Diversity in the nodular endophytes of *Alnus* and *Myrica*. Phytion, 27, 79-90.
- (13) ROBERG, M. 1934. Über den Erreger der Wurzelknöllchen von *Alnus* und *Elaeagnaceen* *Elaeagnus* und *Hippophaë*. Jahrb. wiss. Bot., Bd., 79, 472-492.
- (14) RODRÍGUEZ-BARRUECO, C. 1966. Fixation of nitrogen in root-nodules of *Alnus jorullensis* H. B. K. Phytion, 23, 103-110.
- (15) RODRÍGUEZ-BARRUECO, C. 1968. The occurrence of the root-nodule endophytes of *Alnus glutinosa* and *Myrica gale* in soils. J. gen. Microbiol., 52, 189-194.
- (16) RODRÍGUEZ-BARRUECO, C. 1971. Efecto del nitrógeno combinado sobre el desarrollo nodular y crecimiento de *Elaeagnus angustifolia* L. An. Edaf. Agrobiol., 30, 149-161.
- (17) RODRÍGUEZ-BARRUECO, C. and BOND, G. 1974. A discussion of the results of cross-inoculation trials between *Alnus glutinosa* and *Myrica gale*. Proc. Meeting Biological N-fixation. IBP. Edinburgo. (In press.) Cambridge. Univ. Press.
- (18) RODRÍGUEZ-BARRUECO, C. and BERMÚDEZ DE CASTRO, F. 1973. Cytokinin-induced pseudonodules on alder. Physiol. Plant., 29, 277-280.
- (19) SILVER, W. S. 1964. Root nodule symbiosis. I. Endophyte of *Myrica cerifera* L. J. Bact., 87, 416-421.
- (20) SILVER, W. S., BENDANA, F. E. and POWELL, R. D. 1966. Root-nodule symbiosis. II. The relation of auxin to root geotropism in roots and root nodule of non-legumes. Physiol. Plant., 19, 207-218.
- (21) THORNTON, H. G. 1952. A discussion on symbiosis involving micro-organisms. Proc. Roy. Soc. B., 139, 170-207.

# EFFECTO DE LA APLICACION DE FERTILIZANTES POTASICOS SOBRE LAS RELACIONES Q/I

p o r

V. HERNANDO y J. A. DIEZ

## S U M M A R Y

### EFFECT OF POTASIAM FERTILIZERS APPLICATION ON THE Q/I RELATIONS

It is studied the variations produced in the disponibility of K in the soils, according to the application of different dose of a potassium fertilizer.

With this aim, we have determined the parameters  $AR_p^K$ ,  $-\Delta K^o$  and  $PBC^K$  from the Q/I relation, in plants citrus soils of Levante spanish region treated with several levels of a fertilizer.

Besides that, we have studied the relation between the intensity, quantity, capacity factors and both the different types and percent composition of the mineral clays in the soil.

It is demonstrated, that the  $PBC^K$  is an intrinsic characteristic of the soils and it does not change with the amount of the fertilizer application.

The  $AR_p^K$  and  $-\Delta K^o$  parameters increased with the increasing of the level of fertilizer applied, but it does not increase in a proportional form.

## I N T R O D U C C I Ó N

En numerosos suelos citrícolas de naturaleza semiárida es un hecho frecuentemente comprobado la falta de respuesta a la fertilización potásica. Esta circunstancia puede ser atribuida: a la presencia de grandes reservas de potasio acumulado bajo condiciones de incompleto lavado, desecación incompleta, y también a la presencia de minerales de arcilla que contienen potasio.

Si tratamos de mejorar las bases en las cuales se funda la evaluación de las dosis de fertilizantes potásicas que es preciso aplicar a cada suelo, debemos poseer un conocimiento profundo de los distintos factores que controlan el estado de dicho elemento: Cantidad (Q), Intensidad (I) y Capacidad (Q/I).

Una medida del factor intensidad es la dada por Schuffer y Ulrich (8) mediante la relación de actividades  $a_K / \sqrt{a_{Ca} + Mg}$  de una solución que

se encuentra en equilibrio con el suelo, por lo cual se denomina razón de actividad de potasio en equilibrio ( $AR_e^K$ ).

A partir de esta idea, Beckett (2) consideró que la determinación de la intensidad inmediata (conjunto de formas lábiles de potasio) no era suficiente para poder estudiar la dinámica del potasio en el suelo, sino que era necesario recurrir a la determinación de los otros parámetros que la controlan. Para ello desarrolló una técnica que permite obtener el factor cantidad ( $Q$ ), tratando al suelo con concentraciones variables de potasio para de esta forma poder determinar el potasio adsorbido o liberado, una vez que se alcanza el equilibrio.

La relación entre ambos factores, cantidad ( $Q$ ) e intensidad ( $I$ ), permite la obtención de unas curvas ( $Q/I$ ), a partir de las cuales pueden determinarse fácilmente los distintos parámetros que controlan el estado del potasio en el suelo.

Según las experiencias de Beckett (2) y Le Roux (4), dentro de ciertos límites, las curvas  $Q/I$  presentan una forma característica para todos los suelos examinados, mostrándose a este respecto independientes de la concentración de calcio y magnesio, de la relación suelo/solución, tiempo de equilibrio y de las variaciones de potasio y calcio de saturación (5).

Una curva  $Q/I$  típica se muestra en la figura 1. La pendiente de la porción lineal de esta curva,  $\Delta Q/\Delta I$ , es definida por Beckett (2) como la cantidad de potasio lábil que puede ser movilizada antes de alcanzar la razón de actividad de equilibrio ( $AR_e^K$ ) y se denomina Capacidad Potencial Buffer ( $PBC^K$ ), ya que representa la capacidad tampón que tiene el suelo para mantener su  $AR^K$  (factor intensidad), frente al agotamiento.

Extrapolando la porción lineal de la curva, hasta cortar al eje de ordenadas ( $AR^K = 0$ ), se obtiene un parámetro que da idea de la cantidad o conjunto de formas lábiles de potasio presente el suelo ( $-\Delta K^0$ ).

La porción curva de la relación  $Q/I$ , según Beckett (2), corresponde al potasio específicamente combinado.

El objeto del presente trabajo ha sido estudiar cómo se modifican las curvas  $Q/I$ , así como los parámetros que se relacionan con ellas, cuando se aplican diversas dosis de fertilizantes en algunos suelos citrícolas de Levante.

#### MATERIALES Y MÉTODOS

Las características físicas y químicas de los suelos elegidos se presentan en la tabla 1.

Los análisis se realizaron siguiendo los métodos adoptados por el Departamento de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal (\*).

(\*) Instituto de Edafología y Biología Vegetal de Madrid.

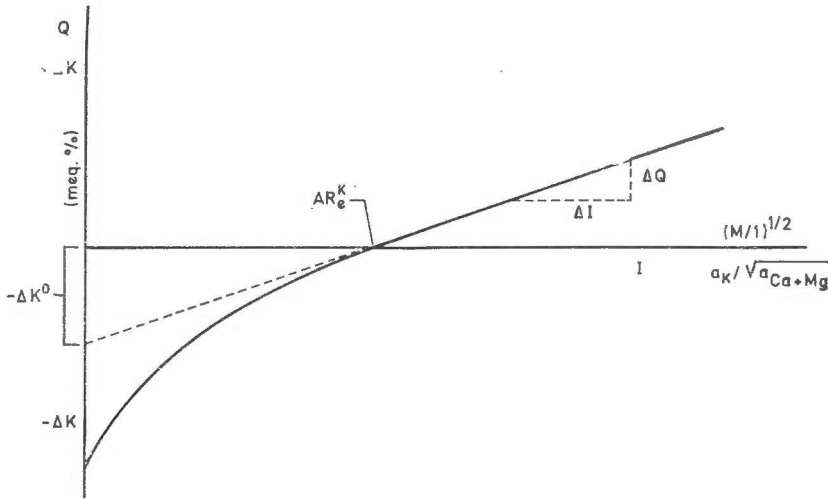


Fig. 1. — Una relación Q/I característica

### 2.1. Incubación de los suelos

Ochocientos gramos de cada suelo fueron colocados en tiestos de plástico, e incubados en invernadero durante dos meses, aplicándose riegos a 1/3 de su capacidad de campo, alternados con períodos de desecación con el objeto de reproducir de este modo las condiciones naturales.

Las dosis de fertilizante potásico aplicadas a cada suelo en forma de  $K_2SO_4$  fueron las siguientes:

$$\begin{array}{ll} K_0 = \text{testigo} & K_1 = 81.7 \text{ Kgs/Ha.} \\ K_2 = 164.4 \text{ Kgs/Ha.} & K_3 = 245.1 \text{ Kgs/Ha.} \\ & K_4 = 326.8 \text{ Kgs/Ha.} \end{array}$$

### 2.2. Caracterización mineralógica de las arcillas

La composición mineralógica de las arcillas presentes en los suelos se determinó mediante difracción de rayos X, utilizando un anticátodo de cobre y unas condiciones de excitación de 20 mA. y 36 KV.

### 2.3. Determinación de los factores cantidad (Q), intensidad (I) y de la relación Q/I

Fue utilizado el método descrito por Le Roux y Sumner (7) a partir del de Beckett (2), con algunas modificaciones. Distintas cantidades de

TABLA 1

*Características físicas y químicas de los suelos*

Suelos número	Localidad	A. G. %	A. F. %	Limo %	Arcilla %	pH		M. O. %	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> %	meq/100 gr.		mgr/100 gr. *	
						H <sub>2</sub> O	KCl			Ca	Mg	P <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	K <sub>2</sub> O
1	Picassent.....	12,3	43,6	14,8	29,2	7,75	7,15	2,77	27,0	12,2	0,86	23,0	70,0
2	Museros .....	10,2	64,3	8,0	17,4	7,75	7,25	1,72	34,0	10,5	0,61	100,0	21,0

\* Asimilable.



suelo, pasadas por malla de  $< 2$  mm., según aparece en la tabla 2, fueron pesadas e introducidas en tubos de centrifuga de 100 ml. junto con 50 ml. de una solución de  $\text{CaCl}_2$  0,002 M que contenía diferentes cantidades de KCl (ver tabla 2). Los tubos de centrifuga tapados se colocaron en un agitador rotatorio situado en una cámara a  $20^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ . El equilibrio se alcanzó al cabo de veinte horas de agitación a 20 r. p. m. Posteriormente centrifugamos las muestras ( $20^\circ\text{C}$ ) a 1.500 r. p. m. durante tres minutos. En la solución sobrenadante, se determinó potasio y calcio por espectrofotometría de llama, y magnesio por espectrofotometría de absorción atómica.

TABLA 2

*Procedimiento para estudiar las relaciones Q/I*

Número tubo	grs. de suelo	Concentración KCl añadida M/l *
1	7	0,0010
2	7	0 0007
3	7	0,0005
4	7	0,0002
5	4,75	—
6	1,50	—
7	0,50	—
8	0 30	—

\* Soluciones en 0,002 M de  $\text{CaCl}_2$ .

En la determinación del factor intensidad, se utilizaron directamente las concentraciones y no las actividades, siguiendo la idea de Hagin (3), ya que se trata de soluciones muy diluidas.

A partir de las diferencias entre las concentraciones de potasio iniciales y finales, en la solución del líquido sobrenadante, se calculó en cada suspensión la cantidad de potasio adsorbida o liberada por el suelo al alcanzar el equilibrio ( $\pm \Delta \text{K meq./100 grs. de suelo}$ ).

Representando los valores de  $\text{AR}^{\text{K}}$  frente a los de  $\pm \Delta \text{K}$ , para cada submuestra de suelo equilibrada, se obtuvieron las curvas Q/I y a partir de éstas los diferentes parámetros  $\text{AR}_e^{\text{K}}$ ,  $-\Delta \text{K}^0$  y  $\text{PBC}^{\text{K}}$ , que definen el estado del potasio en el suelo.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la tabla 3 aparece la composición mineralógica de la fracción arcilla correspondiente a cada suelo. Puede observarse como el suelo 1 muestra un pequeño contenido en ilita y trazas de caolín. Por el contrario, el suelo 2 contiene una proporción importante de ilita y clorita, minerales ambos de elevada capacidad de cambio. Sin embargo, el hecho de que sea precisamente el primero de los suelos el que presenta las mayores reservas de potasio, parece ser debido a su más alto contenido en arcilla total (tabla I).

TABLA 3

*Composición mineralógica de la fracción arcilla*

Suelos	Caolín	Clorita	Iilita
1	+	-	++
2	-	++	+++

+, trazas; ++, poco; +++, bastante; +++++, mucho.

En la tabla 4 se presentan los valores de potasio adsorbido o liberado, así como las concentraciones de Mg, Ca y K en el líquido sobrenadante, después de alcanzar el equilibrio, correspondientes a los suelos sin tratamiento, a partir de cuyos datos fueron calculados los factores Q e I. Determinaciones análogas fueron realizadas con los suelos incubados con cada uno de los niveles de potasio.

Los valores de  $\Delta K$ , correspondientes al suelo 1, presentan en su totalidad valores negativos, lo cual nos indica que la capacidad potásica que presenta este suelo es superior a la concentración de potasio añadida a la solución, dando lugar a una liberación de potasio a partir del suelo, una vez alcanzado el equilibrio. Por el contrario, el suelo 2 presenta valores de  $\Delta K$ , positivos y negativos.

Por otra parte se observa que el suelo 2 presenta en general valores más bajos del parámetro  $AR^K$  (factor intensidad) que los obtenidos para el suelo 1.

Las figuras 2 y 3 muestran las curvas Q/I obtenidas para ambos suelos. En ellas se observa una forma similar a las obtenidas por Beckett (2), Le Roux y Sumner (7) y otros.

Las relaciones Q/I, correspondientes al suelo 1 sin fertilizar e incubado con diversos niveles de fertilizante potásico, aparecen en la figu-

T A B L A 4

Valores de Q y de I en las diferentes extracciones de cada uno de los suelos

Suelos	Suelo/sol.	K añadido M/l	K sobrena- dante M/l	Q (Δ K) meq. %	Ca sobrena- dante M/l	Mg sobrena- dante M/l	I (K) / (Ca+M)
1	7/50	0,0010	0,00122	- 0,157	0,00074	0,00041	0,0359
	7/50	0,0007	0,00107	- 0,264	0,00064	0,00039	0,0334
	7/50	0,0005	0,00102	- 0,371	0,00079	0,00039	0,0297
	7/50	0,0002	0,00081	- 0,428	0,00059	0,00037	0,0262
	4,75/50	—	0,00048	- 0,500	0,00029	0,00030	0,0239
	1,50/50	—	0,00030	- 1,000	0,00049	0,00019	0,0115
	0,50/50	—	0,00012	- 1,200	0,00059	0,00009	0,0046
	0,30/50	—	0,00007	- 1,300	0,00029	0,00006	0,0034
2	7/50	0,0010	0,00089	+ 0,078	0,00094	0,00036	0,0247
	7/50	0,0007	0,00063	+ 0,050	0,00044	0,00032	0,0229
	7/50	0,0005	0,00048	+ 0,014	0,00029	0,00034	0,0191
	7/50	0,0002	0,00040	- 0,142	0,00034	0,00030	0,0111
	4,75/50	—	0,00020	- 0,211	0,00069	0,00029	0,0063
	1,50/50	—	0,00010	- 0,333	0,00049	0,00013	0,0040
	0,50/50	—	0,00005	- 0,500	0,00029	0,00005	0,0027
	0,30/50	—	0,00003	- 0,633	0,00049	0,00006	0,0016

T A B L A 5

Parámetros  $AR_e^K$ ,  $PBC^K$  y  $-\Delta K^o$  de los suelos naturales e incubados con diversas dosis de fertilizantes

Suelos	Tratamientos	$AR^K$ (moles/l) $^{1/2}$	$PBC^K$	$-\Delta K^o$ meq/100 gr.
1	$K_0$	0,0420	25,0	1,12
	$K_1$	0,0485	25,0	1,26
	$K_2$	0,0520	25,0	1,35
	$K_3$	0,0555	25,0	1,42
	$K_4$	0,0590	25,0	1,48
2	$K_0$	0,0180	15,3	0,25
	$K_1$	0,0265	15,3	0,41
	$K_2$	0,0318	15,3	0,51
	$K_3$	0,0350	15,3	0,58
	$K_4$	0,0398	15,3	0,61

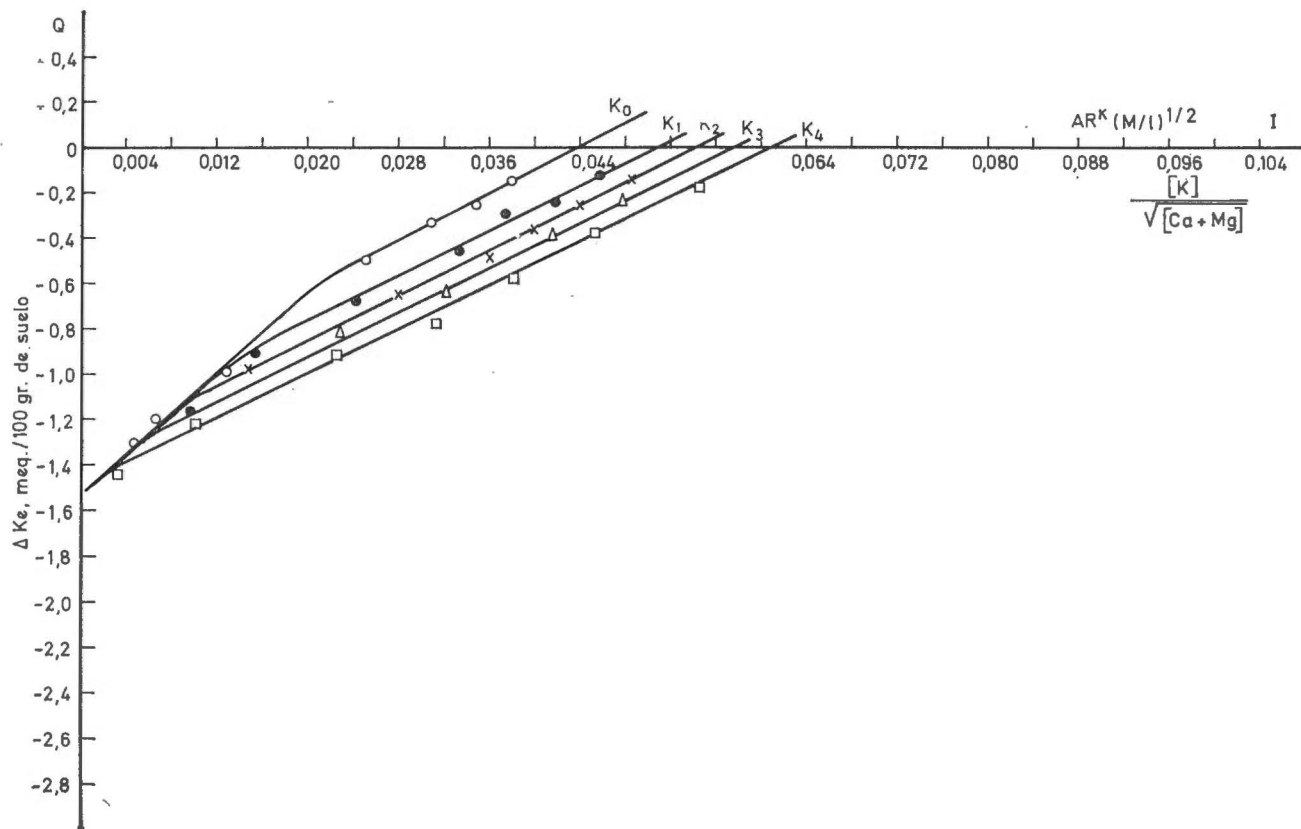


Fig. 2 —Relaciones Q/I del suelo 1 con diferentes tratamientos potásicos

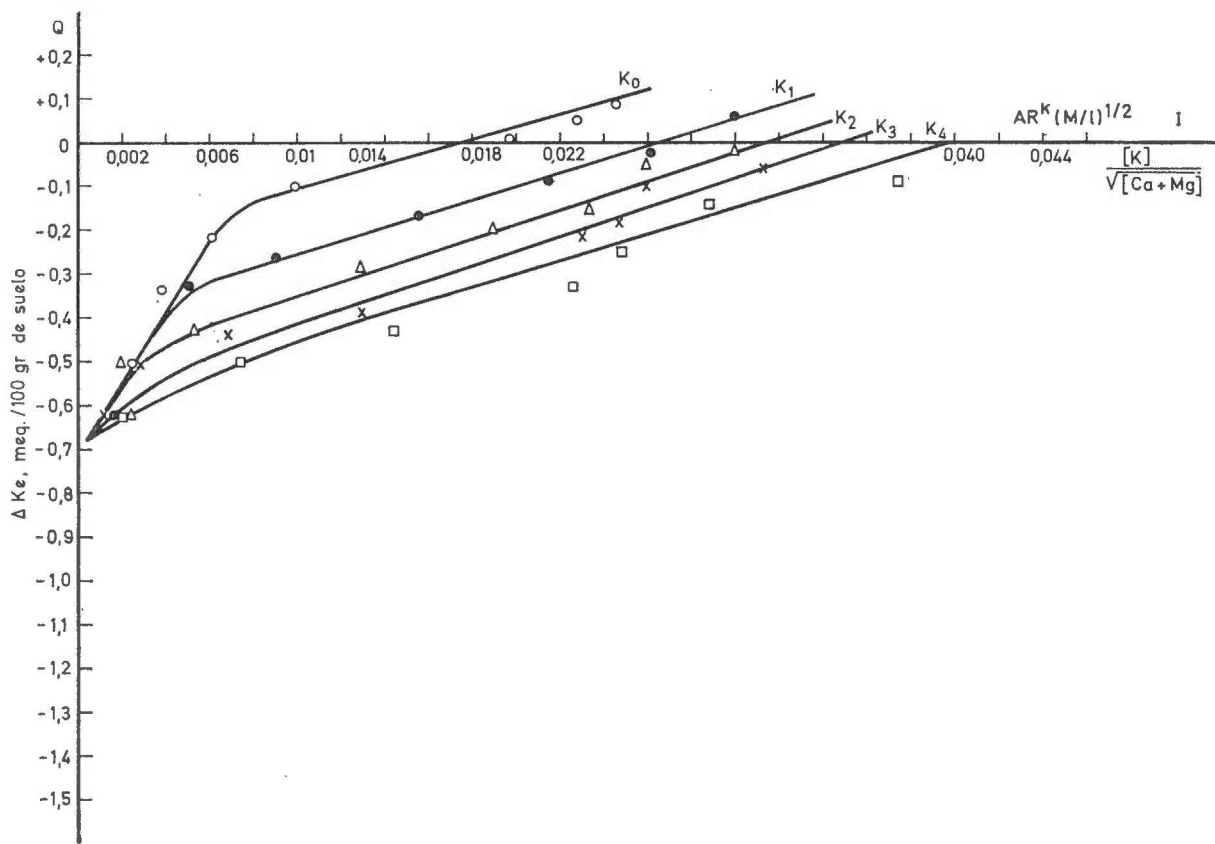


Fig. 3.—Relaciones Q/I del suelo 2 con diferentes tratamientos potásicos

ra 2. Los valores obtenidos para los correspondientes parámetros se presentan en la tabla 5. Como puede observarse, la administración de fertilizantes potásicos hace que tanto la razón de actividad de potasio en equilibrio ( $AR_e^K$ ) como el conjunto de formas lábiles de potasio del suelo ( $-\Delta K^o$ ) aumenten a medida que lo hacen las dosis de fertilizante. Sin embargo, dicho aumento no se produce de una forma proporcional a la dosis añadida, ya que mientras una aplicación de potasio a nivel  $K_1$  (81,7 Kgs/Ha.) produce un aumento en  $AR_e^K$  de 0,0065  $(M/1)^{1/2}$  y en el conjunto lábil ( $-\Delta K^o$ ) de 0,14 meq. %, una aplicación a nivel  $K_4$  (326,8 Kgs/Ha.) determinó un aumento en el  $AR_e^K$  de 0,0170  $(M/1)^{1/2}$ , mientras que en el conjunto lábil ( $-\Delta K^o$ ) fue de 0,36 meq. %. Estos resultados se hayan de acuerdo con los obtenidos por Le Roux y Sumner (6), ya que dichos autores han encontrado una buena correlación entre el potasio aplicado a los suelos y el conjunto de formas lábiles de potasio.

Por otra parte, la capacidad del suelo para mantener el  $AR^K$  durante la continua extracción ( $PBC^K$ ) se mantuvo constante a pesar de la aplicación de dosis crecientes de fertilizante potásico. Los trabajos de Acquaye y Mc Lean (1) y Le Roux y Sumner (6) muestran a este respecto que los valores de  $PBC^K$  (valor de la pendiente del tramo recto de la curva) se encuentran directamente relacionados con el contenido y tipo de arcilla, lo que a su vez condiciona el grado de fijación en que se haya el potasio en el suelo.

En la figura 3 aparecen representadas las relaciones  $Q/I$ , correspondientes al suelo 2, el cual dispone de un menor contenido en potasio ( $-\Delta K^o = 0,25$  meq. %) que el anterior. Por el contrario, su respuesta a la fertilización potásica es más evidente, ya que la misma aplicación de dicho elemento a nivel  $K_1$  produce un aumento en el  $AR_e^K$  de 0,0085  $(M/1)^{1/2}$  y en el conjunto lábil ( $-\Delta K^o$ ) de 0,26 meq. %. A mayores dosis, como por ejemplo a nivel  $K_4$ , el  $AR_e^K$  aumentó en este suelo 0,0418  $(M/1)^{1/2}$ , cantidad bastante superior a la obtenida para el suelo anterior.

Los valores encontrados en ambos suelos para el parámetro  $AR_e^K$  como una medida del potasio inmediatamente disponible están dentro de los márgenes señalados por Woodruff (9) como necesarios para obtener una nutrición potásica adecuada para las plantas (entre 0,0027 y 0,034  $(M/1)^{1/2}$ ).

Por lo que respecta al conjunto de formas lábiles, la aplicación del nivel  $K_4$  de fertilizante potásico produjo un aumento en dicho parámetro similar al obtenido para el suelo 1 (0,36 meq. %).

En cuanto al parámetro  $PBC^K$ , este segundo suelo presenta un valor sensiblemente inferior (15,3), pero al igual que en el caso anterior, dicho valor se mantiene constante con aplicaciones de dosis crecientes de fertilizantes. Esto nos indica que el factor capacidad es una característica

intrínseca del suelo y no se modifica por aplicaciones de fertilizantes potásicos, al menos en este intervalo.

Cuando la pendiente del tramo recto de la relación Q/I ( $PBC^K$ ) presenta valores más bajos, al aplicar dosis crecientes de fertilizantes se aprecia un aumento más acusado de los valores correspondientes al parámetro  $AR_e^K$  (potasio inmediatamente disponible) que del conjunto de formas lábiles ( $-\Delta K^o$ ) propiamente dicho.

Si la parte inferior de la curva corresponde según Beckett (2) a una pequeña liberación de potasio específicamente combinado (posiblemente situado en los espacios hexagonales que quedan entre las láminas de arcilla), estas porciones de la curva se van reduciendo progresivamente a medida que aumentan las dosis aplicadas de fertilizante.

De todo lo expuesto se deduce que la utilización de los parámetros obtenidos a partir de la relación Q/I resultan de gran utilidad para conocer el estado del potasio en el suelo, así como para poder estudiar las reacciones consecutivas a la aplicación de fertilizantes potásicos.

#### RESUMEN

Se estudiaron las variaciones que se producen en la disponibilidad del K en los suelos, como consecuencia de la aplicación de diferentes dosis de fertilizante potásico.

Con este fin se determinaron los parámetros  $AR_e^K$ ,  $-\Delta K^o$  y  $PBC^K$  a partir de las relaciones Q/I, en suelos dedicados a plantaciones de cítricos en el Levante español tratadas con diversos niveles de fertilización.

Asimismo ha sido estudiada la relación existente entre los factores intensidad, cantidad y capacidad con el porcentaje y clases de arcilla.

Se demuestra que el  $PBC^K$  es una característica intrínseca de los suelos y no varía con la aplicación de fertilizantes.

El  $AR_e^K$  y  $-\Delta K^o$  aumentaron a medida que lo hicieron los niveles de fertilizante aplicado, pero no de una forma proporcional.

*Instituto de Edafología y Biología Vegetal, C. S. I. C., Madrid.*

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) ACQUAYE, D. K., Mc LEAN, A. S. 1966. Potassium potential of some selected soils. *Can. J. Soil Sci.*, 46, 177-185.
- (2) BECKETT, P. H. T. 1964. Studies on soil potassium. II. The immediate Q/I relations of labile potassium in the soil. *J. Soil Sci.*, 15, 9-23.
- (3) HAGIN, J., FEINGENBAUM, S. 1962. Estimation of available potassium reserves in soils. *Potassium Symposium*, 219-27.
- (4) LE ROUX, J. 1966. Studies on ionic equilibria in Natal soils. Unpublished Ph. D. thesis. University of Natal.
- (5) LE ROUX, J., SUMNER, M. E. 1968. Labile potassium in soils. I. Factors affecting the quantity-intensity (Q/I) parameters. *Soil Sci.*, 106, 35-41.
- (6) LE ROUX, J., SUMNER, M. E. 1968. Labile potassium in soils. II. Effect of fertilization and nutrient uptake of the potassium status of soils. *Soil Sci.*, 106 331-337.

- (7) LE ROUX, J., SUMNER, M. E. 1969. The assesment of the potassium status of Natal soils. *Agrochemophysica*, 1, 31-42.
- (8) SCHUFFER, F., ULRICH, B. 1962. Considerations regarding the availability to plants of soil potassium. *Potash. Rev.* oct. 1962.
- (9) WOODRUFF, C. M. 1955. The energies of replacement of calcium by potassium in soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 19, 167-171.

Recibido para publicación: 14-X-74



# DISTRIBUCION Y CARACTERISTICAS DE LOS SUELOS SALINOS DE LA ISLA DE TENERIFE

por

V. PEREZ GARCIA, E. FERNANDEZ CALDAS y V. GARCIA

## SUMMARY

### DISTRIBUTION AND CHARACTERISTICS OF THE SALINE SOILS OF THE ISLAND OF TENERIFE

The authors made a general survey of the salinity and alkalinity problems in the Southern and Occidental regions of the Island of Tenerife. They found, different proportions of saline, saline-alkaline and alkaline soils in four differentiated zones. The chemical characteristics of these soils and conductivities are studied.

En los suelos de las regiones áridas de las islas, se observan características salinas que reducen el valor y la productividad de extensas zonas agrícolas en estas regiones.

La amplitud de estas zonas oscila desde pequeñas superficies aisladas hasta extensiones considerables, y se encuentran perfectamente localizadas a lo largo de las regiones Sur y costeras de las Islas Canarias.

Dada la gran importancia económica de estos problemas por el carácter de la agricultura de Canarias, y la necesidad de conservar la reducida superficie de que se dispone en las islas para dedicar a este tipo de agricultura intensiva, se hace necesario efectuar reconocimientos en estas zonas para estudiar sus características y determinar los tratamientos a que deben someterse para mejorar en ellos la producción agrícola. Al mismo tiempo es interesante estudiar hasta qué punto estos problemas son inherentes al propio suelo o se han desarrollado por falta de control en las condiciones de cultivo.

Con estos estudios se pretende llegar a un mejor conocimiento de estos problemas que, a su vez, permitan mejorar la productividad en las zonas salinas y alcalinas de estas regiones áridas.

La isla de Tenerife, como la mayor parte de las islas del Archipiélago, se puede dividir en dos zonas climáticas perfectamente diferenciadas: una zona Norte que se beneficia de los vientos húmedos septen-

trionales denominados vientos alisios y la zona Sur a la que no llegan sus efectos.

Estos vientos, que llegan saturados de humedad, chocan con la cordillera central de la isla, que se extiende de Este a Oeste, provocando en la vertiente Norte abundantes precipitaciones y formaciones de nubes en altitud. Por el contrario, este fenómeno no se presenta en la vertiente Sur, al imposibilitar este macizo montañoso el paso de estos vientos.

Estas zonas climáticas se diferencian, pues, claramente: la vertiente Norte húmeda y fresca, y la Sur seca y cálida. No obstante, y tal como se observa en la figura 1, la zona árida y seca comprende la totalidad del Sur y gran parte de la zona Oeste de la isla, que son las regiones donde con más frecuencia se presentan los fenómenos de salinidad.

En esta vertiente los suelos están dedicados, en su mayor parte, a los cultivos de plátanos y tomates, con la particularidad de que las plantaciones de plátanos se desarrollan en terrazas construidas por el hombre con un drenaje artificial y eligiendo siempre los suelos de menor conductividad, lo que, unido a los abundantes riegos y adiciones de materia orgánica, facilitan el lavado de las sales. Es por ello que los problemas de salinidad quedan reducidos en su mayor parte a los suelos cultivados de tomates, que son los elegidos para este estudio.

La salinidad de los suelos de Tenerife se explica dada la naturaleza de la roca madre, pues la mayoría de los suelos de esta isla deben su origen a la erosión de rocas eruptivas ácidas, ricas en metales alcalinos (1), lo que unido a la aridez de estas zonas, que no permite la eliminación de las sales sódicas por lavado, da lugar a una acumulación excesiva de sales en los suelos y a la aparición de fenómenos de salinidad y alcalinidad.

#### MATERIAL Y MÉTODOS

Las técnicas analíticas empleadas en el estudio y clasificación de los suelos salinos y alcalinos de Tenerife, son las señaladas por el U. S. Salinity Laboratory (2), y que en un trabajo anterior (3) fueron comprobadas para su utilización en la caracterización de los suelos salinos de las Islas Canarias.

La región estudiada se ha dividido en cuatro zonas que corresponden a las siguientes localidades: zona núm. 1 (Occidental), zona núm. 2 (Oeste-Suroeste), zona núm. 3 (Sur) y zona núm. 4 (aluviones del Valle de Guimar de orientación Sureste).

Se recogieron un total de 2.830 muestras de suelos cultivados en el Sur de la isla.

En la tabla I se indica la distribución de la totalidad de las muestras analizadas para las diferentes zonas de cultivo.

# TENERIFE

INTERVALO CE x 10<sup>3</sup> mmhos por cm.

A ----- 4 - 8  
 B ----- 8 - 12  
 C ----- > 12

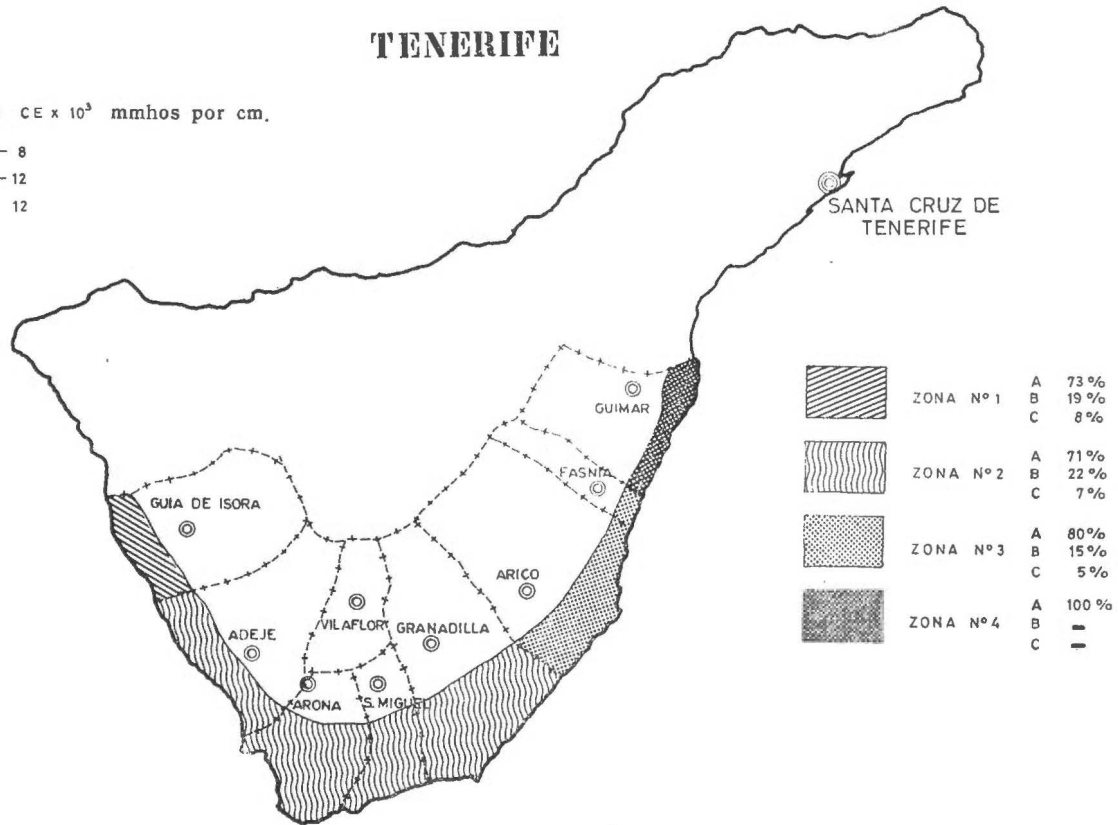


Fig. 1

## RESULTADOS

El mayor porcentaje de suelos salinos corresponde a la zona número 1, en la que un 22 por 100 de los suelos cultivados presentan una conductividad superior a 4 mmhos. por cm. (tabla I).

TABLA I

Zonas de cultivo	Número de suelos estudiados	Suelos de $CE \times 10^3 > 4$ mmhos por cm. en extracto saturado		Clasificación según valor de $CE \times 10^3$ mmhos por cm. %				%	
		Número total	%	4	8	8 - 12	12	Suelos salinos	Suelos salino-alcalinos
Zona n.º 1	413	21	22	73	19	8	75	25	
Zona n.º 2	1633	240	15	71	22	7	55	45	
Zona n.º 3	444	40	9	80	15	5	67	33	
Zona n.º 4	340	17	5	100	—	—	100	—	

La presencia de suelos salinos va disminuyendo desde la zona núm. 1 a la núm. 4, donde sólo un 5 por 100 de los suelos presentan conductividad superior a 4 mmhos. por cm. Es decir, la salinidad va disminuyendo al pasar del Oeste al Sureste de la isla. En esta distribución se observa una influencia climática y litológica evidente.

La distribución de estos suelos salinos según su conductividad, nos muestran también cómo el mayor porcentaje de suelos con conductividades elevadas ( $> 8$  mmhos./cm.), corresponden a las zonas núms. 1, 2 y 3, mientras que en la zona núm. 4 la totalidad de los suelos salinos se encuentran en el intervalo de conductividad 4-8 mmhos. por cm. En esta última región los materiales del suelo están formados principalmente por aluviones de origen basáltico.

Dentro de los suelos con conductividades superiores a 4 mmhos. por cm., existen una elevada proporción de suelos salino-alcalinos, presentándose el mayor porcentaje en la zona núm. 2, en los que más de un 40 por 100 de los suelos con  $CE \times 10^3 > 4$  mmhos. por cm. son de este tipo.

## SUELOS SALINOS

En las gráficas 1 y 2 se representan los valores máximos y medios para las concentraciones de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en este tipo de suelos.

Si bien se han expuesto los valores máximos y medios, sólo comentaremos estos últimos. Los valores máximos corresponden a casos esporádicos, y si bien tienen interés en cuanto a la magnitud de la salinidad, no son sin embargo representativos.

En el caso del  $\text{Ca}^{++}$  los valores medios más altos se alcanzan en los suelos de las zonas núms. 2 y 4, con valores de 35,0 y 38,9 meq/l respectivamente. El valor más bajo se alcanza en la zona núm. 3, y es del orden de 27,9 meq/l, alcanzándose también en esta zona el valor más bajo entre los máximos.

En lo que se refiere al  $\text{Mg}^{++}$  los valores medios más elevados se presentan en los suelos de las zonas núms. 2 y 3, en concentraciones de 34,0 y 40,1 meq/l respectivamente, mientras que los valores medios más bajos corresponden a las zonas núms. 1 y 4. Los valores máximos más elevados se localizan igualmente en las zonas núms. 2 y 3.

La concentración de  $\text{Na}^+$  presenta su valor medio más elevado en la zona núm. 1, con una concentración de 44,5 meq/l, siguiéndole las zonas núms. 3, 2 y 4, por este orden. Por el contrario las concentraciones máximas más elevadas se presentan en las zonas núms. 2 y 3, encontrándose en la zona núm. 1 el valor más bajo entre los máximos.

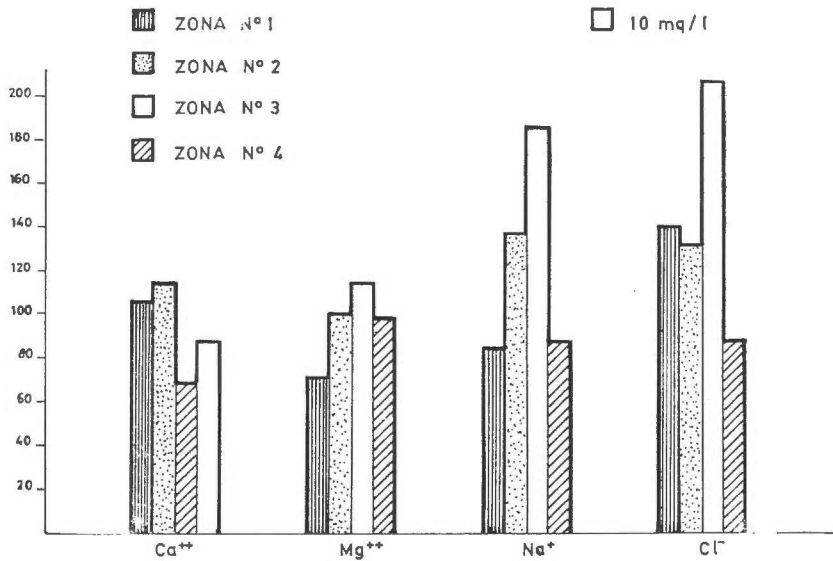
En cuanto a la concentración del ion  $\text{Cl}^-$ , la zona núm. 2 es la que presenta el valor medio más elevado con una concentración de 35,6 meq/l, siguiéndole a un nivel inferior las zonas núms. 1, 3 y 4 por este orden, con unos valores de 27,4, 24,5 y 23,8 meq/l, respectivamente.

La conductividad eléctrica en este tipo de suelos oscila ampliamente de una zona a otra y aun dentro de una misma zona. El valor medio más alto se alcanza en la zona núm. 1 (6,52 mmhos./cm.), que coincide también con los valores medios más elevados del ion  $\text{Na}^+$  encontrado en esta misma zona. Los valores de conductividad eléctrica van disminuyendo hasta llegar a la zona núm. 4, donde se encuentran los valores medios más bajos. Este sentido de disminución de la conductividad prueba una vez más la disminución de la salinidad de los suelos al pasar del Oeste al Sureste de la isla por los condicionantes climáticos y litológicos antes indicados.

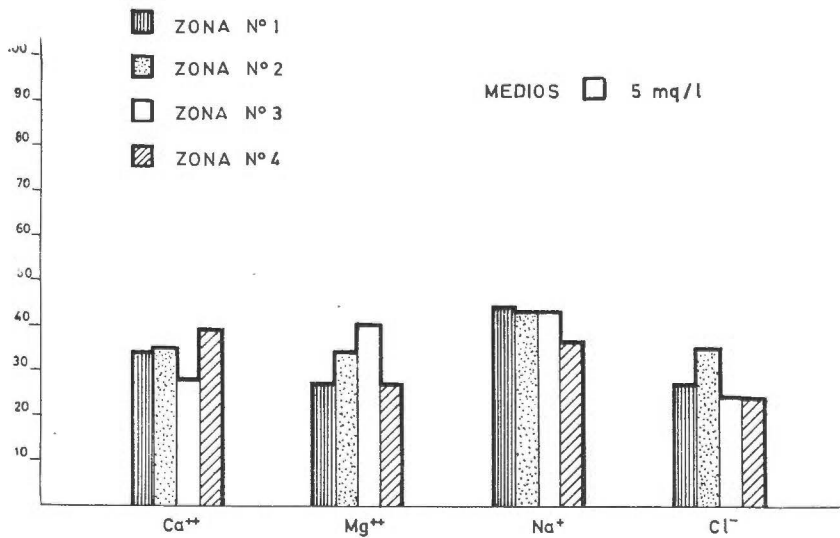
El pH medio de este tipo de suelos sigue una tendencia similar, encontrándose el valor más elevado (pH = 7,7) en la zona núm. 2, y el más bajo en la zona de Guimar con un valor de 7,0.

Una tendencia similar puede observarse en lo que se refiere al  $\text{K}^+$ .

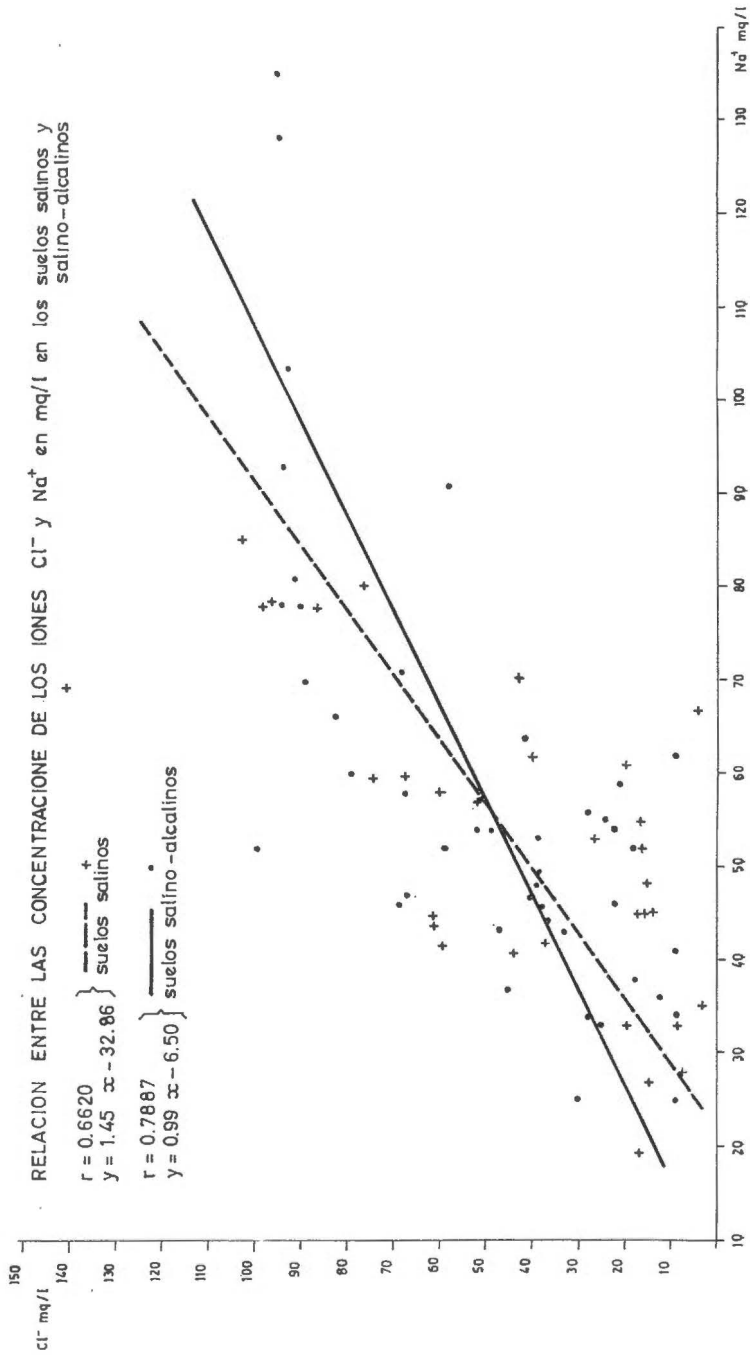
Para conocer el tipo de sales que más influye en la salinidad de estos suelos, se realizaron las correlaciones binarias entre cada anión con los

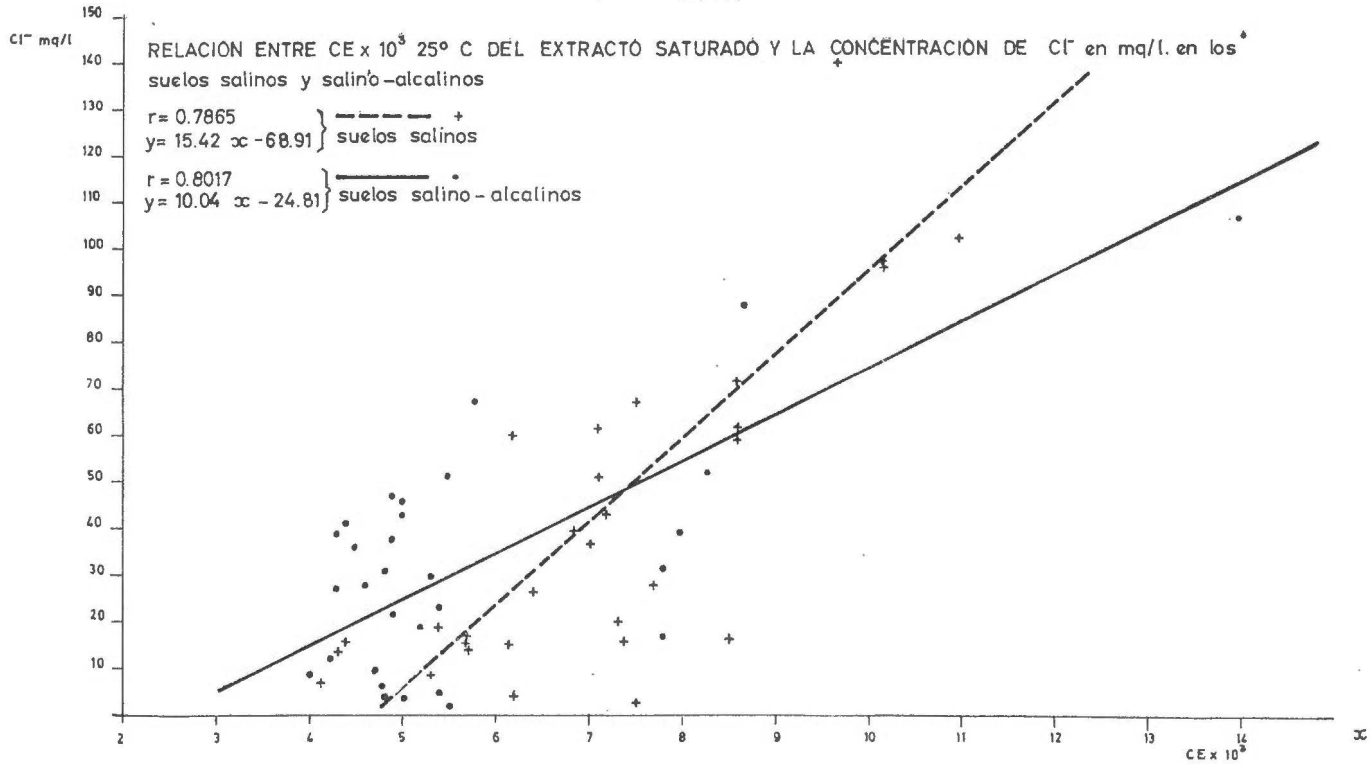


Gráfica 1.—Valores máximos de las concentraciones de Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en mq/l del extracto saturado de los suelos salinos



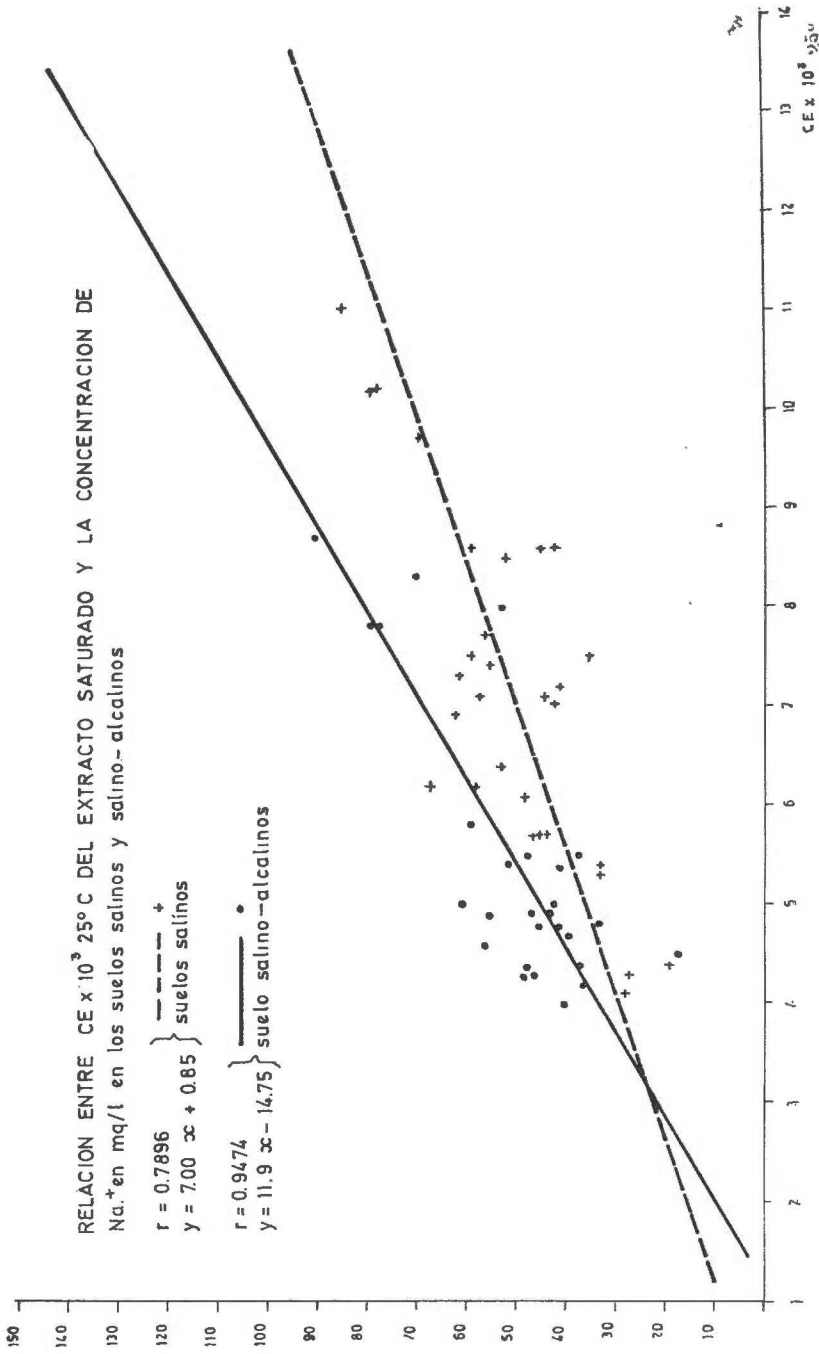
Gráfica 2.—Valores medios de las concentraciones de Ca<sup>++</sup>, Mg<sup>++</sup>, Na<sup>+</sup> y Cl<sup>-</sup> en mq/l del extracto saturado de los suelos salinos

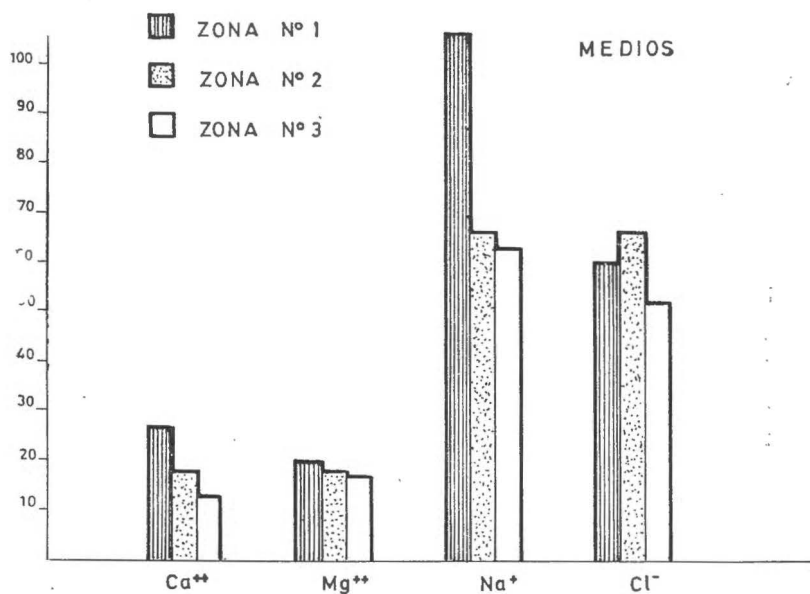




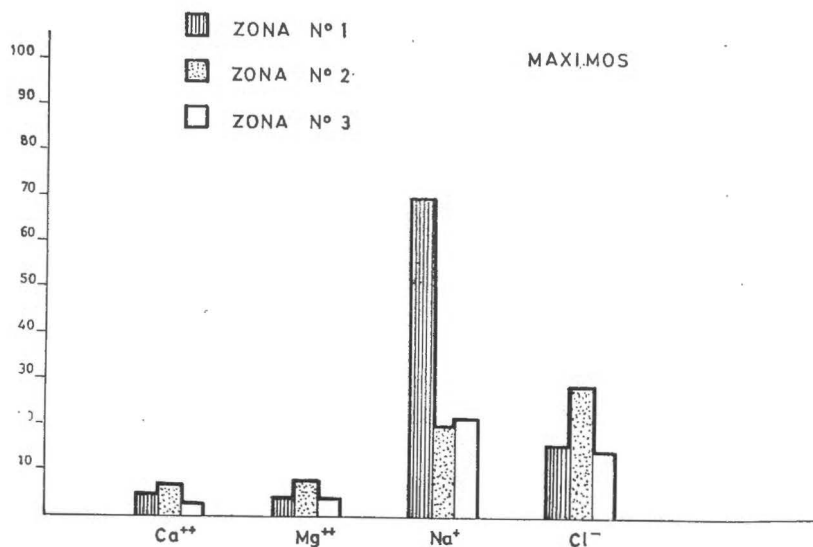
Gráfica 4







Gráfica 6. —Valores medios de las concentraciones de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en mq/l del extracto saturado de los suelos salino-alcinos



Gráfica 7. —Valores máximos de las concentraciones de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en mq/l del extracto saturado de los suelos salino-alcinos

diferentes cationes y entre la conductividad eléctrica con los diferentes iones. Las correlaciones encontradas significativas a nivel superior al 0,1 por 100, fueron las correspondientes al ion  $\text{Cl}^-$  con el ion  $\text{Na}^+$  ( $r = 0,6620$ ) y conductividad eléctrica con los iones  $\text{Cl}^-$  ( $r = 0,7865$ ) y  $\text{Na}^+$  ( $r = 0,7846$ ). Gráficas 3, 4 y 5.

#### SUELOS SALINO-ALCALINOS

En las gráficas 6 y 7 se representan los valores medios y máximos para las concentraciones de  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  en este tipo de suelos.

El comportamiento de los suelos salino-alcálinos es mucho más regular que el observado para los suelos salinos. Así encontramos que las concentraciones medias de los iones  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{Mg}^{++}$ ,  $\text{Na}^+$  y  $\text{Cl}^-$  y conductividad eléctrica, van disminuyendo del Oeste al Sureste, encontrándose los valores más elevados en la zona núm. 1 y los más bajos en la zona núm. 3. Excepciones a esta tendencia pueden observarse para los iones  $\text{Cl}^-$  en la zona núm. 2.

El pH de estos suelos oscila entre 8,6 y 8,1, alcanzando el máximo valor en la zona núm. 2 y el mínimo en la núm. 3, con valores intermedios en la zona núm. 1.

El Na de cambio supera como es de suponer el 15 por 100 de la capacidad total de cambio con valores absolutos que oscilan entre 4,06 y 13,80 mq/100 gr. El K de cambio es igualmente elevado como corresponde a suelos procedentes de cenizas volcánicas ricas en minerales potásicos, encontrándose valores absolutos de 4,0 y 12,0 mq/100 gr.

Se han determinado las correlaciones binarias entre la conductividad eléctrica y los diferentes iones solubles, así como las correspondientes a éstos entre sí, encontrándose correlaciones significativas a nivel superior al 0,1 por 100 de la  $\text{CE} \times 10^3$  mmhos. por cm. con los iones  $\text{Cl}^-$  ( $r = 0,8017$ ) y  $\text{Na}^+$  ( $r = 0,9474$ ), así como entre los iones  $\text{Cl}^-$  y  $\text{Na}^+$  ( $r = 0,7887$ ), de igual forma que ocurría en los suelos salinos gráficas números 3, 4 y 5.

De acuerdo con estos estudios puede deducirse que los suelos salino-alcálinos de esta región representan el final de un proceso evolutivo de los suelos salinos.

#### BIBLIOGRAFÍA

- (1) FUSTER, J. M. y col. (1968). Geología y Vulcanología de las Islas Canarias, Tenerife. Instituto «Lucas Mallada», C. S. I. C., Madrid.
- (2) U. S. SALINITY LABORATORY (1954). Agriculture Handbook, n.º 60.
- (3) FERNÁNDEZ CALDAS, E.; PÉREZ GARCÍA, V. y GARCÍA, V. (1973). Estudio de los métodos empleados en la caracterización de los suelos salinos y alcálinos de las Islas Canarias. Anales de Edafología y Agrobiología, 30, 551-560.



# COMPORTAMIENTO DEL Zn EN SUELOS CALIZOS

## I. TRANSFORMACIONES DE LOS COMPUESTOS DEL Zn EN FUNCION DEL TIEMPO

por

T. HERNANDEZ, L. REVERTE y F. COSTA

### SUMMARY

#### BEHAVIOUR OF Zn IN CALCAREOUS SOILS. I. CHANGES OF THE Zn COMPOUNDS AS A FUNCTION OF TIME

This work studies the influence of natural organic fertilizers (sheep dung and peat) and the synthetic EDTA, on the distribution of the several fractions of zinc in the calcareous soil of S. E. Spain. The posterior dynamics among the fractions have been studied using time functions.

There is a rapid distribution of these fractions of zinc. Those soluble, of change and complex decrease brusquely at first. The fraction united with organic matter does not present any considerable variation. The utilizable fraction undergoes a slight increase at the beginning, but decreases afterwards. The residual fraction presents a constant tendency towards increase.

### INTRODUCCIÓN

Aunque el contenido total de cinc en los suelos es relativamente bajo, las plantas necesitan cantidades tan pequeñas que las deficiencias de cinc serían raras si el cinc total del suelo fuese incluso moderadamente útil para ellas; por esto, es de gran interés el estudio de los factores que influyen en la insolubilización y migración del cinc en el suelo.

Uno de los factores directamente relacionados con la utilidad del cinc en el suelo es el pH. El cinc es mejor utilizado por las plantas cuando el pH del suelo es ácido que cuando es básico, ya que la solubilidad del  $Zn^{++}$  disminuye 100 veces por cada unidad que aumenta el pH (6).

La textura del suelo juega un papel importante en la movilidad del cinc, pues la fracción arcilla absorbe cinc en los lugares de cambio de las capas octaédricas de aluminio-silicatos (3, 9).

La fuerte adsorción del cinc sobre los minerales del suelo, a menudo dentro de su red cristalina, ofrece la mejor explicación para su baja solubilidad y frecuente baja utilidad en los suelos (14).

El cinc es retenido por la materia orgánica del suelo en forma complejada o quelatada (7), esto ocasiona a veces una agravación de la carencia del cinc (2). La quelación del cinc y de los metales divalentes en general se produce principalmente por los compuestos húmicos (11) y fúlvicos del suelo (1, 4, 5, 12).

Los suelos calizos, que son los que nos interesan en nuestro estudio, disponen de poco cinc cambiabile y soluble (10); esta baja disponibilidad se debe al aumento del pH que provoca el carbonato y a la posible precipitación como cincato cálcico (17). El carbonato cálcico puede actuar como un fuerte adsorbente para metales pesados, lo cual explica que la deficiencia de cinc sea frecuente en suelos calizos.

La correlación del contenido de cinc del suelo con los contenidos de arcilla y materia orgánica sugiere que estos dos componentes del suelo son los principales responsables de la retención del cinc nativo en estos suelos calizos (16); vemos que hay una relación inversa entre la absorción de cinc nativo por las plantas y el nivel de carbonato cálcico en suelos originados de rocas calizas de naturaleza homogénea (8).

En el presente trabajo pretendemos ver la influencia que los fertilizantes orgánicos naturales y sintéticos ejercen en suelos característicos de esta zona, sobre la distribución del cinc añadido, en diversas fracciones más o menos solubles y la posterior dinámica entre unas y otras en función del tiempo.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### 1. *Materiales*

#### 1.1. *Elección de los suelos*

Se seleccionaron dos suelos de características tales que el porcentaje de carbonato activo se diferenciara entre ellos de forma manifiesta, la textura de ambos fuesen ligeras, ya que éstas son las más adecuadas para el cultivo, y tuvieran bajo contenido en materia orgánica, con objeto de encontrar diferencias atribuibles a los fertilizantes orgánicos aportados.

Las características físico-químicas y químicas más importantes de los suelos figuran en la tabla I.

Ambos suelos proceden de Abanilla (Murcia), siendo una muestra de la zona de Macisvenda (A) y la otra de la zona de Barinas (B).

TABLA I

	Suelo de Macisvenda (A)	Suelo de Barinas (B)
<b>ANÁLISIS GRANULOMÉTRICO</b>		
Arena gruesa .....	10,80 %	16,40 %
Arena fina .....	18,30 %	12,40 %
Limo .....	40,60 %	46,20 %
Arcilla .....	30,30 %	25,00 %
Textura .....	Franco arcillosa	Franca
<b>ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO</b>		
C. de cambio total .....	14,61 meq/100 g	10,92 meq/100 g
<b>ANÁLISIS QUÍMICO</b>		
Carbonato cálcico activo....	15,37 %	23,85 %
Carbono total .....	0,64 %	0,85 %
Materia orgánica .....	1,08 %	1,30 %
Nitrógeno total.....	0,07 %	0,074 %
C/N .....	9,12	10,22

### 1.2. Fertilizantes empleados

Se eligieron dos fertilizantes orgánicos, uno joven de origen animal, Sirle; y otro de origen vegetal en alto estado de edafización, Turba.

Los resultados de los análisis efectuados en estos dos materiales se encuentran en la tabla II.

El primero tiene alta proporción de materia orgánica oxidable, presenta pH ligeramente básico y una relación de ácidos húmicos/ácidos fúlvicos extraíble, de 0,27. El segundo tiene un contenido en materia orgánica oxidable algo menor que el anterior, su pH es francamente ácido y su relación de ácidos húmicos/ácidos fúlvicos extraíbles de 2,88.

Como fertilizante sintético se utilizó el EDTA.

TABLA II

	Sirle	Turba
<b>ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO</b>		
pH en H <sub>2</sub> O .....	7,70	4,00
pH en ClH .....	7,60	3,90
Conductividad 1/5 en $\mu\text{mho/cm}$ .....	16,470	3,44
Humedad en % .....	11,00	23,50
Capacidad de cambio en meq/100 g .....	49,62	70,23
<b>ANÁLISIS QUÍMICO (referido en muestra seca 105 °C, en %)</b>		
<i>Orgánico</i>		
Materia orgánica oxidable .....	54,10	49,00
Materia orgánica total .....	78,90	67,30
Materia orgánica extraíble (P <sub>2</sub> O <sub>7</sub> N <sub>8</sub> )	8,52	12,65
Ácidos húmicos de la M. O. extraíble .....	21,59	74,24
Ácidos fúlvicos .....	78,41	25,76
<i>Inorgánico</i>		
Residuo fijo .....	21,1	32,7
Residuo insoluble en ácidos .....	5,6	22,4
Nitrógeno .....	1,89	1,05
Fósforo (P <sub>2</sub> O <sub>6</sub> ) .....	0,61	0,12
Calcio (CaO) .....	6,54	1,18
Hierro (Fe <sub>2</sub> O <sub>3</sub> ) .....	0,46	2,60
Manganeso (MnO <sub>2</sub> ) .....	0,014	0,013
Potasio (K <sub>2</sub> O) .....	2,45	0,24
Sodio (Na <sub>2</sub> O) .....	0,56	0,16
Cloruros .....	0,85	0,01
Sulfatos .....	1,23	0,98

## 2. Métodos

### 2.1. Procedimiento de incubación de las muestras

Una vez seleccionados los suelos y los fertilizantes orgánicos en estudio, se tamizaron a un milímetro con objeto de unificarlos.



Las cantidades de fertilizante orgánico añadido se calcularon con vistas a obtener al final de la fertilización un porcentaje de materia orgánica en las muestras de un 8 por 100.

Tanto los suelos solos como los fertilizados se sometieron a sucesivos riegos y períodos de secado durante cinco meses, con el fin de que la homogeneización fuese completa, comprobando ésta mediante análisis.

Los resultados finales de materia orgánica en las diversas muestras se expresan en la tabla III.

TABLA III

	Suelo A	Suelo B	Suelo A+S	Suelo A+T	Suelo B+S	Suelo B+T
M. O. oxidable %/o . . . . .	1,085	1,304	7,92	7,95	7,828	7,66
C. C. C. meq/100 g. . . . .	14,61	10,92	21,60	28,72	17,14	26,17
N %/o . . . . .	0,069	0,074	0,24	0,20	0,275	0,18
C/N . . . . .	9,12	10,22	19,14	23,06	16,51	24,7
M. O. extraíble %/o C . . . . .	0,285	0,28	0,997	2,316	1,1	2,316
%/o Cr húmicos . . . . .	0,059	0,034	0,347	1,675	0,423	1,656
%/o C. fúlvicos . . . . .	0,226	0,246	0,650	0,641	0,677	0,650
AH/AF . . . . .	0,261	0,138	0,533	2,613	0,624	2,548
pH H <sub>2</sub> O . . . . .	7,60	7,40	7,60	7,35	7,55	7,30
pH ClK . . . . .	6,90	7,00	7,00	6,80	7,50	6,90

## 2.2. Adición del elemento marcado

Se montaron varias series de viales con suelo solo y suelo abonado con los distintos fertilizantes, cada vial contenía 5 g de material y se le añadieron 2 ml. de disolución de cinc marcada con <sup>65</sup>Zn con una actividad total de 0,15  $\mu$ Ci/mg/ml.

A la mitad de los viales conteniendo suelo solo se les añadió el cinc en forma de EDTA-<sup>65</sup>Zn, y a los demás en forma de SO<sub>4</sub> <sup>65</sup>Zn.

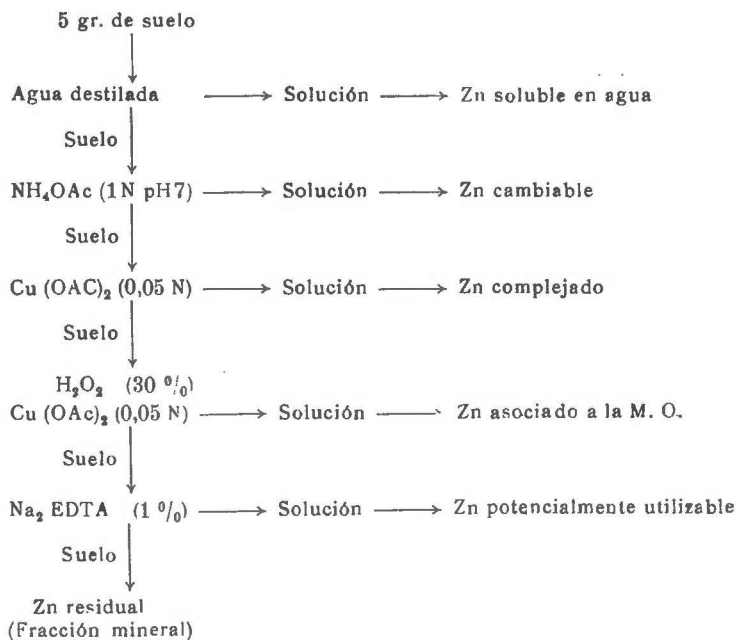
Todos los viales se han regado periódicamente con 2 ml de agua destilada en cada ocasión.

## 2.3. Procedimiento de extracción

Inmediatamente después de la adición de las disoluciones radioactivas se efectuó el primer análisis de extracción y fraccionamiento del cinc, que se repitió a intervalos de 7, 10, 20, 30, 40, 50, 60 y 160 días, para seguir así su evolución con el tiempo, según las técnicas establecidas por Smith (13), con alguna pequeña variación.

Cinco gramos de muestra se tratan sucesivamente con varios extractantes, como se indica en el esquema, haciendo una sola extracción de cada uno de ellos. En cada caso 20 ml de extractante se le añaden al suelo en tubos de centrifuga de 50 ml, el tubo se agita durante dos horas y se centrifuga por quince minutos a 4.000 r. p. m. El líquido se decanta totalmente y se guarda para su análisis. Se le añaden 20 ml del nuevo extractante y se repite la operación.

Para extraer el cinc unido a la materia orgánica, es necesario realizar una serie de reacciones previas. Por lo cual después de la extracción con acetato de cobre el suelo se transfiere a un vaso con 20 ml de agua, eliminando la mayoría de la misma mediante el calentamiento suave, seguidamente se le añaden 25 ml de  $H_2O_2$  del 30 por 100 con el fin de destruir la materia orgánica y se deja reaccionar durante la noche. La reacción se acelera por calentamiento del vaso a  $75^\circ C$  en baño maría. Una vez terminada la reacción se transfiere el suelo nuevamente al tubo de centrifuga con acetato de cobre. Se determina el cinc en el extracto para dar la cantidad total de cinc de la fracción orgánica, que equivaldría a las fracciones extraídas con agua, acetato amónico y acetato de cobre del esquema de Smith (13).



Una parte del cinc puede quedar en el residuo; éste es convenientemente tratado con  $Na_2EDTA$  al 1 por 100 para eliminarlo.

Alicuotos de cada una de las soluciones y del residuo seco se toman para determinar su actividad.

2.4. *Determinación del cinc*

El  $^{65}\text{Zn}$  de cada una de las fracciones de las diversas muestras se determinó con un contador de centelleo Philips PW 4251 con cristal de pozo de INa (T1).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. *Distribución del Zn en las distintas fracciones*

El cinc de la solución añadida al suelo se distribuye en una serie de fracciones cuyo porcentaje pasamos seguidamente a estudiar (figuras 1 y 2).

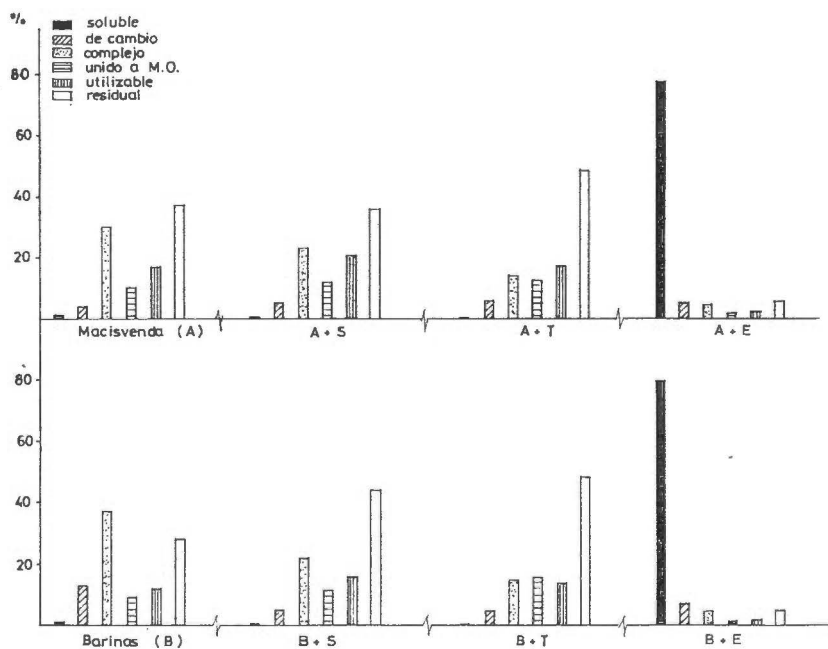


Fig. 1

El número de estas fracciones es de seis, que podemos agruparlas, desde el punto de vista porcentual, en valores altos, medios y bajos; así tenemos, cuando el Zn se añade como  $\text{Zn}^{++}$ , al principio los valores más altos corresponden al Zn residual (cinc que se encuentra en forma bastante estable, precipitado y adsorbido sobre la superficie de minera-

es muy pequeña en todas las muestras del orden de las unidades, lo que nos indica la rapidez de su reactividad.

Consideración aparte merece cuando el Zn se añade como quelato EDTA-Zn, el cual permanece como tal un 80 por 100 y el resto se reparte entre las demás fracciones en muy escasa proporción.

Si observamos esta distribución porcentual al cabo de aproximadamente un año, encontramos que aquella distribución inicial se ha modificado; en primer lugar tenemos que destacar la fracción de Zn residual, que ha aumentado a costa de todas las demás en los suelos sin fertilizante orgánico, y en los fertilizados a costa de las tres primeras fracciones (soluble, de cambio y compleja), especialmente en el abonado con turba, en que esta última fracción queda del orden de las unidades, el porcentaje de la fracción orgánica permanece sensiblemente igual y el de Zn utilizable presenta una pequeña elevación.

Respecto al EDTA-Zn, el porcentaje de EDTA-Zn soluble disminuye en función de su estabilidad frente a ese medio, aumentando todas las otras fracciones, especialmente la residual, un poco mayor en el suelo de textura más fina.

En resumen, podemos decir que el  $Zn^{++}$  añadido al suelo se distribuye rápidamente en una serie de fracciones, las cuales se modifican en mayor o menor cantidad en función del tiempo y de ciertos constituyentes del suelo como m. o. y tipo de textura.

## 2. *Dinámica de las distintas fracciones del cinc*

### 2.1. *Fracción soluble*

En los suelos sin fertilizar observamos que la fracción de cinc soluble (fig. 3) es poco importante y sufre pocas variaciones con el tiempo; la adición de turba a estos suelos modifica muy poco su comportamiento respecto a esta fracción; sin embargo, el sirle hace que la fracción soluble aumente con respecto a los suelos solos, y a los abonados con turba. Este aumento que proporciona el sirle creemos que es debido a una mayor riqueza en ácidos fúlvicos respecto a los suelos sin abonar y a un menor contenido en ácidos húmicos respecto a la turba (tabla III), y no al incremento de alcalinidad, que favorecería la formación de cincatos, puesto que la presencia de  $Ca^{++}$  provocaría la precipitación de los mismos (14). Hay un brusco aumento en los resultados del tercer análisis que alcanzan valores superiores a los iniciales para ir disminuyendo después con el tiempo, lo que nos indica que los fulvatos formados al principio en gran cantidad se van degradando paulatinamente.

Los únicos suelos en los que la fracción de Zn soluble es importante son aquellos a los que se le ha incorporado como EDTA-Zn, si bien

les calizos y de arcilla) y al complejo (cinc desplazado por el  $\text{Cu}^{++}$  del acetato de cobre empleado como extractante); si consideramos los suelos sin abonar, observamos que en suelo A el porcentaje de cinc residual es muy poco mayor que el complejo, y en suelo B sucede al contrario, lo cual creemos sea debido a que la textura del primero es franca arcillosa y la del segundo franca. La adición de m. o. disminuye el porcentaje de cinc complejo, siendo esta fracción mucho mayor en la turba que en el sirle.

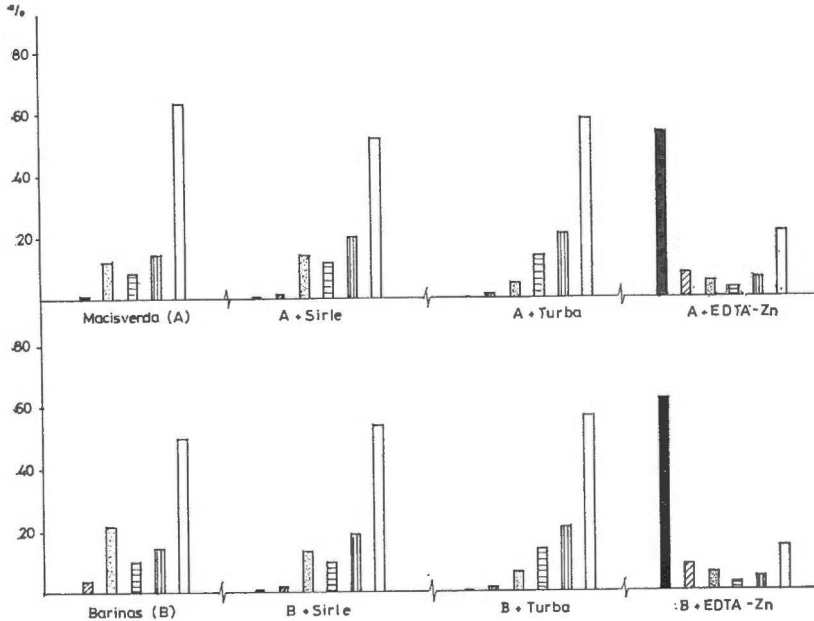


Fig. 2

Como valores porcentuales medios tenemos las fracciones del Zn unido a la m. o. y el Zn potencialmente utilizable (o sea aquel cuyos compuestos tienen una constante de estabilidad inferior al EDTA-Zn 16, 5 y que puede ser absorbido por las plantas en un tiempo prudencial). La adición de fertilizantes orgánicos aumenta estos porcentajes, pero no en una cantidad proporcional al contenido de m. o. total.

Como porcentajes más bajos tenemos el Zn soluble ( $\text{Zn}^{++}$ ) y el de cambio; sobre este último los contenidos de m. o. no tienen ningún efecto, aun a pesar de haber aumentado considerablemente la capacidad de cambio catiónica de los suelos abonados con los fertilizantes orgánicos (tabla III), lo que nos sugiere que toda esa C. C. C. está saturada por cationes alcalino y alcalino-térreos. La proporción del  $\text{Zn}^{++}$  soluble

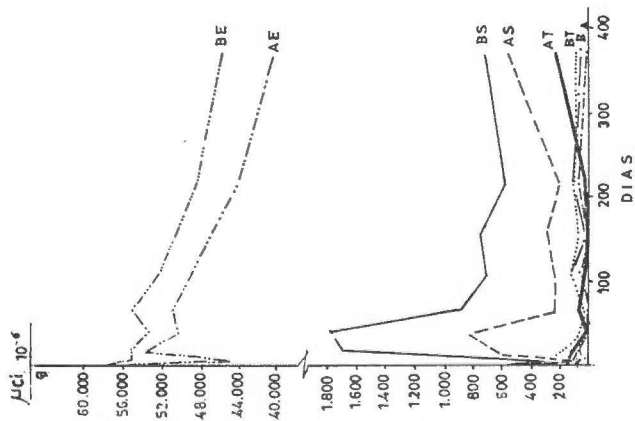


Fig. 3

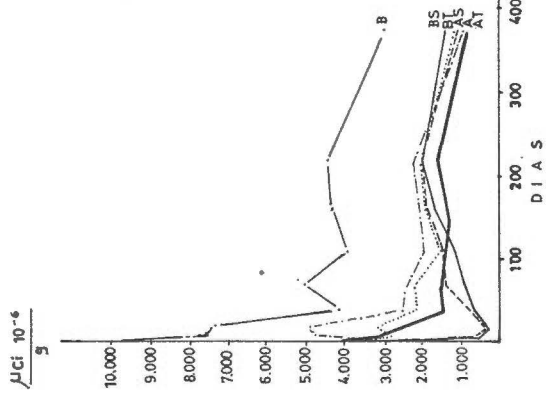


Fig. 4

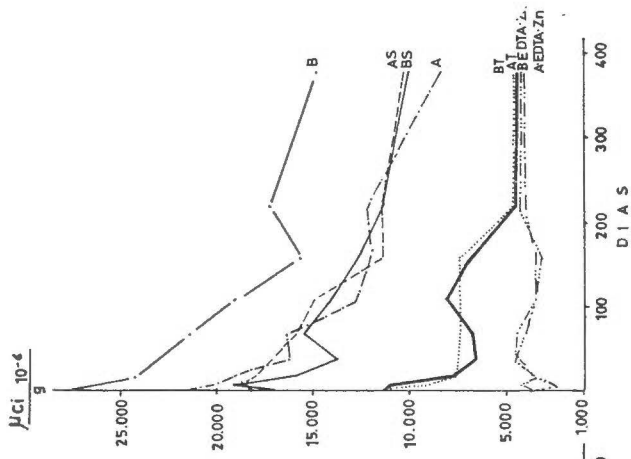


Fig. 5

tenemos que considerar que en dichos suelos el cinc no se encuentra en forma iónica, sino encerrado dentro del quelato.

## 2.2. *Fracción de cambio*

El contenido de cinc de cambio (fig. 4) en cada uno de los suelos fertilizados es inferior al de su testigo respectivo, aun a pesar de que su capacidad de cambio aumenta considerablemente como consecuencia de los aportes de los diversos materiales orgánicos (tabla III). Suponemos que esto se debe a dos hechos principales: a) a que el  $Zn^{++}$  es retenido fuertemente por los coloides del suelo, pasando más o menos rápidamente a combinaciones estables, y b) a que la gran concentración de iones  $Ca^{++}$  saturará todos los lugares de cambio.

Este contenido de cinc de cambio desciende en función del tiempo, rápidamente en un principio y luego más lentamente hasta alcanzar unos valores más o menos estacionarios.

## 2.3. *Fracción complejada*

La fracción del cinc complejada (fig. 5) es superior en los suelos solos que en los fertilizados con materiales orgánicos, lo que coincide con los trabajos realizados por Smith (13), ya que dichos materiales parece que retengan al cinc de forma tal que no es desplazable por el  $Cu^{++}$  empleado como extractante, especialmente la turba. El nivel más bajo de esta fracción es cuando el cinc se agrega en forma de quelato EDTA, debido a que la constante de estabilidad de éste, 16, 5, es muy superior a la de los compuestos que el cobre pueda formar con los complejantes del Zn.

Esta fracción tiende en general a disminuir con el tiempo, pasando a incrementar el cinc residual.

## 2.4. *Fracción unida a la materia orgánica*

La materia orgánica del suelo con el cinc forma complejos metálicos, que pueden ser de cambio iónico, adsorción, quelación y reacciones de coagulación y peptización, siendo la naturaleza de estas uniones poco conocida (7).

Los suelos con EDTA son los que tienen menos cinc unido a la materia orgánica (fig. 6), probablemente debido a que la unión EDTA-Zn sea más fuerte que la del cinc con la materia orgánica. La incorporación de sirlé o turba al suelo hace que una mayor cantidad de cinc sea retenido por dichos materiales, aunque ésta no es proporcional al con-

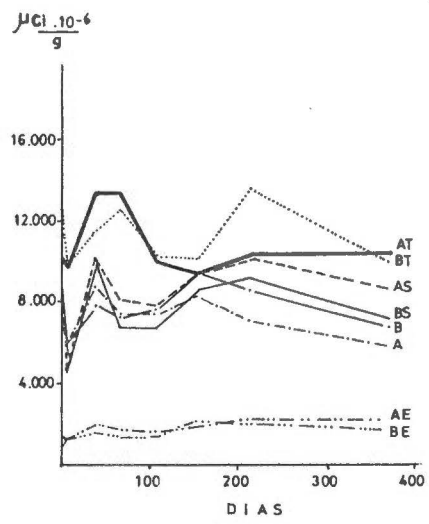


Fig. 6

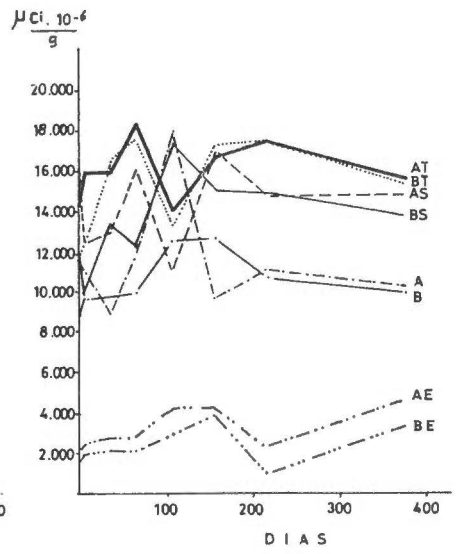


Fig. 7

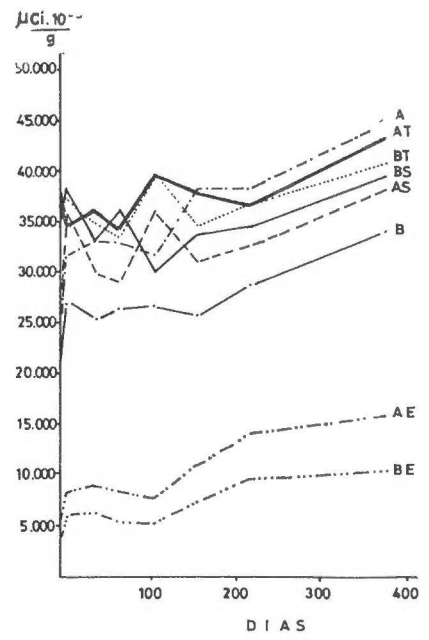


Fig. 8



tenido de los mismos, pareciendo que el último de ellos tiene mayor poder de fijación, debido a la mayor cantidad de ácidos húmicos (tabla III).

Puesto que el contenido de la materia orgánica no presenta cambios a lo largo de la experiencia, el Zn unido a ella permanece sensiblemente constante sin experimentar un descenso en función del tiempo como las fracciones anteriores.

### 2.5. *Fracción utilizable*

Esta fracción está constituida por una serie heterogénea de compuestos del cinc que no han podido liberarse anteriormente en las extracciones sucesivas y que es factible de disolverse en una solución de EDTA al 1 por 100. Los valores más altos los representan los suelos abonados con fertilizantes orgánicos, y de éstos la turba (fig. 7), como consecuencia de su mayor poder de retención inherente a una alta re-

lación —  $\frac{AH}{AF}$  y a un contenido alto de AH (tabla III). Si bien la constante

de estabilidad de estos compuestos es inferior a la del EDTA-Zn 16,5, ya que esta fracción es muy baja cuando el Zn se agrega como quelato, y la fracción que aquí encontramos corresponde a la proporcionada por EDTA-Zn descompuesto.

Al principio esta fracción presenta una tendencia a crecer, enriquecida, creemos, por todas las otras fracciones que en los primeros momentos de la experiencia descienden más o menos rápidamente y, con posterioridad, al estabilizarse éstos la velocidad de su aporte es menor que la de insolubilización de la fracción utilizable, con el consiguiente descenso de ésta.

### 2.6. *Fracción residual*

En esta fracción el cinc debe encontrarse en formas bastante estables y un tanto heterogéneo; así el cinc puede hallarse precipitado como  $Zn(OH)_2$ ,  $CO_3Zn$  y  $(PO_4)_2Zn_3$ , y adsorbido fuertemente sobre la superficie de minerales calizos y minerales de la arcilla (14). Tiller y Hodgson (15) afirman que las arcillas silíceas adsorben el cinc de una forma reversible como catión de cambio, y de una forma irreversible por penetración en la red cristalina especialmente si contiene  $Mg^{++}$ .

Es importante observar que con el tiempo esta fracción tiende a crecer en todas las muestras, a costa de todas las demás fracciones.

Respecto a los suelos abonados con los materiales orgánicos, han sido los de turba los que presentan valores de esta fracción un poco

más altos que los de sirle (fig. 8), sin que en ello influya al parecer el carácter ácido y básico de cada uno de los fertilizantes, sino más bien las características particulares de cada uno de ellos. Esta fracción también crece en función del tiempo en los suelos fertilizados con EDTA-Zn a medida que el quelato se descompone en mayor proporción en el suelo A, debido a su más alto contenido en arcilla.

### CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> Desde el inicio de la experiencia el  $Zn^{++}$  se distribuye en una serie de fracciones de las cuales generalmente la más importante son las de cinc complejo y cinc residual.

2.<sup>a</sup> La adición de materiales orgánicos afectan a estas fracciones de forma inversa respecto al cinc complejo, y directa al cinc residual, siendo la turba el de efecto más destacado.

3.<sup>a</sup> Cuando el cinc se agrega bajo forma de quelato sintético, EDTA, la mayor parte permanece como tal, encontrándose cantidades muy pequeñas como complejo y residual.

4.<sup>a</sup> En las tres primeras fracciones (soluble, de cambio y compleja) se observa un descenso brusco, alcanzando con el tiempo un equilibrio ligeramente desplazado hacia la fracción residual.

5.<sup>a</sup> La fracción de cinc que se une a la materia orgánica es más o menos constante durante todo el período de la experiencia.

6.<sup>a</sup> La fracción utilizable experimenta un ligero incremento al principio, hasta que las fracciones más solubles se han estabilizado, disminuyendo ligeramente después a favor de la fracción residual.

7.<sup>a</sup> La fracción residual presenta en conjunto una dinámica creciente a lo largo de toda la experiencia, como consecuencia de las transformaciones de las otras fracciones.

### RESUMEN

En suelos calizos característicos del Sureste español se ha estudiado la influencia que los fertilizantes orgánicos naturales, sirle y turba, y sintéticos EDTA, ejercen sobre la distribución del cinc añadido en las distintas fracciones: soluble, de cambio, compleja, unida a m. o., utilizable y residual, y la posterior dinámica entre unas y otras en función del tiempo.

Hay una rápida distribución del cinc en estas fracciones.

Las fracciones soluble, de cambio y compleja descienden bruscamente al principio. La fracción unida a la m. o. no presenta variaciones considerables durante toda la experiencia; la utilizable experimenta un ligero aumento al principio para después decrecer, y la residual presenta una constante tendencia al crecimiento.

## BIBLIOGRAFÍA

- (1) BROADBENT, F. E. y OTT, J. G. 1957. Soil organic matter metal complexes. I. Factors affecting retention of various cations. *Soil Sci.*, 83, 419-427.
- (2) DEREMER, E. D. 1963. Experiments on the origin and nature of a zinc deficiency of field beans on a port neuf as determined by application of zinc<sup>65</sup>. *Dissert. Abstr. U. S. A.*, 23, 2649-2650.
- (3) ELGABALY, M. M. 1950. Mechanism of zinc fixation by colloidal clays and related minerals. *Soil Sci.*, 69, 167-173.
- (4) HODGSON, J. F. 1963. Chemistry of the micronutrient elements in soil. *Advance Agron.*, 15, 119-159.
- (5) LAX, A., COSTA, F., REVERTE, L. y CARPENA, O. 1971. Radioisotopical studies of the iron-manganese dynamics on calcareous soil. *Atti dell VIII Simposio Internazionale di Agrochimica*, 306-315.
- (6) LINDSAY, W. I. 1972. Inorganic phase equilibria of micronutrients in soils. *Micronutrients in agriculture*. Soil Sci. Soc. of Amer. Inc. Madison, Wisconsin, USA, 48.
- (7) MORTENSEN, J. L. 1963. Complexing of metals by soil organic matter. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 27, 179-186.
- (8) NAVROT, J. y RAVIKOVITCH, S. 1969. Zinc availability in calcareous soils. III. The level and properties of calcium in soils and its influence on zinc availability. *Soil Sci.*, 108, 30-37.
- (9) NELSON, J. L. y MELSTED, S. W. 1955. The chemistry of zinc added to soil and clays. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 19, 439-443.
- (10) PATARINSKI, N. y PENEVA, N. 1968. The available zinc reserve in calcareous soil Types. *Soils and Fert.*, 31, 3060.
- (11) RANDHAWA, N. S. y BROADBENT, F. E. 1965. Soil organic matter-metal complexes. 5. Reactions of zinc with model compounds and humic acid. *Soil Sci.*, 99, 295-300.
- (12) SCHNITZER, M. y SKINNER, S. I. M. 1966. Organic-metallic interactions in soils. 5. Stability constants of Cu<sup>++</sup>, Fe<sup>++</sup> and Zn<sup>++</sup> fulvic acid complexes. *Soil Sci.*, 102, 361-365.
- (13) SMITH, R. L. y SHOUKRY, K. S. M. 1968. Changes in the zinc distribution within three soils and zinc uptake by field beans caused by decomposing organic matter. *Isotopes and Radiation in soil organic-matter studies*. 379-410.
- (14) THORNE, W. 1957. Zinc deficiency and its control. *Advances in Agronomy*, 9, 31-65.
- (15) TILLER, K. G. y HODGSON, J. F. 1962. The specific sorption of cobalt and zinc by layer silicates. *Clays and Minerals*, 9, 393-402.
- (16) UDO, E. J., BOHN, H. L. y TUCKER, T. C. 1970. Zinc adsorption by calcareous soils. *Soil Sci. Soc. Amer. Proc.*, 34, 405-407.
- (17) WEAR, J. I. 1956. Effect of soil pH and calcium on uptake of zinc by plants. *Soil Sci.*, 81, 311-315.



# EL EQUILIBRIO FISIOLÓGICO COMO INDICE PARA EL DIAGNÓSTICO DE DEFICIENCIAS NUTRITIVAS

## I. ARBOLES FRUTALES

por

E. ESTEBAN VELASCO

### SUMMARY

#### THE PHYSIOLOGICAL EQUILIBRIUM AS AN INDEX FOR THE DIAGNOSIS OF NUTRITIONAL DEFICIENCIES. I. FRUIT TREES

In this study the physiological balance, expressed in the relation  $N:10P:K$ , of some important fruit cultures is calculated.

This is done for the levels that are considered as critical by some important investigators.

It is supposed that the physiological balance is the same for the cultures involved and might be expressed in the relation  $N = 50\%$ ;  $10P = 30\%$ ;  $K = 20\%$  independently of the variety and the cultivation and ecological conditions.

It is desirable this method to be applied by another authors and to another crops.

### INTRODUCCIÓN

El estudio del estado nutritivo de las plantas basado sobre el equilibrio fisiológico ha recibido poca atención por los investigadores que trabajan en este campo.

Recalde y Esteban (25) obtuvieron buenos resultados en el olivo utilizando la expresión  $N:10P:K$  cuya utilidad ha sido comprobada por numerosos investigadores españoles que han trabajado sobre éste y otros cultivos.

El presente trabajo tiene por objeto el estudio del equilibrio fisiológico ( $N:10P:K$ ) en algunos de los cultivos frutales más importantes para determinar los valores que definen el estado nutritivo óptimo de las plantas con independencia de los efectos debidos a variedades y condiciones ecológicas y culturales.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El material utilizado ha sido exclusivamente bibliográfico, recogiendo los resultados obtenidos por los principales investigadores, especializados en cada uno de los cultivos estudiados. Los datos analíticos han sido transformados en N %, 10 P % y K % y a partir de éstos se ha calculado el equilibrio fisiológico.

Se ha procurado la mayor homogeneidad posible en los resultados recogidos de forma que correspondan a métodos analíticos de garantía, a muestras de hojas recogidas de igual zona (hojas medias de ramas de crecimiento de vigor medio) y en un estado fisiológico de la planta bien definido (próximo a la maduración del fruto).

En general, se han utilizado los valores de N-P-K considerados como críticos, los que se citan como intervalos de normalidad nutritiva o los deducidos de tablas o experiencias fundamentales. No se han tenido en cuenta los datos que no cumplieran la condición fisiológica de equilibrio, fundamental para nosotros de  $N > 10 P > K$ .

## RESULTADOS OBTENIDOS

*Olivo*

Es tal vez el único cultivo frutal en el que el estado nutritivo ha sido estudiado basándose en los resultados del equilibrio fisiológico. En la tabla I están recogidas las conclusiones de los investigadores especializados en este cultivo.

TABLA I

*Alimentación global y equilibrio fisiológico en olivo*

Autor	N %	10 P %	K %	Total	Proporción
Bouat, Renaud y Dulac (4, 5) ...	2.10	1.53	0.87	4.50	47:34:19
Prevot and Buchmann (24) ... ..	1.75	1.00	1.20	3.95	45:25:30
Bouat (6) ... ..	1.75	1.18	0.80	3.75	47:32:21
González y Chaves (14) ... ..				4.00	49:27:24
Recalde y Esteban (25) ... ..	1.60	0.90	0.70	3.20	50:28:22
González y Chaves (15) ... ..	2.00	1.08	0.92	4.00	50:27:23
González y Chaves (16) ... ..	1.76	1.12	0.69	3.57	49:31:20
González y Chaves... ..	1.78	1.18	0.79	3.75	48:31:21
González y Chaves (17) ... ..	1.86	1.20	0.79	3.85	49:31:20
González y Chaves (18) ... ..				3.57	48:31:21

Como puede observarse, los resultados recogidos están generalmente incluidos dentro de los valores óptimos dados por González y colaboradores (17):  $N = 47-51 \%$ ;  $10 P = 28-33 \%$  y  $K = 19-22 \%$ . Las desviaciones en los niveles críticos y en la alimentación global son debidas principalmente a las variedades.

### *Cítricos*

La nutrición de los cítricos ha sido muy estudiada. El diagnóstico del estado nutritivo ha sido siempre basado en los niveles críticos, pero el efecto de las variedades y los errores de muestreo, próximos al 10 por 100 (Carpena y col., (10)), han impedido a los investigadores establecer estos niveles con carácter absoluto, por lo que citan unos intervalos para cada nutriente entre los que suponen se encuentra la normalidad nutritiva.

En la tabla II están recogidos algunos de los resultados obtenidos por investigadores consagrados a este cultivo.

### *Melocotonero*

Es uno de los cultivos más extendidos y han sido descritas numerosas variedades. No hemos encontrado ninguna referencia en relación con el estudio del equilibrio fisiológico y los resultados de trabajos de nutrición están basados en intervalos nutritivos considerados como óptimos. De estos han sido seleccionados los recogidos en la tabla III.

### *Manzano*

Las mayores diferencias en los niveles críticos se han encontrado en este cultivo. Existen discrepancias notables no solamente para la misma variedad, sino también para el mismo autor. En general, los niveles de N recomendados son relativamente bajos en relación con el K, desequilibrio que origina pérdidas importantes de cosecha. Los errores de toma de muestra son muy altos, como demuestran Sironval y Cottenie (28), que encuentran coeficientes de variación que oscilan entre:  $N = 7,15-13,85 \%$ ,  $P = 24,10-34,63 \%$  y  $K = 6,00-17,19 \%$ .

Los resultados más importantes están recogidos en la tabla IV.

T A B L A I I

*Alimentación global y equilibrio fisiológico según los niveles críticos en hoja de cítricos*

A u t o r	Cultivo	Variedad	N %	10 P %	K %	Total	Proporción
Chapman and Brown (11) ... ..	Naranja	—	2,20	1,20	1,00	4,40	50 : 27 : 23
Chapman and Brown (11) ... ..	Naranja	—	2,45	1,50	1,35	5,30	46 : 28 : 26
Reuter y col. (26) ... ..	Naranja	—	2,50	1,40	1,20	5,10	49 : 27 : 24
Smith, P. F. (29) ... ..	Naranja	—	2,50	1,60	1,20	5,30	47 : 30 : 23
Smith, P. F. (29) ... ..	Naranja	—	2,70	1,60	1,20	5,50	49 : 29 : 22
Sakamoto & Okuchi (27) ... ..	Naranja	Satsuma	2,77	1,31	1,13	5,21	53 : 25 : 22
Sakamoto & Okuchi (27) ... ..	Naranja	Satsuma	3,49	2,03	1,96	7,48	47 : 27 : 26
Carpena y col. (7) ... ..	Limón	Verna	2,54	1,24	0,88	4,66	55 : 26 : 19
Carpena y col. (7) ... ..	Limón	Verna	2,52	1,22	0,89	4,63	54 : 26 : 19
González Sicilia (19) ... ..	Naranja	—	2,45	1,30	0,71	4,46	55 : 29 : 16
Carpena y col. (8) ... ..	Limón	Verna	2,49	1,25	0,84	4,58	55 : 27 : 18
Carpena y col. (8) ... ..	Limón	Verna	2,50	1,24	0,85	4,59	54 : 27 : 19
Carpena y col. (9) ... ..	Limón	Verna	2,33	1,20	1,12	4,65	50 : 26 : 24
Carpena y col. (9) ... ..	Limón	Verna	2,59	1,34	1,24	5,17	50 : 26 : 24
Carpena y col. (9) ... ..	Naranja	Sanguino	2,65	1,15	1,00	4,80	55 : 24 : 21
Carpena y col. (9) ... ..	Naranja	Sanguino	2,12	1,38	1,16	5,66	55 : 24 : 21
Carpena y col. (9) ... ..	Naranja	Verna	2,34	1,37	0,98	4,69	50 : 29 : 21
Carpena y col. (9) ... ..	Naranja	Verna	2,94	1,73	1,19	5,86	50 : 30 : 20
Carpena y col. (23) ... ..	Limón	Verna	2,54	1,24	0,88	4,66	54 : 27 : 19
Carpena y col. (23) ... ..	Limón	Verna	2,52	1,21	0,89	4,62	55 : 26 : 19
Carpena y col. (23) ... ..	Naranja	Verna	2,48	1,29	1,04	4,81	52 : 27 : 21
Carpena y col. (23) ... ..	Naranja	Verna	2,75	1,41	0,97	5,13	54 : 27 : 19
Carpena y col. (23) ... ..	Limón	Primofiore	2,24	1,12	1,06	4,42	51 : 25 : 24
Carpena y col. (23) ... ..	Limón	Primofiore	2,65	1,22	1,01	4,88	54 : 25 : 21
Carpena y col. (23) ... ..	Naranja	Salustiano	2,85	1,30	1,14	5,29	54 : 25 : 21



T A B L A I I I

*Alimentación global y equilibrio fisiológico según los niveles críticos en hoja de melocotonero*

A u t o r	Variedad	N %	10 P %	K %	Total	Proporción
Cullinan & Batjer (12) ... ..	Elberta	3,058	1,910	1,439	6,407	48 : 30 : 22
Kenworthy (3) ... ..	Elberta	3,790	2,43	1,56	7,78	49 : 31 : 20
Kenworthy (3) ... ..	Halehaven	4,16	2,93	1,54	8,63	48 : 34 : 18
Kenworthy & Bene (3) ... ..	Redhaven	4,15	2,62	1,55	8,32	50 : 31 : 19
Smith & Taylor (3) ... ..	Elberta	3,71	2,00	2,52	8,23	45 : 24 : 31
Smith & Taylor (3) ... ..	Elberta	3,50	1,90	2,42	7,82	45 : 24 : 31
Thomas (3) ... ..	Sunhish	3,22	1,80	1,34	6,36	51 : 28 : 21
Thomas (3) ... ..	Sunhish	3,30	1,66	1,24	6 20	53 : 27 : 20
Sato (3) ... ..	Okubo	4,38	3,00	2,25	9,63	46 : 31 : 23
Sato (3) ... ..	Shogyoku	4,04	3,20	2,10	9,34	43 : 34 : 23
Sato (3) ... ..		2,27	1,80	1,46	5,53	41 : 33 : 26
Sato (3) ... ..		3,37	2,00	1,46	6,83	49 : 29 : 22
Lalatta (3) ... ..	Cumberland	3,12	1,88	1,63	6,63	47 : 28 : 25
Lalatta (3) ... ..	Cumberland	2,71	1,78	1,51	6,00	45 : 30 : 25
Ritter (21) ... ..		4,18	2,40	1,85	8,43	50 : 28 : 22
Ritter (21) ... ..		3,96	2,00	1,82	7,78	51 : 26 : 23
Ritter (21) ... ..		3,86	2,10	1,92	7,88	49 : 27 : 24
Popenoe & Scott (21) ... ..		3,03	2,10	1,92	7,05	43 : 30 : 27
Popenoe & Scott (21) ... ..		3,21	1,90	1,56	6,67	48 : 29 : 23
Popenoe & Scott (21) ... ..		2,93	1,90	1,59	6,42	46 : 30 : 24
Archibal (2) ... ..	Elberta	3,35	2,40	1,91	7,66	44 : 31 : 25
Archibal (2) ... ..	Golden Jubilee	3,36	2,50	2,03	7,89	43 : 32 : 25
Archibal (2) ... ..	Redhaven	3,50	2,60	1,84	7 94	44 : 33 : 23
Archibal (2) ... ..	Veteran	3,46	2,60	1,80	7,86	44 : 33 : 23
Kenworthy (3) ... ..		3,87	2,60	1,68	8,15	48 : 32 : 20
Bayers (3) ... ..		2,20	1,20	0,80	4,20	52 : 29 : 19
Dotti (3) ... ..		3,50	1,60	1,00	6,10	57 : 26 : 17
Fernández y col. (13) ... ..	Jeromo	3,68	2,46	1,95	8,09	46 : 30 : 24

TABLA IV

*Alimentación global y equilibrio fisiológico según los niveles críticos en hoja de manzano*

Autor	Variedad	N %	10 P %	K %	Total	Proporción
Walraht & Smith (22) ... ..		2,51	1,17	0,82	4,50	56 : 26 : 18
Smith & Taylor (22) ... ..		2,47	1,53	1,12	5,12	48 : 30 : 22
Cain (22)... ..	McIntosh	2,18	1,45	1,35	4,98	44 : 29 : 27
Award & Kenworthy (22) ... ..		2,04	1,95	1,45	5,44	37 : 36 : 27
Bunemann (31)... ..	Cox	2,41	2,14	1,64	6,19	39 : 35 : 26
Bunemann (31)... ..	Goldparmane	2,37	1,79	1,21	5,37	44 : 33 : 23
Bunemann (31)... ..	Baskoop	2,18	1,83	1,41	5,42	40 : 34 : 26
Adamic (1) ... ..	Cox	2,22	1,77	1,26	5,25	42 : 34 : 24
Adamic (1) ... ..	Jonathan	2,19	1,63	0,93	4,75	46 : 34 : 20
Greenham (20) ... ..	Laxton's M-11	2,70	1,75	1,16	5,61	48 : 31 : 21
Sironval & Cottenie (28) ... ..	Cox	3,17	2,87	1,35	6,75	44 : 38 : 18
Sironval & Cottenie (28) ... ..	Cox	2,78	2,23	1,11	6,12	46 : 36 : 18
Trzcinski (30) ... ..	Cox Orange	2,34	2,02	1,23	5,59	42 : 36 : 22
Trzcinski (30) ... ..	Cox Orange	2,58	2,09	1,24	5,91	44 : 35 : 21
Pijoan Pascual ... ..	Golden delicious	2,65	1,50	1,25	5,40	49 : 28 : 23

## D I S C U S I Ó N

Se ha estudiado solamente el equilibrio N:10 P:K porque el contenido de estos elementos en planta regula, por antagonismo o sinergismo, el de los restantes macronutrientes. Sirva para ello de ejemplo el conocido antagonismo K-Mg o el sinergismo N-P, por citar dos de los más conocidos.

Hemos fijado la condición fisiológica  $N > 10 P > K$  porque la inversión de valores de alguna de las parejas que pueden formarse supone un desequilibrio que afecta fundamentalmente a la cosecha, al crecimiento o a ambos. Como ejemplo citaremos el encontrado en frutales con mucha frecuencia de  $N < K$ . Las consecuencias que se derivan de esta situación son las siguientes: disminución del crecimiento, pérdida de cosecha y fruto de baja calidad. Los resultados obtenidos por Pijoan Pascual, 90.000 Kg/Ha. de manzanas (Golden Delicious), demuestran la eficacia de un buen equilibrio.

Es posible que el equilibrio nutritivo sea muy parecido, en principio, para los cultivos estudiados, ya que los coeficientes de variación obtenidos no difieren demasiado del que algunos autores encuentran para la toma de muestras (tabla V).

No parecen existir diferencias entre variedades, condiciones del suelo

T A B L A V

*Valores medios y coeficientes de variación para la proporción de los cultivos estudiados*

		N %	10 P %	K %
Olivo.....	Media	48,2 ± 1,1	29,7 ± 2,0	22,1 ± 2,2
	Coef. var.	3,21 %	9,40 %	14,22 %
Cítricos.....	Media	51,9 ± 1,2	26,8 ± 0,7	21,3 ± 1,0
	Coef. var.	5,61 %	6,31 %	11,85 %
Melocotonero.....	Media	47,3 ± 1,4	29,7 ± 1,1	23,0 ± 1,3
	Coef. var.	7,61 %	9,27 %	14,47 %
Manzano.....	Media	44,6 ± 2,6	33,0 ± 1,9	22,4 ± 1,7
	Coef. var.	10,40 %	10,43 %	14,10 %
Media general.....	Media	48,4 ± 1,0	29,4 ± 0,8	22,2 ± 0,7
	Coef. var.	8,93 %	11,51 %	13,77 %

o métodos de cultivo, ya que la concordancia entre los resultados obtenidos —en muy diferentes condiciones— es muy alta.

No ha sido posible realizar un análisis estadístico más completo de los resultados recogidos, ya que se ignora el número de experiencias realizadas por cada investigador para la deducción de sus niveles óptimos.

### CONCLUSIONES

1.<sup>a</sup> El equilibrio fisiológico (N % : 10 P % : K %) bajo el punto de vista agronómico, parece el mismo para el olivo, cítricos, melocotonero y manzano y puede responder, en general, a la proporción N = 50 %, 10 P = 30 % y K = 20 %.

2.<sup>a</sup> Esta relación es independiente de las condiciones ecológicas y de cultivo y representa la máxima cosecha en cantidad y calidad en el lugar considerado. Posiblemente corresponde a unas constantes fisiológicas.

3.<sup>a</sup> Es conveniente que este método sea aplicado por otros investigadores y a otros cultivos.

### RESUMEN

En el presente estudio se ha calculado el equilibrio fisiológico de algunos cultivos frutales importantes, expresado en la relación N:10 P:K.

Este cálculo ha sido basado en los niveles nutritivos considerados como óptimos por investigadores consagrados en cada cultivo.

Parece ser que el equilibrio fisiológico es el mismo para los cultivos estudiados y puede ser expresado por la relación: N = 50 % ; 10 P = 30 % ; K = 20 %. independientemente de la variedad y de las condiciones ecológicas y de cultivo.

Es deseable que este método sea aplicado por otros investigadores a otros cultivos.

*Sección de Química Agrícola.  
Estación Experimental del Zaidín.  
Granada.*

### BIBLIOGRAFÍA

- (1) ADAMIC, F. (1964). Effects of certain soil management systems on the mineral nutrition status and on the growth of apple trees in the humid sub-alpine region of Slovenia. I Colloq. Eur. Nutr. Fert. Montpellier, 97-107.
- (2) ARCHIBAL, J. A. (1964). Weather effects on leaf-nutrient composition of fruit crops. Plant analysis and fertilizer problems. Vol. IV, 3, Amer. Soc. Hort. Sci., N. York.
- (3) BALLINGER, W. E., BELL, H. K. & CHILDERS, N. F. (1966). Peach Nutrition. Temperate to Tropical Fruit Nutrition, 286, 292, 300, 301, Norman F. Childers N. Jersey.

- (4) BOUAT, A., RENAUD, P. & DULAC, J. (1954). Etude sur la physiologie de la nutrition de l'olivier. *Ann. Agronom.*, IV, 459-488.
- (5) BOUAT, A. (1956). La fumure de l'olivier. La solution apportée par le diagnostic foliaire. *Anal. Plantes et Probl. Fum. Minérale*, I. R. H. O., Paris, 311-321.
- (6) BOUAT, A. (1964). L'analyse foliaire et l'olivier. I Colloq. Eur. Nutr. Fert. Montpellier, 253-264.
- (7) CARPENA, O., ALCARAZ, C. y LEÓN, A. (1968). Balance nutriente del limonero Verña. II Coloq. Eur. Medit. Contr. Fert. Plant. Cult., Sevilla, 423-433.
- (8) CARPENA, O., LLORENTE, S. y ALCARAZ, C. (1969). Fluctuaciones estacionales de nitrógeno, fósforo y potasio en limoneros normales y cloróticos. *An. Edaf. Agrobiol.*, XXVIII, 49-62.
- (9) CARPENA, O., LLORENTE, S. y ALCARAZ, C. (1969). Influencia de la variedad de Citrus en la evolución foliar N, P, K. *An. Edafol. Agrobiol.*, XXVIII, 725-734.
- (10) CARPENA, O., MONLLOR, E. y HELLÍN, E. (1972). Nuevo método de muestreo en «Citrus». Limonero. *Rev. Agroquim. Tecnol. Aliment.*, 12, 281-290.
- (11) CHAPMAN, H. D. & BROWN, G. (1950). Analysis of orange leaves for diagnosing nutrient status with reference to potassium. *Hilgardia*, 19, 501-540.
- (12) CULLINAN, F. P. & BATJER, L. P. (1943). Nitrogen, phosphorus and potassium interrelationships in young peach and apple trees. *Soil. Sci.*, 55, 49-60.
- (13) FERNÁNDEZ, F. G., GUILLÉN, M. G. y CARO, M. (1965). Evolución anual en hojas de frutales. II. Melocotonero. *An. Edafol. Agrobiol.*, XXIV, 91-102.
- (14) GONZÁLEZ, F., CHAVES, M., MAZUELOS, C. y GARCÍA, A. M. (1964). Estado actual del equilibrio nutritivo en el olivar de la provincia de Sevilla. I Colloq. Eur. Nutr. Fert. Montpellier, 273-286.
- (15) GONZÁLEZ, F., GARCÍA, A. M. y CHAVES, M. (1967). Estado de nutrición, equilibrio nutritivo y rendimiento en el olivar de la provincia de Sevilla. I. Estudio sobre variedades de aceite. *An. Edafol. Agrobiol.*, XXVI, 733-762.
- (16) GONZÁLEZ, F., GARCÍA, A. M., CHAVES, M. y MAZUELOS, C. (1968). Equilibrio nutritivo en variedades de olivar de mesa de la provincia de Sevilla. II Coloq. Eur. Medit. Contr. Fert. Plant. Cult. Sevilla, 189-199.
- (17) GONZÁLEZ, F., GARCÍA, A. M., CHAVES, M. y MAZUELOS, C. (1970). Estado de nutrición, equilibrio nutritivo y rendimiento en el olivar de la provincia de Sevilla. II. Estudio sobre la variedad «Gordal» de mesa. *An. Edafol. Agrobiol.* XXIX, 317-341.
- (18) GONZÁLEZ, F., GARCÍA, A. M., CHAVES, M. y MAZUELOS, C. (1970). Estudio de la nutrición, equilibrio nutritivo y rendimiento en el olivar de la provincia de Sevilla. III. Estudio sobre la variedad «manzanillo» de mesa. *An. Edafol. Agrobiol.*, XIX, 683-697.
- (19) GONZÁLEZ SICILIA, E. (1968). El cultivo de los agrios. Bello, Valencia, 338.
- (20) GREENHAM, D. W. P. (1964). The influence of soil management practices on the mineral composition of apple leaves. I Colloq. Eur. Nutr. Fert. Montpellier, 120-123.
- (21) KENWORTHY, A. L. & LLOYD MARTIN. (1964). Mineral contents of fruit plants. Temperate to Tropical Fruit Nutrition. Norman F. Childers, N. Jersey, 847.
- (22) KENWORTHY, A. L. & LLOYD MARTIN. (1964). Mineral contents of fruit plants. Temperate to Tropical Fruit Nutrition. Norman F. Childers, N. Jersey, 815-818.
- (23) ORTUÑO, A., CARPENA, O. y ALCARAZ, C. (1971). Influencia de la variedad en el balance nutriente de los Citrus. *An. Edafol. Agrobiol.*, XXX, 1113-1121.
- (24) PREVOT, P. & BUCHMANN, B. (1960). Diagnostic foliaire de l'olivier irrigué. Evolution des teneurs au cours de l'année. *Fertilité*, núm. 10, 3-11.
- (25) RECALDE, L. y ESTEBAN, E. (1966). Nutritous equilibrium of olive crops, studied through leaf analysis. *Agrochimica*, X, 371-385.
- (26) REUTHER, W., JONES, W. W., EMBLETON, T. W. & LABANAUSKAS, C. K. (1964). El análisis foliar como guía para la fertilización de los agrios. *Levante Agrícola*, núm. 27, 18-22.

- (27) SAKAMOTO, T. & OKUCHI, S. (1967). The effect of the physical and chemical properties of soils derived from different matrices on the growth of Satsuma orange trees. IV. On differences in the constituents of inorganic macroelements in Satsuma orange leaves growing on six different soils in a nine-years frame experiment. *J. Jap. Hort. Sci.*, **36**, 151-160.
- (28) SIRONVAL, C. & COTTENIE, A. (1964). Premiers résultats de l'analyse foliaire de pommiers en macro et microéléments dans la région de Saint-Trond. I Colloq. Eur. Nutr. Fert. Montpellier, 133-137.
- (29) SMITH, P. F. (1966). Leaf analysis of citrus. Temperate to Tropical Fruit Nutrition. Norman F. Childers, N. Jersey, 214.
- (30) TRZCINSKI, T. (1964). Observations sur la sensibilité du diagnostic foliaire en relation avec les fumures pratiquées en sols riches. I Colloq. Eur. Nutr. Fert. Montpellier, 138-144.
- (31) VON DE HAAS, P. G. (1964). Arbeiten über die mineralstoffernahrung von obstgehölzen aus dem institut für obstbau und baumschule der Technischen Hochschule Hannover in Sarstedt. I Colloq. Eur. Nutr. Fert. Montpellier, 85-89.

Recibido para publicación: 11-XI-74

## NOTAS

### DIRECTOR HONORARIO DEL INSTITUTO DE ACLIMATACION DE ALMERIA

D. Manuel Mendizábal Villalba, que recientemente, por razones de edad, ha cesado como Director del Instituto de Aclimatación de Almería, ha sido promovido a Director Honorario del mismo por el Consejo Superior de Investigaciones Científicas, en virtud de propuesta del Patronato «Alonso de Herrera» y de la División de Ciencias.

D. Manuel Mendizábal, desde la creación del Patronato «Alonso de Herrera» ha venido ostentando, al igual que en el C. S. I. C., los cargos más caracterizados en los mismos desde Presidente del Patronato a Consejero de Número, siendo creador del Instituto de Aclimatación de Almería, donde introdujo líneas de investigación muy adecuadas sobre cultivos y técnicas modernas en las que era un destacado especialista. En los últimos años su actividad sobre cultivos bajo plástico era internacionalmente conocida. De ahí que su labor haya sido reconocida y premiada con el nombramiento de Director Honorario, desde el cual podrá seguir asesorando al Centro con su dilatada experiencia.

### DIRECTOR HONORARIO DEL CENTRO DE EDAFOLOGIA Y BIOLOGIA APLICADA DEL SEGURA Y DEL INSTITUTO DE ORIENTACION Y ASISTENCIA TECNICA DEL SURESTE

El profesor D. Octavio Carpena Artés, actualmente Secretario General del C. S. I. C., y que voluntariamente ha cesado como Director del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura de Murcia, ha sido nombrado, a propuesta del Patronato «Alonso de Herrera» y de la División, Director Honorario de dichos Centros por el Consejo Ejecutivo del C. S. I. C., reconociéndose así la valiosa labor llevada a cabo durante muchos años al frente de ambas Instituciones, a cuyo desarrollo y prestigio ha contribuido decisivamente.

### DIRECTOR HONORARIO DE LA ESTACION BIOLOGICA DE DOÑANA

Igualmente a propuesta del Patronato «Alonso de Herera» y de la División de Ciencias, ha sido nombrado Director Honorario de la Estación Biológica de Doñana, el profesor D. José Antonio Valverde Gómez.

el cual hasta fecha reciente ha sido Director efectivo de la misma. Se reconoce con este nombramiento todo el trabajo desplegado por el profesor Valverde para crear la Estación y conseguir para la misma un reconocimiento internacional como Centro Científico y de reserva Zoológica.

#### REUNION DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA» EN BURGOS

Bajo la presidencia del profesor Hernando, se ha reunido en Burgos el día 11 de julio la Junta de Gobierno del Patronato «Alonso de Herrera». La reunión tuvo lugar en el Salón de Sesiones de la Diputación Provincial.

Debe subrayarse en primer lugar que una de las finalidades de la reunión era establecer las adecuadas relaciones con las autoridades Burgaleses, en orden a establecer una coordinación de actividades para el establecimiento de un Centro del C. S. I. C. en el denominado macizo cárstico localizado en las proximidades de Villarcayo, que tendrá un carácter científico multidisciplinario. En principio los contactos y relaciones establecidos, especialmente con la Diputación Provincial deben calificarse como altamente satisfactorios, siendo de prever que se llegue a acuerdos fructíferos en el futuro para ambas instituciones. Se tuvo ocasión de visitar el aludido macizo cárstico y en particular la denominada Cueva Ojo de Guareña, cuyas perspectivas y posibilidades para la investigación científica en diferentes áreas, se pusieron de manifiesto, así como las consecuencias de los estudios correspondientes para el desarrollo socio-económico de la comarca de Villarcayo.

Debe destacarse que en estos contactos y actividades han jugado un importante papel el Excmo. Sr. Gobernador Civil y el Ilmo. Sr. Presidente de la Diputación.

#### PROPUESTA PARA EL PREMIO DE CIENCIAS LA UNESCO

En atención a los requisitos exigidos en la Convocatoria del Premio de Ciencias de la UNESCO y a la vista de las circunstancias y méritos personales del profesor Margalef, el Patronato «Alonso de Herrera», ha formulado propuesta en favor del mismo, presentándole como candidato español en las áreas que cultiva para optar a la aludida distinción.

#### REUNION DEL CONSEJO EJECUTIVO DE LA FUNDACION EUROPEA DE LA CIENCIA

El día 9 de junio ha tenido lugar en Estrasburgo la reunión del Consejo Ejecutivo de esta Fundación, asistiendo a la misma como miembro titular el Secretario General Adjunto del C. S. I. C., profesor Pérez Masia.



Debe recordarse que esta Fundación es una asociación internacional no gubernamental, de organizaciones dedicadas a la promoción de la investigación básica.

Los principales objetivos de la Fundación son:

Cooperación a nivel europeo, en investigación básica.

Promover la movilidad de los investigadores y la libre circulación de ideas e información.

Armonizar las actividades de investigación básica sostenida por los Organos miembros de la Fundación.

Cooperación en la evaluación y ejecución de proyectos importantes y en la puesta a punto y utilización de equipos, instalaciones o servicios especializados de elevado coste.

Conceder ayudas económicas para financiar acciones concertadas o esquemas de colaboración.

En la reunión de su Consejo, presidido por el Presidente de la Fundación, profesor Sir Brian Flowers, se ha tratado de la puesta en marcha de la misma, que paulatinamente va organizándose e iniciando sus actividades.

Han iniciado sus tareas, o pronto van a comenzarlas, los Grupos de Trabajo sobre cooperación en Astronomía, sobre responsabilidad de los científicos implicados en la investigación genética y sobre ciencias del espacio, de los que forman parte prestigiosos investigadores del C.S.I.C.

Igualmente el Consejo dedicó parte de su atención a un proyecto para construir una instalación capaz de producir y estudiar colisiones electrón-positrón.

Finalmente se ocupó la Fundación de los proyectos de Reglamentos de la Asamblea, del Consejo Ejecutivo y Financiero, preparados para desarrollar el Estatuto de la misma.

#### NOMBRAMIENTO DE MIEMBROS DEL CONSEJO TECNICO DEL PATRONATO «ALONSO DE HERRERA»

Por la Junta de Gobierno del Patronato «Alonso de Herrera», se han hecho las siguientes propuestas de miembros del Consejo Técnico del mismo, que el Consejo Ejecutivo ha aceptado, en favor de los señores siguientes:

D. Jesús Gay Ruidíaz, Gobernador Civil de Burgos.

D. Pedro Carazo Carnicero. Presidente de la Diputación Provincial de Burgos.

D. José Aparicio Calvo Rubio, Gobernador Civil de Murcia.

D. Ginés Huertas Celdrán, Presidente de la Diputación Provincial de Murcia.

D. Clemente García García, Alcalde de Murcia.

D. Fernando de Elzabaru Márquez, Presidente de ASPA.

D. Antonio del Olmo Parra, Director del Servicio de Información Comercial del Banco Exterior de España.

## AUTORIZACIONES PARA ASISTIR A CONGRESOS, REUNIONES Y EFECTUAR VIAJES DE ESTUDIO AL EXTRANJERO

Por la División de Ciencias Matemáticas, Médicas y de la Naturaleza se han propuesto los desplazamientos del personal investigador que se menciona para asistir a las reuniones que se citan en cada caso. Este personal pertenece al Instituto Nacional de Edafología y Agrobiología y Centros afines.

D. Miguel Hycka Maruniak, Investigador Científico de la Estación Experimental de Aula Dei, para trasladarse a Australia, Nueva Zelanda y U. S. A. durante tres meses, con el fin de realizar estudios sobre problemas relacionados con la mejora de plantas pratenses y forrajeras, y mejora de pastos y forrajicultura en general.

D. Teófilo Fernández Alvarez, Profesor de Investigación del Instituto de Edafología y Biología Vegetal, para asistir a un cursillo «mes investigador» en el Institut de Recherches sur la Catalyse de Lyon (Francia).

D.<sup>a</sup> Concepción Tabuenca Abadía, Investigador Científico de la Estación Experimental de Aula Dei, para asistir al Coloquio organizado por el GREMPA en Montpellier (Francia) del 7 al 11 de septiembre.

D. Valentín Hernando Fernández, Profesor de Investigación del Instituto de Edafología y Biología Vegetal, para asistir al Annual Meeting of the ESNA en Cadarache (Francia) del 8 al 12 de septiembre.

D. José Antonio Díez López, contratado del Instituto de Edafología y Biología Vegetal, para asistir al VI Annual Meeting European Society of Nuclear Methods in Agriculture, a celebrar en Cadarache (Francia) del 7 al 12 de septiembre.

### *Reuniones nacionales*

Igualmente se han concedido las autorizaciones siguientes para reuniones a celebrar en el territorio nacional.

II Reunión Nacional del Grupo de Trabajo del Cuaternario. Jaca (Huesca), 15-20 septiembre.

Instituto de Edafología y Biología Vegetal:

- D. José Luis Labrandero Sanz, Titulado Técnico Especializado.
- D.<sup>a</sup> Trinidad Aleixandre Campos, Investigador Científico.
- D.<sup>a</sup> Ascensión Pinilla Navarro, Investigador Científico.
- D. José Luis Moreno Alvarez, Colaborador Científico.
- D. Juan Gallardo Díaz, Titulado Técnico Especializado.

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura:

- D. Roque Ortiz Silla, Contratado.

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Cuarto:

D. Luis Clemente Salas, Colaborador Científico.

Reuniones de Suelos de Canarias, Tenerife 30 agosto 6 septiembre.

Instituto de Investigaciones Agrobiológicas de Galicia:

D.<sup>a</sup> Tarsi Berta Carballas Fernández, Investigador Científico.

D.<sup>a</sup> María del Carmen Villas Celorio, Colaborador Científico.

Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura:

D. Luis Josafat Alias Pérez, Jefe de Sección.

D. Juan Albaladejo Montero.

XVII Reunión Bienal de la Real Sociedad Española de la Física y Química. Alicante, 27 octubre al 2 de noviembre.

Instituto de Edafología y Biología Vegetal:

D. Francisco Velasco de Pedro, Profesor de Investigación.

## VIII CONGRESO INTERNACIONAL DE FERTILIZANTES QUIMICOS

La XIV Asamblea General del Centro Internacional de Fertilizantes Químicos aprobó en su día la proposición de la delegación soviética de organizar el VIII Congreso Internacional de Fertilizantes Químicos en Moscú, del 21 al 27 de junio de 1976.

A tales efectos, y para preparar este Congreso, se creó un Comité de organización soviética, el cual ha dado a conocer su programa de actuación.

El Programa científico-técnico del Congreso, abarca los siguientes extremos: Tema del Congreso: «Los fertilizantes químicos; rendimiento; naturaleza».

Por otro lado, de acuerdo con el Comité Ejecutivo del Centro Internacional de Fertilizantes Químicos, el Comité de Organización ha definido los temas de los rapports de las sesiones plenarias y de las sesiones de los grupos de trabajo.

La temática de los rapports para las sesiones plenarias será la siguiente:

Estado actual y perspectivas de la aplicación de los fertilizantes químicos en la U. R. S. S.

Producción de fertilizantes químicos en la U. R. S. S.

Producción y aplicación de fertilizantes químicos en el mundo; su papel en el aumento de los rendimientos agrícolas y en el aprovisionamiento en productos alimentarios de la población mundial.

Papel de los fertilizantes en la mejora de la calidad de los productos agrícolas.

Métodos actuales y formas del servicio agroquímico a la agricultura.

Experiencia mundial de aplicación de dosis elevadas de fertilizantes químicos durante largos períodos y regulación de la fertilidad de los suelos.

Principios teóricos y práctica de la aplicación de los fertilizantes químicos con vistas a la obtención de la recolección planificada.

Estado actual, perspectiva y coordinación internacional de la investigación para la protección del medio ambiente contra la acción de productos químicos.

Aplicación de isótopos al estudio de la fecundidad de los suelos y de la alimentación de las plantas.

Para las sesiones de los Grupos de Trabajo, la temática en cada caso es la siguiente :

*Grupo 1.* Principios teóricos de la nutrición de vegetales y práctica de la utilización efectiva de fertilizantes químicos y orgánicos en el mundo.

Principios teóricos y práctica de la aplicación eficaz de los fertilizantes químicos a los cultivos siguientes :

Cereales, Cultivos industriales ; Cultivos forrajeros ; patatas ; legumbres y cucurbitáceas ; frutales ; agrios, viñas y otros cultivos subtropicales ; cultivos tropicales ; cultivos decorativos y flores.

Importancia de la variedad en la utilización racional de los fertilizantes.

Principios teóricos de programación de la fecundidad del suelo.

Condiciones edafoclimáticas y eficacia de los fertilizantes químicos.

Principios teóricos y práctica del encalado y enyesado.

*Grupo 2.* Mecanización de la aplicación de los fertilizantes :

Tecnología moderna para la aplicación de fertilizantes : sin riego ; con riego ; sobre suelos erosionados ; sobre suelos drenados.

Tecnología de la aplicación de fertilizantes líquidos.

Tecnología de la aplicación combinada de fertilizantes, pesticidas y otros productos químicos.

Particularidades tecnológicas de la aplicación de fertilizantes en cultivos anuales y vivaces en el campo y en invernadero.

Tecnología de la producción y aplicación de mezclas de abonos secos.

Mecanización de la distribución de fertilizantes químicos para los diferentes cultivos.

La tecnología y las máquinas aseguran la distribución regular de fertilizantes.

Métodos de conservación de fertilizantes químicos secos.

Tecnología de los trabajos de mantenimiento para el transporte y conservación de fertilizantes.

### *Grupo 3.* Servicio agroquímico de la Agricultura :

Principios de organización y formas del servicio agroquímico de la Agricultura.

Formas y métodos del análisis agroquímico de los suelos.

Organización de los análisis y de los laboratorios: equipo moderno destinado a efectuar los análisis en serie de los suelos y de los vegetales, y a la medida de la calidad de los productos agrícolas.

Principios para la puesta a punto de las recomendaciones relativas a la aplicación eficaz de los fertilizantes.

Utilización de los métodos matemáticos y económicos, e igualmente de los ordenadores para determinar las necesidades en fertilizantes y poner a punto las recomendaciones relativas a su empleo en las explotaciones.

Papel de los Centros agroquímicos y de los Centros de tratamientos químicos en el aumento de la eficacia de la aplicación de los fertilizantes químicos y de la cal.

### *Grupo 4.* Empleo de productos químicos en la producción agrícola y problemas de protección del medio ambiente.

Principios teóricos del empleo de fertilizantes en la rotación de cultivos

Principios teóricos y procedimientos prácticos para el aumento del índice de asimilación de la materia activa de los fertilizantes.

Aplicación de fertilizantes y equilibrio de materias nutritivas en el suelo.

Dinámica de la acumulación y transformación de las combinaciones químicas perjudiciales en los suelos en función del empleo intenso de productos químicos.

Agentes químicos y su influencia sobre la materia orgánica y sobre la modificación de propiedades fisicoquímicas de los suelos.

Principios teóricos y práctica de la lucha contra la polución de las tierras cultivadas.

Método de control de la acumulación y la transformación de las combinaciones químicas en el suelo.

Arrastre por lavado de la materia nutritiva de los fertilizantes y del suelo por las aguas de drenaje, riego y chorreo superficial.

Principios teóricos, procedimientos y métodos de reducción de pérdidas de materias nutritivas de los fertilizantes a causa del lavado.

### *Grupo 5.* Fertilizantes químicos y calidad de las cosechas :

Principios teóricos y práctica de la aplicación de los fertilizantes para obtener cosechas de alta calidad.

Influencia de los fertilizantes químicos sobre los diferentes índices de calidad de los productos agrícolas: Cultivos, cultivos industriales, cultivos forrajeros, cultivos decorativos.

Influencia de las condiciones edafológicas y de los abonos sobre la calidad de la cosecha.

Oligoelementos y calidad de los productos agrícolas.

Influencia de los métodos de distribución de fertilizantes sobre la calidad de la producción agrícola.

*Grupo 6.* Economía de la producción y empleo de los fertilizantes químicos:

Medios de reducción de precios de reventa de la producción de los abonos químicos.

Economía de la producción, del transporte y del almacenaje de abonos líquidos.

Eficacia económica de la aplicación de fertilizantes a los diversos cultivos.

Eficacia económica de las diferentes formas del servicio agroquímico de la agricultura.

*Grupo 7.* Tecnología de la producción y evaluación agroquímica de las nuevas formas y tipos de fertilizantes químicos.

Orientaciones principales del desarrollo de la tecnología de la producción y de la gama de fertilizantes: nitrogenados, fosfatados, potásicos y compuestos.

Procedimientos de producción del ácido polifosfórico.

Principios científicos de la síntesis de nuevos tipos de abonos químicos.

Posibilidades de organización de la producción de abonos no clorados.

Tecnología de la producción y almacenaje de los abonos nitrogenados líquidos y compuestos.

Métodos de la mejora de las propiedades físicas de abonos químicos.

Métodos de control de la calidad de fertilizantes químicos.

Posibilidades de utilización de materias primas pobres en fosfato para la producción de fertilizantes concentrados.

Evaluación agroquímica de nuevos tipos y formas de fertilizantes químicos.

*Grupo 8.* Utilización de métodos nucleares para el estudio del sistema: Planta-suelo-fertilizante.

Aplicación de la energía nuclear en el dominio de la alimentación mineral de las plantas y de la fecundidad de los suelos.

Datos actuales y métodos de utilización de las irradiaciones ionizantes para el estudio de la fisiológica de las plantas.

Utilización del isótopo estable  $^{15}\text{N}$  para el estudio de la alimentación de las plantas y fertilizantes nitrogenados.

Utilización de los métodos actuales de isótopos radiactivos para el estudio del rendimiento de utilización de los abonos.

Métodos novísimos de utilización de la energía nuclear para el estudio del sistema: Planta-suelo-fertilizante.

## REUNION DEL COMITE INTER-INSTITUOS DE ANALISIS FOLIAR

El doctor D. Manuel Chaves Sánchez, Profesor de Investigación del Centro de Edafología y Biología Aplicada del Cuarto, ha asistido a la reunión del Comité Inter-Institutos de Análisis Foliar, celebrada en Gante (Bélgica), facilitando el siguiente informe sobre el desarrollo y resultados de la misma, que tuvo lugar los días 1 a 4 del presente mes de mayo, en la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de Gante, bajo la dirección del profesor Cottenie, miembro del Comité y Vice-rector de la citada Universidad.

### *Actividades*

Como es sabido, el Comité se ocupa del estudio de las técnicas analíticas de material vegetal para establecer en cada caso un método de referencia que permita una normalización de metodologías analíticas en orden a obtener resultados comparables por los diversos investigadores. En este sentido se han discutido ampliamente los resultados obtenidos por los diferentes laboratorios en la encuesta precedente y se han señalado los trabajos a efectuar en la siguiente.

En las diferentes sesiones se trataron los siguientes temas:

a) Se discutió sobre los resultados de análisis de sodio en hojas de olivo y de café en los que se habían obtenido fuertes dispersiones con alto coeficiente de variación. La escasa proporción de este elemento junto a posibles contaminaciones han sugerido adoptar determinadas precauciones que serán ensayadas en la siguiente encuesta.

b) Se han estudiado y discutido los resultados obtenidos en análisis de suelos realizados sobre cuatro muestras distribuidas anteriormente por el laboratorio del profesor Cottenie. En estas muestras fueron determinados fósforo, potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, manganeso y zinc. Aunque los resultados presentaban variaciones apreciables, se espera obtener una mayor concordancia en plazo breve.

c) El Comité pasó a ocuparse de la metodología de la determinación de azufre total y cloruros, de la que se hizo un estudio crítico, acordándose sean realizadas estas determinaciones, así como la de nitrógeno total, en todas las muestras del «Banco» del C. I. I. A. F.

d) Por el doctor Trezinski, de la Universidad de Gembloux, se amplió una anterior información sobre análisis de nitrógeno en aguas.

e) La doctora Teulón, dio cuenta de un informe sobre la determinación de fluoruros en material vegetal que fue ampliamente discutido para ser incluido en los próximos trabajos del Comité. La determinación con electrodo específico parece ser la metodología más sugestiva.

f) Finalmente, la doctora Cas sometió a estudio un informe sobre la determinación de las diferentes formas de nitrógeno en tejidos vegetales cuya discusión fue iniciada para continuarla en la próxima reunión.

g) El profesor Van Schouwenburg, de la Universidad Agrícola de Wageningen (Holanda), propuso que la próxima reunión del Comité fuese celebrada en aquella Universidad durante el mes de octubre próximo, siendo aceptado su ofrecimiento.

h) Entre las visitas efectuadas cabe destacar las realizadas a los laboratorios de Análisis de la Facultad de Agronomía, pertenecientes a la Cátedra del profesor Cottenie, en donde fueron mostradas prácticamente algunas determinaciones de flúor por ionometría y manejo de espectro-fotómetros de Adsorción Atómica sin llama.

#### REUNION PARA LA RACIONALIZACION DE REVISTAS CIENTIFICAS DE FISIOLOGIA VEGETAL Y PARA LA CREACION DE LA FEDERACION EUROPEA DE SOCIEDADES DE FISIOLOGIA VEGETAL

A esta reunión celebrada en el C. N. R. S. de París el día 20 de mayo asistió el profesor Vicitez, el cual ha realizado el siguiente informe sobre lo tratado en dicha reunión sobre las materias estudiadas.

Fue organizada por el comité del West European Science Research Councils (ESRC) como continuación de la reunión celebrada por el grupo *ad hoc* para la racionalización de revistas científicas en Ronneby Brunn (Suecia), el 20 de febrero de 1975.

A la reunión de París asistieron en calidad de miembros del citado grupo *ad hoc*:

Profesor A. Kylin (Presidente), representando Statens naturvidenskabelige forskningsrad, Dinamarca.

Profesor A. Moyse, representando Centre National de la Recherche Scientifique, Francia.

Profesor H. Ziegler, representando Deutsche Forschungsgemeinschaft, Federal Republic de Alemania.

Profesor K. Faegri, representando Norges almenvitenckapelige forskningsrad, Noruega.

Mr. H. Rundquist, representando Statens naturvetenskapliga forskningsrad, Suecia.

Profesor L. Simola, representando Science Research Council of the Academy de Finlandia.

Mr. G. Friborg (Secretario), representando Committee of West European Science Research Councils, Suecia.

Como representantes de Sociedades Nacionales y otros organismos asistieron:

Deutsche Botanische Gesellschaft: profesor doctor A. Pirson. República Democrática Alemana.



Society for Experimental Biology: profesor C. P. Whittingham, Harpenden, Reino Unido.

Profesor J. E. Dale, Edimburgo, Escocia.

Société Française de Physiologie végétale: C. Lance, Francia.

Scandinavian Society for Plant Physiology: profesor Torsten Ingestad Suecia.

Société Royale de Botanique de Belgique: profesor L. Neirinx, Bélgica.

Royal Botanical Society of the Netherlands: doctor G. Staritzky, Holanda.

Consejo Superior de Investigaciones Científicas: profesor Ernesto Vieitez, España.

Como representantes de revistas científicas de Fisiología vegetal, asistieron:

Journal of experimental Botany: doctor B. C. Loughman, Reino Unido.

The Clarendon Press: Mr. J. Cordy, Reino Unido.

Physiologia Plantarum: profesor Torsten Ingestad, Suecia.

Physiologie végétale: profesor A. Moyses, Francia.

De acuerdo con el programa de la reunión, presidida por el profesor A. Kylin, en primer lugar fue discutido el proyecto de estatutos de la «Federation of European Societies for Plant Physiology» (FESPP) elaborado por el profesor H. Ziegler, que fueron aprobados por unanimidad, después de alguna ligera modificación, acordándose que dicha Federación quedase sometida a las leyes inglesas en materia de este tipo de sociedades, por haberse elegido a Inglaterra como país en donde va a radicar, quedando pendiente de determinar la ciudad en donde será ubicada.

El segundo punto a tratar fue la creación de una Fundación para una revista Europea de Fisiología Vegetal, sirviendo de base de trabajo un proyecto del profesor A. Kylin, tomando como base las tres principales revistas de Fisiología Vegetal europeas: la de Physiologia Plantarum de los países escandinavos, «Journal of Experimental Botany», inglesa y la Physiologie Végétale, francesa. La razón básica para intentar la creación de dicha Fundación es netamente económica, toda vez que la actual crisis de la energía, afectó seriamente a dichas revistas creándole una posición económica muy difícil, al igual que a otras de importancia netamente inferior. Se puso de relieve que la única revista europea de Fisiología Vegetal que se salva de esta crisis es «Planta», que ni gana ni pierde, cuya publicación realiza Springer más bien por motivos de prestigio.

El proyecto para la creación de dicha Fundación incluía un documentado estudio económico de la situación actual de aquellas revistas que se pretende sustituir por otra de carácter europeo, con frecuencia mensual. Los estudios previos son francamente optimistas y la fusión en una sola, con agrupación de sus suscriptores, más la posibilidad de incremento, teniendo en cuenta el auge espectacular de la Fisiología Vegetal experimentado en los últimos años, permitieron considerar como muy posible dicha publicación con un marcado signo económico positivo, estimado en unas 500. KrD. En el proyecto debatido, parte de los beneficios se

acordó que serían destinados a la «Federation of European Societies for Plant Physiology» para la mejor consecución de su finalidad, entre la que figura organizar cursos de especialización de Fisiología Vegetal.

Este proyecto no fue aún aprobado definitivamente, acordándose estudiar la posibilidad de ampliar dicha Fundación a las otras revistas europeas, independientemente de su secundaria importancia frente a las tres antes mencionadas.

Se acordó proseguir las negociaciones en una próxima reunión, en principio fijada para la segunda decena de noviembre de 1975 en Copenhague.

### REUNION DEL GRUPO DE TRABAJO DE NORMALIZACION DE METODOS ANALITICOS

El Coordinador del Grupo, profesor D. Manuel Lachica, ha efectuado el siguiente informe sobre lo tratado por el citado equipo.

La segunda reunión del presente año se celebró en la Estación Experimental de Aula Dei. Esta reunión ha tenido carácter de homenaje póstumo al que fue miembro del Grupo, profesor Abadía, fallecido el 1.º de enero pasado. Con tal motivo, el Grupo de Trabajo se ha visto honrado con la presencia del Presidente del Patronato Excmo. Sr. D. Valentín Hernando, que se desplazó a Zaragoza expresamente para tal fin.

Con fecha 13 de junio fueron convocados los 7 miembros pertenecientes al I. N. I. A. y los 16 del Patronato «Alonso de Herrera», asistiendo sólo 1 de aquel Organismo y 13 de éste.

#### 1. Determinaciones físicas en suelos:

a) Se estudiaron los resultados obtenidos por los diversos Centros para los valores de pF, llegando a la conclusión, por una parte, de normalizar las placas de que se disponen y, por otra, de hacer un estudio estadístico de los resultados obtenidos hasta ahora.

b) Se dio por terminado el tema de Densidad real y se acordó que el doctor Esteban confeccionase el manuscrito correspondiente para, después de corregido por todos los demás miembros del Grupo, proceder a su publicación.

c) Se acordó comenzar para la próxima encuesta el análisis granulométrico de las 30 muestras que componen el «banco», después de haber sido calibrado un densímetro para cada Centro por parte del doctor Alberto.

#### 2. Determinaciones químicas en suelos:

a) Se acordó que el doctor Lachica enviase a los restantes componentes del Grupo el manuscrito sobre la determinación de K, Ca, y Mg para su oportuna corrección y posterior publicación.

b) La doctora Prat presentó un estudio bibliográfico sobre la determinación de P que fue discutido y servirá de punto de partida para el comienzo del estudio de normalización del citado elemento.

c) Se estudiaron los resultados obtenidos por cada Centro para este elemento y se pudo apreciar la gran dispersión obtenida, incluso para métodos similares.

d) Se acordó hacer un ensayo biológico de P al mismo tiempo que se ensayarán diversos extractantes con objeto de tratar de hallar la mejor correlación existente entre ambos métodos: biológico y químico.

e) El doctor Cadahía presentó una propuesta de «Programación de líneas de trabajo sobre investigación analítica agrícola» que será discutida en la próxima reunión.



## BIBLIOGRAFIA

*Potassium in Tropical Crops and Soils*. 10th Colloquium Int. Potash Institute, 1973.

El presente libro (600 páginas), reúne una serie de trabajos de investigación sobre el comportamiento del potasio en suelos y cultivos tropicales. Estos trabajos fueron presentados al X Coloquio del Instituto Internacional de la Potasa celebrado en Costa de Marfil en 1973. La obra aparece dividida en cuatro partes bien diferenciadas.

La primera de ellas consta de siete comunicaciones, que tratan exclusivamente del estudio del potasio del suelo: edafogénesis y dinámica del potasio, fijación y liberación, evaluación de métodos analíticos para determinar potasio asimilable. Se presenta también en esta parte un interesante estudio del estado del potasio en suelos tropicales, con una revisión bibliográfica muy completa sobre los métodos utilizados en la determinación de las diferentes formas de potasio. Deseamos destacar la revisión sobre las relaciones Q/I de potasio, tema muy actual.

La segunda parte comprende un conjunto de trece trabajos sobre la fisiología y nutrición potásicas de las plantas donde encontramos: la influencia de condiciones ecológicas especiales sobre el crecimiento, metabolismo y nutrición potásica en el arroz; ritmo de absorción del potasio en relación con el crecimiento en platanera y ananás; interacción entre el nitrógeno y el potasio en la nutrición de las oleagniosas tropicales; diagnóstico flora y nutrición potásica de algodón, así como otros trabajos cuya enumeración alargaría en exceso este breve comentario.

En la tercera parte (quince trabajos), que lleva por título: «El potasio y la fertilización de los suelos tropicales», se estudia la fertilización potásica en relación con otros factores de producción, problemas de diseños experimentales, respuestas al potasio en diferentes cultivos, entre otras interesantes cuestiones.

En la cuarta parte se agrupan siete comunicaciones que pueden dividirse a su vez en dos líneas principales. La primera trata del papel de la investigación científica en relación con el empleo de fertilizantes. La segunda se refiere a la importancia de la vulgarización en este mismo sector.

Todos los trabajos reunidos en esta obra han sido realizados por eminentes especialistas en sus respectivas materias.

El libro que presenta el Instituto Internacional de la Potasa, es del máximo interés para aquellas personas que intentan conocer el estado actual de las investigaciones en suelos y cultivos tropicales. Creemos que puede ser de gran utilidad incluso para aquellas personas que trabajan en problemas relacionados con el potasio en suelos y cultivos de otras latitudes.

ANDRÉS BORGES PÉREZ

## NORMAS PARA LA COLABORACION EN «ANALES DE EDAFOLOGIA Y AGROBIOLOGIA»

1.ª *Envío*.—Los trabajos que se remitan para su publicación en ANALES DE EDAFOLOGIA tendrán que ceñirse exactamente a las normas contenidas en los siguientes apartados, debiendo ser enviados a la Secretaría de la REVISTA para su registro. Se devolverán todos los recibidos que no cumplan los requisitos ordenados.

2.ª *Título*.—El título de los trabajos deberá ser muy claro y preciso, reflejando claramente su contenido. Seguidamente se indicará nombre y apellidos de los autores, Centro donde ha sido realizado y fecha de envío a la REVISTA.

3.ª *Resumen*.—Obligatoriamente los artículos deberán ir acompañados por un resumen, que con toda claridad señale el objeto del trabajo realizado, algún detalle experimental, si es fundamental para la correcta interpretación de los resultados, y las conclusiones obtenidas. Este resumen debe efectuarse en castellano, y añadirse la traducción al inglés. Además, si se desea, podrá incluirse la versión del mismo en francés, italiano o alemán.

4.ª *Redacción del texto y presentación*.—Se procurará que la redacción sea lo más concisa posible. Los trabajos deberán escribirse a máquina en doble espacio y por una sola cara, no sobrepasándose en extensión las 20 holandesas. Los autores podrán indicar, por si puede atenderse, el tamaño de la letra en la que crean conveniente se realice la impresión.

5.ª *Bibliografía*.—La bibliografía deberá reducirse a la verdaderamente indispensable, que tenga relación directa con la investigación efectuada, evitándose los comentarios extensos sobre las referencias mencionadas.

Dichas referencias se incluirán siempre a la terminación del trabajo, numeradas correlativamente y ordenadas por orden alfabético de apellidos de autores. En cada cita se consignarán, en este orden, los datos siguientes:

Apellidos e iniciales del autor. Año de la publicación a que se refiere la cita—título del trabajo citado. Título del trabajo. Nombre de la publicación —abreviada de acuerdo con las normas internacionales—, en cursiva, y tomo y página a que se refiera la nota.

Para efectuar la referencia de un libro se indicarán los siguientes datos: Apellido e iniciales del autor. Año de la edición. Título en idioma original. Tomo. Edición. Publicación (todo ello en forma similar a las citas de revistas).

6.ª *Tablas, gráficos y fotografías*.—Salvo excepciones, no deberán emplearse de forma simultánea tablas y gráficos.

El número de gráficos deberá limitarse todo lo posible. En general se recomienda la yuxtaposición de curvas que puedan ser referidas al mismo sistema de ejes coordenados.

El número de fotografías deberá igualmente limitarse, enviando sólo las que realmente —teniendo en cuenta la reproducción— sean útiles, claras e ilustrativas.

Los gráficos y dibujos vendrán dibujados sobre papel vegetal y con tinta china. En la publicación tendrán una anchura de 12 o de 6 cm., o sea, la correspondiente a una o media anchura de plana de nuestra publicación. Los autores deben señalar el tamaño que desean para sus gráficos o dibujos, y tener en cuenta que las escalas de reducción más convenientes son de 2 a 1 y de 3 a 1. Los rótulos y signos de los mismos deberán ser de tal tamaño que su altura, una vez reducida, no sea inferior a 1,5 mm.

Cada gráfico deberá acompañarse de un número de orden, reproducido en el texto. En éste, se indicará el lugar aproximado de colocación de cada uno. Los pies de gráficos y dibujos, escritos a máquina, se enviarán en papel aparte.

Para las fotografías servirán observaciones similares.

7.ª *Fórmulas y expresiones matemáticas.*—En unas y otras debe procurarse la máxima claridad en su escritura, procurando emplear las formas más reducidas o que ocupen menos espacio, siempre que ello no entrañe riesgo de incompreensión.

8.ª *Caracteres de imprenta.*—Se ruega a los autores señalen en sus originales los estilos de los caracteres de imprenta que deban emplearse, de la manera siguiente:

Subrayar con una línea ————— las palabras en  *cursiva*.

Subrayar con dos líneas —===== las palabras en **VERSALITAS**.

Subrayar con tres líneas ===== las palabras en **VERSALES**.

Subrayar con una línea ~~~~~ las palabras en **negrita**.

Subrayar con una línea discontinua— — — las palabras **espaciadas**.

9.ª *Pruebas.*—Deberán devolverse, debidamente corregidas, junto con el trabajo original, en el plazo de ocho días, a partir de la fecha de envío. Pasado este plazo sin recibirse, el trabajo perderá su turno de publicación. En la corrección de pruebas no se admitirán modificaciones del texto original. Si el autor desea hacer alguna alteración del texto original que suponga gastos adicionales de impresión, éstos le serán facturados a precio de coste.

10. *Separatas.*—De cada trabajo se entregarán gratuitamente al autor 25 separatas. A petición de éste —hecha constar por escrito en la cubierta del original— podrán servirsele, a su cargo, las que desee.

11. *Examen de manuscritos.*—Los trabajos, una vez recibidos, pasarán a la Comisión de Publicaciones para informe.



# ANALES DE EDAFOLOGIA Y AGROBIOLOGIA

Publicados por el INSTITUTO NACIONAL DE EDAFOLOGÍA Y AGROBIOLOGÍA «JOSÉ M.<sup>a</sup> ALBAREDA», del Consejo Superior de Investigaciones Científicas.

## *Integrado por los Centros:*

Instituto de Edafología y Biología Vegetal. Madrid.	Centro de Edafología y Biología Aplicada de Salamanca.
Departamento de Edafología de Barcelona.	Departamento de Economía Agraria Madrid.
Centro de Edafología de Tenerife.	Estación Experimental de Aula Dei. Zaragoza.
Centro de Edafología y Biología Aplicada del Segura, Murcia.	Instituto de Aclimatación. Almería.
Centro de Edafología y Biología Aplicada del Cuarto, Sevilla.	Instituto de Alimentación y Productividad Animal, Madrid.
Estación Experimental del Zaidín. Granada.	Estación Agrícola Experimental. León
Instituto de Investigaciones Geológicas, Edafológicas y Agrobiológicas de Galicia. Santiago de Compostela.	Centro Experimental Económico-Agrario La Mayora, Málaga.
	Estación Experimental y de Enseñanza La Poveda, Madrid.

## *Con la Colaboración de los Organismos siguientes:*

Departamento de Zootecnia de Córdoba.	Instituto Nacional de Investigaciones Agronómicas.
Instituto «Jaime Ferrán» de Microbiología. Madrid.	Laboratorio del Transporte y Mecánica del Suelo. (Centro de Estudios y Experimentación de Obras Públicas).
Instituto de Biología Celular. Madrid.	Misión Biológica de Galicia. Pontevedra.
Centro Pirenaico de Biología Experimental de Jaca. Huesca.	Sociedad Española de Ciencia del Suelo
Instituto de Biología del Tabaco. Sevilla.	Sociedad Española de Mecánica del Suelo y Cimentaciones.

La correspondencia relativa a trabajos y su publicación, a:

ANALES DE EDAFOLOGÍA Y AGROBIOLOGÍA  
SERRANO, 115 BIS. MADRID-6 (ESPAÑA)

La correspondencia relativa a suscripciones o adquisiciones, a:

DISTRIBUCIÓN DE PUBLICACIONES DEL C. S. I. C.  
VITRUBIO, 16. MADRID-6 (ESPAÑA)

CONSEJO SUPERIOR DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS  
ANALES DE EDAFOLOGIA Y AGROBIOLOGIA



Третье

№ 144

7-8

АМАН

БДА

ПОЛО

ГЛА

АГРО

БИО

ТЕХ

75