

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración
Programa de Postgrado en Ciencias de Recursos Naturales



**FRACCIONAMIENTO DE FOSFORO EN SUELOS VOLCANICOS
PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS AGRICOLAS Y FORESTALES
DEL CENTRO SUR DE CHILE**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE DOCTOR
EN CIENCIAS DE RECURSOS NATURALES

YONATHAN DAVID REDEL HEMBERGER

TEMUCO – CHILE
2007

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración
Programa de Postgrado en Ciencias de Recursos Naturales



**FRACCIONAMIENTO DE FOSFORO EN SUELOS VOLCANICOS
PROVENIENTES DE ECOSISTEMAS AGRICOLAS Y FORESTALES
DEL CENTRO SUR DE CHILE**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO ACADEMICO DE DOCTOR
EN CIENCIAS DE RECURSOS NATURALES

YONATHAN DAVID REDEL HEMBERGER

TEMUCO – CHILE
2007

Fraccionamiento de fósforo en suelos volcánicos provenientes de ecosistemas agrícolas y forestales del centro sur de Chile

Esta tesis fue realizada bajo la supervisión del Director de Tesis, Dr. FERNANDO BORIE B., del Departamento de Ciencias Químicas y ha sido aprobada por los miembros de la comisión examinadora.

YONATHAN DAVID REDEL HEMBERGER

.....
DIRECTOR
POST GRADO EN CIENCIAS DE
RECURSOS NATURALES

.....
DIRECCIÓN DE POST GRADO
UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA

.....
Dr. MAURICIO ESCUDEY C.

.....
Dr. GERARDO GALINDO G.

.....
Dr. DANTE PINOCHET

.....
Dr. ROBERTO GODOY

.....
Dra. MARIA DE LA LUZ MORA G.

.....
Dr. FERNANDO BORIE B.

DEDICATORIA

**No temas, porque yo estoy contigo, no desmayes, porque yo soy tu Dios. Siempre te
ayudaré, siempre te sostendré con la diestra de mi justicia.**

Isaías 41:6

A aquel único Dios inmortal que me ha dado las fuerzas para llegar hasta acá...

AGRADECIMIENTOS

Al Proyecto Fondecyt 1020306 por financiar la mayor parte de este estudio

Al Proyecto Fundación Andes C- 13755(28) por facilitar una pasantía en la cual se realizó parte de esta Tesis en los laboratorios del Institute of Natural Resources de la Universidad de Massey, Palmerston North, Nueva Zelanda, bajo la supervisión del Dr. Nanthi Bolan.

Al proyecto Fondecyt 1050313, por facilitar la realización del muestreo en parcelas experimentales en San Pablo de Tregua.

A mi Director de Tesis, Dr. Fernando Borie por permitir realizar la tesis junto a el y haber contribuido a mi formación profesional

Al Dr. Mauricio Escudey por permitir realizar parte de mi tesis en la Universidad de Santiago de Chile, a Marlen Gutierrez y Juan Guerrero por ayudarme con la preparación y lectura de las muestras con espectroscopia ^{31}P -RMN.

Al cuerpo docente del programa de Postgrado en Ciencias en Recursos Naturales, que me entregó las herramientas necesarias para mi formación como Doctor y a la comisión evaluadora por sus valiosos comentarios que contribuyeron a esta investigación

A mi familia, amigos, académicos y demás personas que me han ayudado de una u otra forma en la realización de mi Tesis

RESUMEN

Se seleccionó un agroecosistema y ecosistemas forestales para efectuar estudios sobre las distintas formas de P y su biodisponibilidad, evaluándose formas, contenidos y labilidad de diferentes fracciones de P en el suelo a través de la metodología de Hedley de fraccionamiento de P en suelos junto a un análisis espectroscópico de ^{31}P -RMN. Además, se evaluaron algunas propiedades químicas (pH, materia orgánica) y biológicas (actividad fosfatasa, P-asa).

En el agroecosistema se estudió el efecto de sistemas de labranza y rotación de cultivos sobre las fracciones de P en el suelo desde 2002 a 2005 en un experimento de campo establecido el año 2001 en un Ultisol en el sur de Chile (IX Región) con elevada capacidad de fijación de P. Se evaluó el efecto de dos sistemas de labranza, tradicional y cero labranza, y dos sistemas de rotación de cultivo, avena-trigo (*Avena sativa* L.-*Triticum aestivum* L.) y lupino-trigo (*Lupinus albus* L), aplicándose una fertilización anual de 80 kg P ha⁻¹ a avena y lupino y 200 kg P ha⁻¹ a trigo, respectivamente. Los análisis del suelo se efectuaron después de cada temporada de crecimiento de los cultivos. El P se incrementó de 1643 a 2053 mg kg⁻¹, después de 4 años de cultivo. El P derivado de la fertilización se encontró mayoritariamente como P moderadamente lábil y P no extractable. La cero labranza produjo la mayor acumulación superficial de P, principalmente como P inorgánico (P_i) y P microbiano. Cuando se usó el lupino como precultivo, se observó una mayor actividad fosfatasa, P orgánico, P lábil y P diéster y monoéster

Los ecosistemas forestales emplazados sobre un Andisol incluyeron dos sitios con bosque siempreverde y dos sitios con bosque deciduo secundario del género *Nothofagus* y una pradera natural próxima al bosque, evaluándose el efecto del tipo de vegetación, uso del suelo y la intervención silvícola. Las muestras de suelo se colectaron en otoño del año 2005 del horizonte orgánico y del suelo a 2-20 cm de profundidad. El P total estuvo en un rango entre 1415 a 2157 mg kg⁻¹, con los valores más altos en el suelo del bosque siempreverde y pradera. La fracción moderadamente lábil (P_o-NaOH) que varió entre 400 a 766 mg kg⁻¹ y la forma P monoéster, fueron predominantes en estos suelos de la precordillera andina. El P disponible, las fracciones lábiles de P, el P microbiano e inorgánico y la actividad fosfatasa fueron

mayores en el horizonte orgánico, especialmente en los bosques siempreverdes y el P diéster en la cubierta del bosque decido. El establecimiento de un bosque secundario resultó en una reducción en el contenido de las fracciones de P; en cambio, la deforestación con el establecimiento de una pradera antropogénica incidió significativamente en una reducción de la biodisponibilidad del P con un mayor contenido de P orgánico.

SUMMARY

An agroecosystem and rainforest ecosystems were selected to carry out the studies on the nature of the different phosphorus fractions,. Phosphorus forms and its contents through the application of Hedley fractionation procedure and the spectroscopic analysis of ^{31}P -NMR were evaluated in each ecosystem.

In the agroecosystem, there were studied the effect of tillage and crop rotations systems on soil phosphorus (P) fractions and some selected soil properties. The study was carried out were from 2002 to 2005 on a field experiment established in 2001 in a volcanic soil from southern Chile (Ultisol). Two tillage systems, no tillage (NT) and a conventional tillage (CT), and two crop rotations, oat–wheat (*Avena sativa* L.-*Triticum aestivum* L.) and white lupine (*Lupinus albus* L.) - wheat were evaluated. Seasonal additions of 80 kg P ha⁻¹, to oat and lupine, and 200 kg P ha⁻¹ to wheat were applied to this high P fixing soils. Soil analysis were performed each year after growing season. Total P increased from 1643 to 2053 mg kg⁻¹ after 4 years of cultivation. Phosphorus from fertilization was accumulated mainly as moderately labile P and no labile P. No tillage produced the largest soil surface P accumulation, mainly as inorganic P (P_i) and also the highest levels of microbial P. When lupine was used as pre- crop, it was observed higher phosphatase activity, organic and labile P and also diester and monoester P.

The rainforest ecosystems were situated over an Andisol and included two sites with evergreen forest and two sites with secondary deciduous *Nothofagus* forests and a grassland in the inside of the forest. It were evaluated the effects of forest type and clearing and soil use. Samples were collected in autumn 2005 from the organic layer and from mineral soil at 0-20 cm depth. Total P ranged from 1415 to 2157 mg kg⁻¹, and the highest value was found in pristine evergreen forest and in the grassland soil. The moderately labile (NaOH-P_o) fraction, ranging from 400 to 766 mg kg⁻¹ and the monoester P were predominant. Available P, labile P fractions, microbial P, inorganic P and acid phosphatase were greater in the organic layer, especially under evergreen forests and the diester P under deciduous forest. The establishment

of a deciduous forest resulted in a reduction of P fractions content. Otherwise, deforestation resulted in a reduction of P bioavailability, with a greater P_o content.

ÍNDICE GENERAL

	Página
Capítulo 1 Antecedentes generales	
1.1 Introducción General	1
1.2 Hipótesis General	3
1.3 Objetivo general	3
Capítulo 2 Efecto de sistemas de rotación y de labranza en la biodisponibilidad de fósforo en un agroecosistema del sur de Chile	
2.1 Introducción	4
2.1.1 Hipótesis de trabajo	6
2.1.1 Objetivo general	6
2.1.1 Objetivos específicos	6
2.2 Antecedentes Bibliográficos	7
2.2.1 Características de los suelos chilenos	7
2.2.2 Procedimientos de extracción de P	7
2.2.3 Sistemas de Labranza	10
2.2.4 Efectos de la labranza sobre las fracciones de P	11
2.2.5 Efecto de los cultivos sobre las fracciones de P	12
2.2.6 El P de la biomasa microbiana	14
2.3 Materiales y métodos	15
2.3.1. Descripción del área de estudio	15
2.3.2. Descripción del ensayo en campo	15
2.3.3 Colecta de suelos	16
2.3.4 Análisis de los suelos	17
2.3.4.1 Propiedades del suelo	17
2.3.4.2 Determinación del P microbiano	18
2.3.4.3 Fraccionamiento de P	19
2.3.5 Relaciones P_i/P_o	19
2.3.6 Análisis estadísticos	20

2.4	Resultados	21
2.4.1	Características iniciales del suelo	21
2.4.2	Efectos del sistema de labranza y de la rotación sobre los parámetros químicos y biológicos del suelo	21
2.4.3	Distribución de las formas de P a través del tiempo	23
2.4.4	Efecto de la labranza y de la rotación en las fracciones de P	23
2.4.5	Estratificación de las formas de P en profundidad durante los años 2004-2005	25
2.4.6	Efectos de la rotación y la labranza en el P al 5° año del experimento	27
	2.4.6.1 Efectos de la rotación y la labranza en el P _o , fracciones de P y P microbiano	27
2.4.7	Redistribución del P durante 2002-2005	29
2.5	Discusión	31
2.6	Conclusiones	38

Capítulo 3 Fracciones de fósforo en ecosistemas forestales del Centro- Sur de Chile

3.1	Introducción	39
	3.1.1 Hipótesis de trabajo	41
	3.1.2 Objetivo general	41
	3.1.3 Objetivos específicos	41
3.2	Antecedentes Bibliográficos	42
	3.2.1 Bosques templados del Centro- Sur de Chile	42
	3.2.2 Ciclo y formas de P en bosques	43
	3.2.3 Mineralización del P orgánico	45
	3.2.4 Efectos del cambio de uso del suelo en el ciclado del P	45
	3.2.5 P en la biomasa microbiana	47
	3.2.6 Metodologías de estudio del P en el suelo	48
	3.2.7 Determinación de P contenido en la biomasa microbiana	50
	3.2.8 Investigaciones en P realizados en bosques chilenos	50
3.3	Materiales y métodos	51
	3.3.1 Descripción del área de estudio	51

3.3.1.1	Suelos	51
3.3.1.2	Topografía	53
3.3.1.3	Clima	53
3.3.1.4	Formaciones vegetacionales	53
3.3.1.5	Flora	54
3.3.2	Selección de los sitios experimentales	54
3.3.3	Colecta de suelos	56
3.3.4	Propiedades del suelo	58
3.3.5	Fraccionamiento de P	59
3.3.6	Determinación del P microbiano	61
3.3.7	Análisis estadísticos	62
3.4	Resultados	62
3.4.1	Parámetros químicos y biológicos de los suelos y del horizonte orgánico	62
3.4.2	Contenidos de P en el horizonte orgánico y en el suelo	63
3.4.3	Fracciones de P	64
3.5	Discusión	67
3.6	Conclusiones	72

Capítulo 4 Disponibilidad y formas de P en suelos volcánicos bajo cultivo agrícola y forestal evaluada mediante ³¹P-RMN

4.1	Introducción	73
4.1.1	Hipótesis de trabajo	74
4.1.2	Objetivo general	74
4.1.3	Objetivos específicos	74
4.2	Antecedentes Bibliográficos	75
4.3	Materiales y métodos	78
4.3.1	Procedimiento de extracción para espectroscopia ³¹ P-RMN y condiciones de medición	78
4.3.2	Experimento RMN	79
4.4	Resultados	79
4.4.1	Distribución de las estructuras de P de los extractos alcalinos	79

4.5 Discusión	84
4.6 Conclusiones	88
Capítulo 5 Proyecciones y conclusiones generales	89
Referencias	95

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
Tabla 2.1. Características del Ultisol usado en el comienzo del experimento	17
Tabla 2.2. Propiedades del Ultisol durante cuatro años en estudio bajo labranza y rotación de cultivos.	22
Tabla 2.3. Probabilidades F para las fracciones de P y propiedades en un Ultisol durante cuatro años bajo labranza y rotación de cultivos.	23
Tabla 2.4. Promedios de las fracciones de P de diferente labilidad durante cuatro años en un Ultisol agrupados según la labranza, rotación de cultivos y profundidad	25
Tabla 2.5. Determinación de las fracciones de P en los 0-5 cm y 10-20 cm de profundidad durante dos años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos	26
Tabla 2.6. Promedios generales de las fracciones de P de diferente labilidad en un Ultisol agrupados según tipo de labranza y rotación de cultivos en el año 2005	27
Tabla 2.7. Probabilidades F para las fracciones de P y propiedades del suelo en un Ultisol bajo dos sistemas de labranza y rotación de cultivos en el año 2005.	28
Tabla 2.8. P microbiano y P orgánico de un Ultisol bajo dos sistemas de labranza y rotación de cultivos en el año 2005.	28
Tabla 2.9. Relaciones entre las propiedades químicas de un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos en el año 2005.	29
Tabla 2.10. Incremento de P total durante cuatro años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos	30
Tabla 2.11. Redistribución de las fracciones de P durante cuatro años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos	30
Tabla 3.1. Características del Andisol usado en el experimento	52
Tabla 3.2. Características dasométricas y aporte de hojarasca de los ecosistemas forestales del Centro-Sur de Chile.	55

Tabla 3.3.	Flora en los sitios de estudio de San Pablo de Tregua	57
Tabla 3.4.	Parámetros químicos y biológicos del horizonte orgánico y del suelo (2- 20 cm) en los ecosistemas estudiados.	62
Tabla 3.5	Fracciones de P presentes como porcentaje del P total en el horizonte orgánico y el suelo mineral (2-20 cm) en los ecosistemas boscosos	66
Tabla 3.6.	Porcentaje de P microbiano con respecto a P orgánico, P orgánico lábil + P orgánico moderadamente lábil con respecto a P _o y P _T en el horizonte orgánico y en el suelo (2-20 cm) en los ecosistemas forestales.	67
Tabla. 4.1	Contribución relativa de las formas de P de cada especie y relación P monoéster: P diéster del Ultisol y Andisol	82

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Fig 2.1. Esquema hipotético que interpreta la influencia de la actividad microbiana sobre el ciclo del P en suelos alofánicos	8
Fig. 2.2. Vista general esquemática de los diferentes pools de P en el suelo	9
Fig. 2.3. Diseño de campo y tiempos de colecta en un Ultisol serie Metrenco	16
Fig. 2.4. Diagrama de flujo del modelo de extracción secuencial de P del suelo	20
Fig. 2.5. Fraccionamiento de fósforo y relación P_i/P_o en los 0-10 cm del perfil del suelo durante cuatro años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos	24
Fig. 2.6. Fraccionamiento de P en un Ultisol sometido a labranza y rotación de cultivos	28
Fig. 2.7. Redistribución media anual de las fracciones de P agrupadas según cultivos durante cuatro años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos	31
Fig. 3.1. Modelo del paradigma desarrollado por Walker y Syers (1976) del cambio en cuatro fracciones de P en suelos de Nueva Zelanda	49
Fig. 3.2. Mapa de la provincia de Valdivia y área de estudio en San Pablo de Tregua	52
Fig. 3.3. Diagrama de flujo del modelo de extracción secuencial de P del suelo	60
Fig. 3.4. P Total, P orgánico y P Olsen en el horizonte orgánico y en el suelo (2-20 cm) en los ecosistemas forestales	63
Fig. 3.5. P microbiano en el horizonte orgánico y en el suelo (0-20 cm) en los ecosistemas forestales	64
Fig. 3.6. Fraccionamiento de P (fracciones no lábiles) en el horizonte orgánico y en el suelo (0- 20 cm) en los ecosistemas forestales	65
Fig. 3.7. Fraccionamiento de P (fracciones lábiles) en el horizonte orgánico y en el suelo (0- 20 cm) en los ecosistemas forestales	66
Fig. 4.1. Distribución de P en los suelos de acuerdo a un espectro modelo de ^{31}P - RMN	80
Fig. 4.2. Señales de P obtenidas por ^{31}P -RMN en Ultisoles	81
Fig. 4.3. Señales de P obtenidas por ^{31}P -RMN en Andisoles	83

ABREVIACIONES

³¹P-RMN: resonancia magnética nuclear con el isótopo ³¹P
°C: grados celcius
a: años
A: rotación avena-trigo
AT: avena-trigo
ATA: avena-trigo-avena
ATAT: avena-trigo-avena-trigo
Al: aluminio
BS: bosque siempreverde
BS₁: bosque siempreverde no intervenido
BS₂: bosque siempreverde intervenido
Ca: calcio
CIC: capacidad de intercambio catiónico
CL: cero labranza
CL-A: cero labranza y rotación avena-trigo
CL-L: cero labranza y rotación lupino-trigo
cmol_c(+): centimoles de carga positiva
C_o: carbono orgánico
HO: horizonte orgánico
D₂O: óxido de deuterio
EDTA: ácido etilendiaminotetraacético
F: estadístico *F* de probabilidad
Fe: hierro
g: gramo
h: horas
HA: macromoléculas fúlvicas y húmicas
ha: hectárea
I: invierno
K: potasio
kg: kilogramo
kp: factor de recuperación
L: rotación lupino-trigo
lab+rl P: P lábil + moderadamente lábil
LC: labranza convencional
LC-A: labranza convencional y rotación avena-trigo
LC-L: labranza convencional y rotación avena-trigo
LT: lupino-trigo
LTL: lupino-trigo-lupino
LTLT: lupino-trigo-lupino-trigo
m.s.n.m.: metros sobre el nivel del mar
M: molar
MHz: megahertz
mL: mililitro
Mg: magnesio

N: nitrógeno
Na: sodio
O: otoño
P: nivel de probabilidad
P: fósforo
P-asa : actividad fosfatasa ácida
P_{fum} : P de las muestras fumigadas
P-H₂SO₄: fósforo extractable con ácido sulfurico
P_i: fósforo inorgánico
P_i-NaHCO₃ : fósforo inorgánico extractable con bicarbonato de sodio
P_i -NaOH: fósforo inorgánico extractable con hidróxido de sodio
P_i /P_o: relación fósforo inorgánico: fósforo orgánico
P lábil: fósforo extraído con resinas de intercambio iónico y bicarbonato de sodio
P_l: P lábil
P_{ml}: P moderadamente lábil
P_{ol}: P orgánico lábil
P_{oml}: P orgánico moderadamente lábil
P_{mic}: fósforo microbiano
P_o: fósforo orgánico
P_o-NaHCO₃: fósforo orgánico extractable con bicarbonato de sodio
P_o -NaOH: fósforo orgánico extractable con hidróxido de sodio
PR: pradera
P_{rec}: P recuperado
P-resina: fósforo extraído con resinas de intercambio iónico
P_{rl}: P moderadamente lábil
P_T: fósforo total
p/v: peso/ volumen
p-NFF: paranitrofenolfosfato
r: coeficiente de correlación
RMN: resonancia magnética nuclear
RN: bosque caducifolio
RN₁: bosque caducifolio no manejado
RN₂: bosque caducifolio manejado
s: suelo
S: azufre
sat Al: saturación de Al
T(A): trigo después de avena
T(L): trigo después de lupino
UV- VIS: ultravioleta- visible
V: verano
μg: microgramo
δ: desplazamiento químico

CAPÍTULO 1

Antecedentes Generales

1.1 Introducción General

Los suelos chilenos derivados de materiales volcánicos (Andisoles y Ultisoles), se sitúan mayoritariamente en el Centro- Sur del país cubriendo más de 5×10^4 km². Dichos suelos han estado cubiertos originalmente por bosques templados, permaneciendo casi intactos hasta la llegada de los europeos, hace 450 años. Los suelos usados actualmente por la agricultura ocupan un área importante de la Depresión Intermedia, donde los cereales son los cultivos principales, contribuyendo a la fragmentación con la consiguiente disminución de la superficie cubierta por bosques nativos, donde las especies del género *Nothofagus* han sido las más explotadas (Echevarría et al., 2007).

El fósforo (P) es un nutriente esencial en el crecimiento vegetal tanto de cultivos agrícolas como de plantas que constituyen los ecosistemas naturales. Los cultivos agrícolas necesitan ser fertilizados anualmente con cantidades moderadas de fosfato, que eventualmente se acumulan en el suelo en formas poco accesibles para las plantas (Borie y Zunino, 1983), mientras que en los ecosistemas naturales los procesos biogeoquímicos determinan la distribución de P en el largo y corto plazo (Solomon y Lehmann, 2000). Debido a que P inorgánico (P_i) como ión fosfato es la fuente utilizada en la absorción por la planta, el conocimiento de las diversas fracciones de P dentro de los suelos es fundamental para entender su biodisponibilidad (McDowell y Stewart, 2006). Históricamente se ha cuantificado la cantidad de P en el suelo, que es disponible en el corto plazo por las plantas mediante la extracción con una serie de soluciones; sin embargo, debido a la importancia de otras formas de P no tan inmediatamente disponibles, pero que por efecto de la actividad radical pueden

llegar a ser disponibles, se han diseñado metodologías de fraccionamiento de formas de P de distinta labilidad. Estas metodologías asumen que el P más fácilmente disponible será removido primero con extractantes suaves mientras que las fracciones menos disponibles pueden ser extraídas solamente con ácidos o álcalis más fuertes (Buechler et al., 2002). Si bien estos métodos permiten un análisis total del P presente en los suelos (Taranto et al., 2000), no informan sobre la estructura de los componentes de P extraídos, por lo que se emplea la técnica de resonancia magnética nuclear de ^{31}P -RMN para identificar diferentes formas de P inorgánico y orgánico.

Tanto los suelos de los ecosistemas agrícolas como los forestales están sujetos a diversas prácticas de manejo que inciden sobre la cantidad y tipo de biomasa aérea y radical, así como también sobre la actividad microbiana, todo lo cual puede afectar la biodisponibilidad de P para la biota. Algunas de estas prácticas incluyen la aplicación de sistemas de cero labranza o la inclusión de plantas alternativas como lupino en la rotación de cultivos en los ecosistemas agrícolas, mientras que los ecosistemas forestales están sujetos a diversos grados de intervención antrópica, que pueden ir desde un manejo sustentable a la deforestación completa, por lo que se hace necesario evaluar el efecto del manejo en las formas de P presentes en los suelos de estos ecosistemas.

Existen escasos antecedentes de estudios sistemáticos de extracción secuencial de fracciones de P, en suelos derivados de cenizas volcánicas del sur de Chile, con la excepción del reporte de Thomas et al. (1999) y Pinochet et al. (2001). Asimismo, en estos suelos, existen escasos antecedentes de estudios sobre las formas de P en suelos mediante el uso de ^{31}P -RMN con excepción de lo reportado por Briceño et al., (2004, 2006) y Escudey et al. (1997, 2004a,b). A partir de todos estos antecedentes es importante evaluar:

a) los efectos de la adopción de un sistema de cero labranza y sistemas de rotación de cultivos en las fracciones de P y su distribución vertical en un Ultisol del sur de Chile (Capítulo 2). Para este propósito se escogió un agroecosistema en el sector Pumalal (IX Región) donde se seleccionó un ensayo iniciado el año 2000 con el objeto de estudiar durante cuatro años (2002-2005) el efecto que tendría el manejo sobre las fracciones de P, comparando

prácticas de labranza convencional y cero labranza, además de evaluar el efecto de la rotación de cultivos y la profundidad de muestreo y

b) los efectos de la intervención antrópica tales como intervención silvícola y deforestación, en las diferentes fracciones de P en un Andisol (Capítulo 3). Para este propósito se escogió el predio forestal “San Pablo de Tregua” donde se compararon bosques prístinos, bosques de *Nothofagus* deciduos secundarios y una pradera, evaluándose las fracciones de P del horizonte orgánico y del suelo, el año 2005

c) los efectos sobre los suelos de las actividades descritas anteriormente en a) y b) sobre las formas de P evaluada mediante ^{31}P -RMN (Capítulo 4). Para este propósito, se seleccionaron muestras del año 2005 en Pumalal y San Pablo de Tregua.

1.2 Hipótesis general

Las fracciones de P y labilidad de ellas será diferente en agroecosistemas frente a ecosistemas de bosques templados. En el agroecosistema, la aplicación de fertilizantes conllevará a una acumulación de las diferentes formas de P en la capa superficial del suelo, la que será mayor con cero labranza frente a labranza convencional. En los ecosistemas forestales, las formas de P serán mayoritariamente de naturaleza orgánica, especialmente en el horizonte orgánico.

1.3 Objetivo general

El objetivo general de la tesis consiste en evaluar cambios en la naturaleza y la labilidad del P en dos ecosistemas a través de la determinación de las distintas fracciones y formas de P en: a) un ecosistema agrícola (Ultisol) sometido a una rotación corta y dos sistemas de labranza: tradicional y cero labranza y b) un Andisol bajo cuatro ecosistemas boscosos templados siempreverde y caducifolios secundarios de diferente manejo silvícola comparado con una pradera natural

CAPÍTULO 2

Efecto de sistemas de rotación y de labranza en la biodisponibilidad de fósforo en un agroecosistema del Centro- Sur de Chile

2.1 Introducción

El fósforo (P) es comúnmente un elemento limitante para el crecimiento vegetal en muchos suelos incluyendo los suelos chilenos derivados de cenizas volcánicas. Debido que estos suelos tienen una alta capacidad de adsorción de P, necesitan ser fertilizados anualmente con cantidades moderadas de fosfato, los cuales se acumulan en el suelo en formas poco accesibles para las plantas como complejos macromoleculares de P asociados a la materia orgánica, posiblemente a través de puentes de Al y Fe (Borie y Zunino, 1983). El conocimiento de las diversas fracciones de P dentro de los suelos es fundamental para entender la biodisponibilidad de este elemento (McDowell y Stewart, 2006) y con esto desarrollar una actividad agrícola sustentable, tanto en el aspecto económico como el medioambiental.

Por otra parte, debido a que los suelos están en riesgo de erosión, los agricultores locales han comenzado a optar por alternativas de labranza reducida. Algunos beneficios de la cero labranza (CL) sobre la labranza tradicional (LC) incluyen la disminución de la erosión y evaporación, mayor infiltración y actividad biológica, entre otros (Duiker y Beegle, 2006). Los niveles de materia orgánica, actividad microbiana y de nutrientes como el P son, en general, más altos en CL comparados con LC (Rheinheimer y Anghinoni, 2003). La perturbación del suelo con la labranza puede incrementar el grado de contacto entre el P fertilizante y las partículas el suelo, promoviendo la formación de complejos de P (Phiri et al., 2001). La influencia de las prácticas de manejo agrícola sobre las fracciones de P de distinta

biodisponibilidad es de creciente interés debido a la importancia de las formas de P en relación al medio ambiente, agronomía y economía.

Los cultivos poseen diversos potenciales de producción y de absorción de P del suelo, debido a las diferencias en las estrategias desarrolladas por las raíces para incrementar la adquisición de nutrientes. En la rotación de cultivos, la introducción de plantas como leguminosas (*Lupinus spp.*) puede incrementar la disponibilidad de P, debido a la secreción de ácidos quelantes y producción de fosfatasas por las raíces proteoideas, cuando las plantas crecen en suelos con deficiencia de P (Neumann y Römheld, 1999). Dicho mecanismo es inhibido por altos niveles de P disponible (Rubio et al., 2002). Por lo tanto, cultivos como *Triticum aestivum* y *Lupinus spp.* pueden incrementar el potencial de inoculación de hongos micorrizógenos para el primero y actividad fosfatasa de sus raíces para el segundo, promoviendo la hidrólisis del P orgánico (Borie et al., 2002).

Los procedimientos químicos de extracción secuencial se utilizan habitualmente para clasificar el P extraíble del suelo, asumiendo que el P más fácilmente disponible será removido primero con extractantes suaves mientras que las fracciones menos disponibles pueden ser extraídas solamente con ácidos o álcalis más fuertes (Buechler et al., 2002).

Existen pocos antecedentes de estudios sistemáticos de extracción secuencial de fracciones de P, en suelos derivados de materiales volcánicos del centro- sur de Chile. Aunque existen en la literatura muchos estudios acerca de los efectos de la labranza sobre las fracciones de P, existen pocos estudios en fraccionamiento de P en Ultisoles de origen volcánico (Linguist et al. (1997), Guo et al. (2000), Escudey et al. (2001) y Van Der Eijk et al. (2006) de Hawai, Chile y Kenya). A partir de estos antecedentes es importante evaluar los posibles efectos de la adopción de manejo conservacionista y sistemas de rotación en la labilidad de las fracciones de P y su distribución vertical en un Ultisol cultivado en el Centro-Sur de Chile

2.1.1 Hipótesis de trabajo

Las fracciones de P y labilidad de ellas en agroecosistemas bajo cero labranza frente a labranza convencional será diferente. En este contexto, la aplicación de fertilizantes conllevará a una acumulación de las diferentes formas de P en la capa superficial del suelo, la que será mayor con cero labranza frente a labranza convencional.

2.1.2 Objetivo general

El objetivo general consiste en evaluar cambios en labilidad del P a través de la determinación de las distintas fracciones de P en un ecosistema agrícola (Ultisol) sometido a una rotación corta y dos sistemas de labranza: tradicional y cero labranza

2.1.3 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de los sistemas de labranza y rotación sobre la acidez, contenidos de P Olsen y total y actividad fosfatasa del suelo
2. Evaluar el efecto de los sistemas de labranza y rotación sobre la biodisponibilidad en la labilidad de las fracciones de P a través de una metodología basada en el fraccionamiento químico de Hedley
3. Evaluar el efecto de los sistemas de labranza y rotación de cultivos sobre el P microbiano del suelo
4. Evaluar los efectos del tiempo de manejo y la profundidad de colecta sobre algunas propiedades del suelo y labilidad de fracciones de P del suelo

2.2 Antecedentes Bibliográficos

2.2.1 Características de los suelos chilenos

Los suelos derivados de materiales volcánicas, principalmente Andisoles y Ultisoles, se encuentran habitualmente en el centro- sur del país cubriendo más de 5×10^4 km² donde los cereales son el cultivo principal. Debido a que estos suelos tienen una alta capacidad de adsorción de P, necesitan ser fertilizados anualmente con altas cantidades de fosfato, las que se acumulan en el suelo en formas poco accesibles para las plantas (Borie y Zunino, 1983). Además, estos suelos tienen un alto contenido de P total (P_T) donde la fracción orgánica de P (P_o) representa más del 50%, principalmente bajo formas de inositol penta y hexafosfatos (Borie y Rubio, 2002). La mayoría del P se acumula como complejos macromoleculares de P asociados a materia orgánica, posiblemente a través de puentes de Al y Fe (Borie y Zunino, 1983), encontrándose que un 71-93% del P_o está relacionado con el humus (Escudey et al., 2001). Los niveles del carbono orgánico (C_o) son controlados por la estabilización de aluminio en los suelos (Matus et al., 2006) y la protección física de los agregados del suelo (Huygens et al., 2005). Borie y Zunino, (1983) plantearon un modelo hipotético de acumulación de P en suelos alofánicos, a través del cual se pretende explicar la acumulación de P en formas asociadas a la materia orgánica (Figura 2.1).

2.2.2 Procedimientos de extracción de P

Históricamente se ha cuantificado la cantidad de P en el suelo que es utilizable por las plantas en el corto plazo mediante una serie de soluciones; sin embargo, debido a la importancia de otras formas de P no tan inmediatamente disponibles para las plantas, pero que por efecto de la actividad radical pueden tornarse disponibles, se han diseñado metodologías de fraccionamiento de formas de P de distinta labilidad. Estas extracciones secuenciales se utilizan en amplia medida para clasificar el P extractable del suelo en P_i y P_o (Chang y Jackson, 1957; Hedley et al., 1982; Cross y Schlesinger, 1995) y se basan en la extracción consecutiva de P con agentes de reactividad creciente, con lo que se determinan varios pools con distinta disponibilidad para la planta. Se asume en éstos que el P fácilmente disponible

será removido primero con soluciones extractivas suaves, mientras que las fracciones menos disponibles o P inaccesible para la planta pueda ser extraídas solamente con ácidos o álcalis más fuertes (Buechler et al., 2002). Se utilizan reactivos tales como resinas de intercambio, NaHCO_3 , NaOH y HCl y en los extractos se determina P_i y P_o .

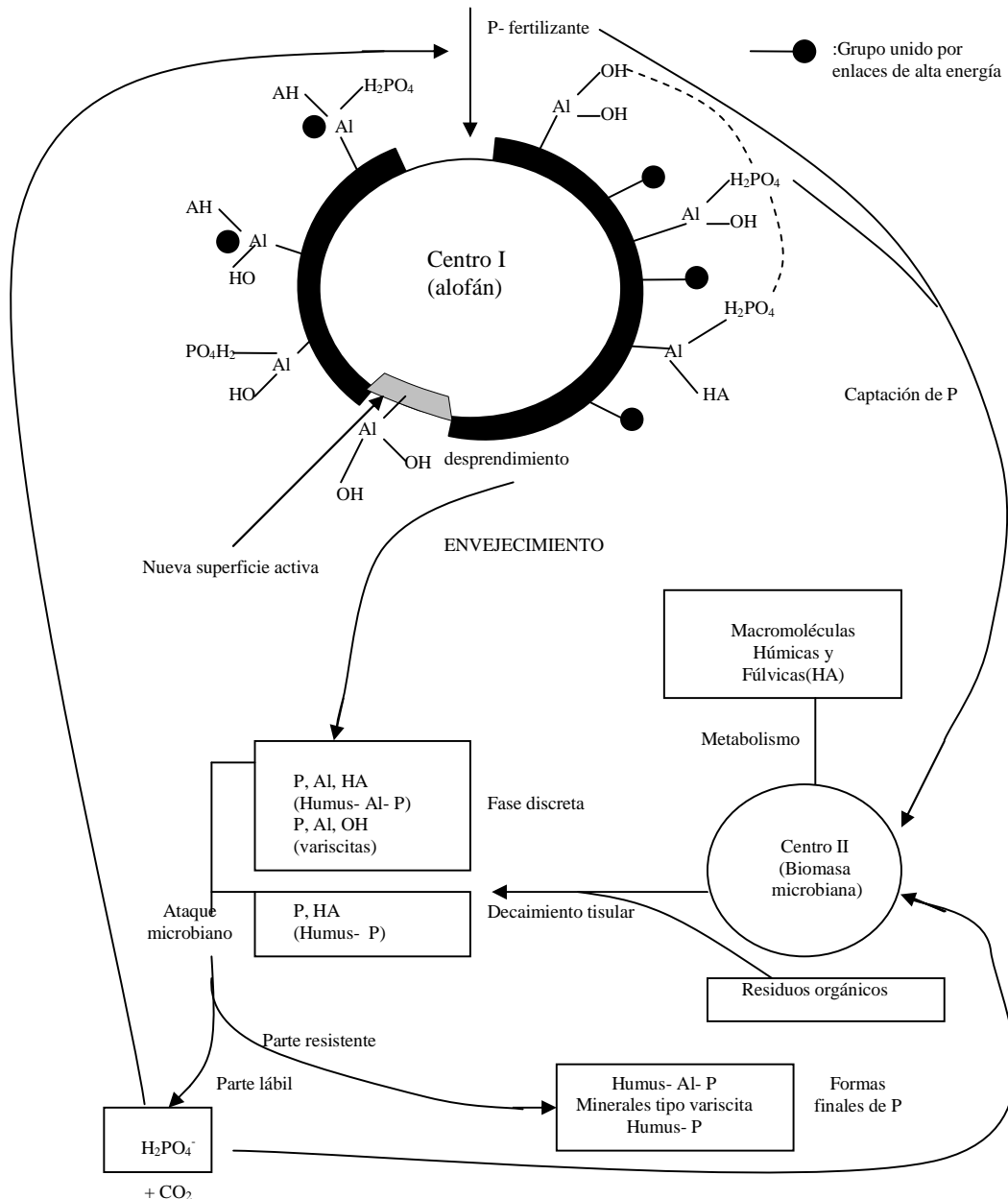


Fig 2.1. Esquema hipotético que interpreta la influencia de la actividad microbiana sobre el ciclo del P en suelos alofánicos. Nótese la acumulación de formas de P asociadas a la materia orgánica. En este esquema se han considerado sólo superficies del alofán derivadas de aluminio activo. En ciertos casos y condiciones también el Fe (III) puede participar en forma similar al Al. (De acuerdo a Borie y Zunino, 1983)

La capacidad de extracción de las resinas imitan el poder de absorción de iones por parte de las raíces de las plantas y se asume que el P extraído es disponible para las plantas (Hedley et al., 1982; Saggar et al., 1990; Cross y Schlesinger, 1995). La acumulación de P por la resina es influenciada por las características del suelo, como de las características que controlan la difusión de P a través de suelo (Blake et al., 2003). Las fracción inorgánica extraíble con NaHCO_3 corresponden a “pools” lábiles de P y la fracción orgánica corresponde a compuestos orgánicos lábiles tales como el ácido ribonucleico y glicerofosfato (Bowman y Cole, 1987). El P_i extraído por el NaOH 0,1 M se considera como P asociado a los óxidos de Fe y de Al y minerales de arcilla (Hedley et al., 1982; Buechler et al., 2002) y se asume que es moderadamente disponible (Schmidt et al., 1996). El P_o extractado con NaOH está asociado al P_o adsorbido sobre los minerales secundarios y materia orgánica del suelo (ácidos fúlvicos y húmicos) (Buechler et al., 2002). El P_i extraído por H_2SO_4 se considera P asociado a las superficies negativamente cargadas del óxido y a cierta parte del P ocluido (Hedley et al., 1994; Pheav et al., 2003). Estas fracciones están interrelacionadas entre sí. Un modelo propuesto para estas interacciones de los “pools” de P en el suelo es el propuesto por Tiessen et al. (1984, Figura 2.2).

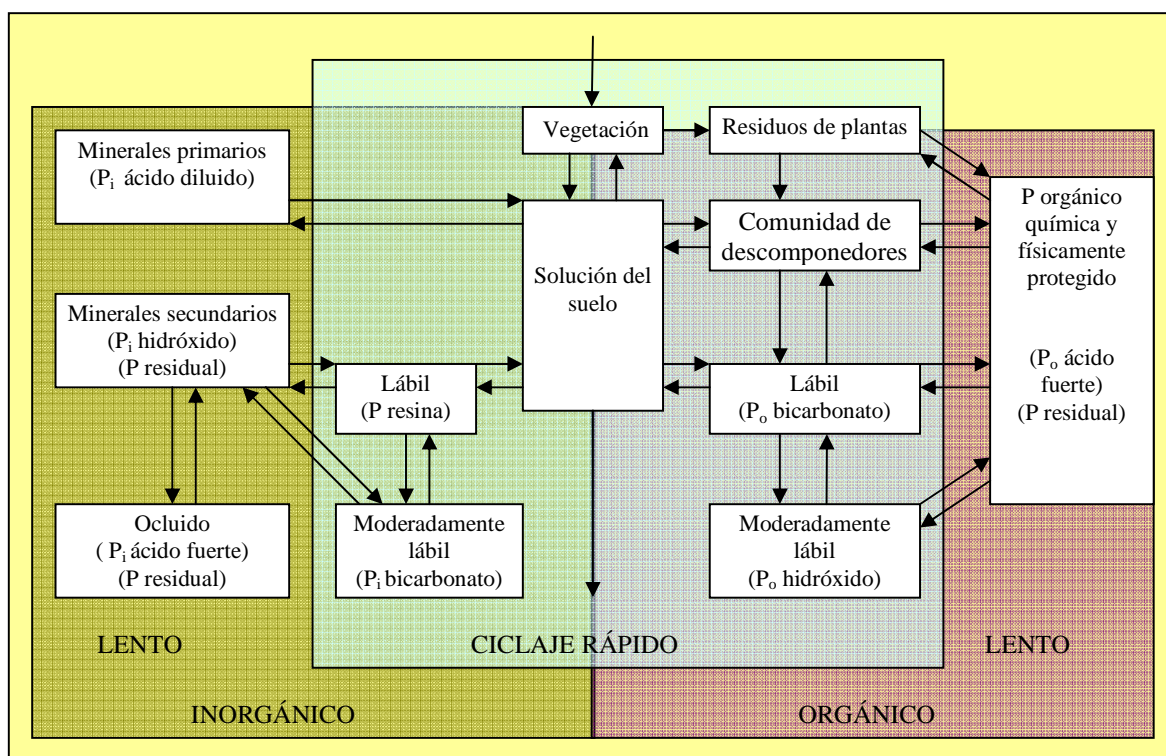


Fig. 2.2. Vista general esquemática de los diferentes “pools” de P en el suelo (Tiessen et al., 1984).

2.2.3 Sistemas de Labranza

La mayoría de los agricultores chilenos utiliza la labranza convencional (LC) que consiste en remover el suelo e incorporar los residuos del cultivo anterior (Sierra, 1990). El arado corta e invierte parcial o totalmente los primeros 15 cm permitiendo que el suelo se suelte, airee y mezcle, facilitando el ingreso de agua, mineralización de la materia orgánica, reducción de plagas y enfermedades en superficie. Con este sistema, el suelo se deteriora por pérdida de elementos nutritivos principalmente por erosión, compactación y degradación de la materia orgánica (Riquelme, 1992). La perturbación del suelo durante la labranza al airear y mezclar el suelo causan una ruptura física de los agregados por intensificación de los ciclos de humectación y secado (Suñer et al., 2000). Además, con este sistema se aumenta el grado del contacto entre el P derivado del fertilizante y las partículas del suelo y se puede promover la formación de los compuestos insolubles estables de P (Phiri et al., 2001). Por lo general, el P agregado se adsorbe rápidamente en las superficies de los óxidos del Fe y Al y se transforma posteriormente en otras formas y se inmoviliza dentro de partículas del suelo (Linguist et al., 1997).

Como respuesta a la preservación del recurso suelo surgió el manejo conservacionista. Parte importante de los sistemas de agricultura sostenible que bajo un sistema de mínima o cero labranza (CL) incrementa el potencial de rendimiento de los cultivos minimizando los niveles de erosión (Venegas, 1990). En CL prácticamente todo el rastrojo queda en la superficie con un mínimo de perturbación del suelo, retornando una mayor cantidad de fitomasa como residuo superficial o material radicular, lo que incrementa el contenido de materia orgánica superficial, aumentando la actividad de los microorganismos de la rizósfera (Derpsch et al., 2000). Además, disminuye la erosión hídrica y eólica y mejora las propiedades físicas como la estructura y densidad aparente (Sinaj et al., 2001).

El manejo de residuos de cosecha es muy importante por la cantidad de nutrientes y micronutrientes que contienen, entre ellos el P (Kwabiah et al., 2003a). La calidad del residuo afecta su descomposición y su contenido en P, afectando la absorción de P del cultivo siguiente (Nwoke et al., 2003). La proporción del residuo devuelta al suelo puede afectar el

balance de P del cultivo (Pheav et al., 2005), como asimismo su localización superficial o incorporación al suelo (Huffman et al., 1996). Por otra parte, la acumulación de residuos en superficie produce una mayor humedad, proliferación de raíces, exploración de los primeros centímetros y absorción de P (Ball-Coelho et al., 1993).

La mayor acumulación de residuos bajo CL y la inmovilización de P en el “pool” de P_o evita que este se fije en el corto plazo o se transforme en compuestos más insolubles y por tanto, al ser su liberación gradual, se sincroniza con la demanda de las plantas (Daroub et al., 2001). Sin embargo, dicho aumento en el P puede ser menor comparado con el aumento en el C y N por la fijación que puede sufrir el P con Al y Fe (Rheinheimer et al., 2002) y con las superficies reactivas de arcilla debido a que un 15- 50 % del P de la planta es soluble (P inorgánico y P monoéster (Frossard et al., 1996). Sin embargo, estos residuos, producto de la descomposición, pueden proveer de una fuente de ácidos orgánicos de cadena corta, que permitirían incrementar la disponibilidad de P debido a que compiten con los sitios de fijación de P (Iyamuremye et al., 1996; Kwabiah et al., 2003a,b,c). También pueden acomplejar Fe y Al unidos al fosfato debido a su acción quelante y promover la movilización de P desde formas menos lábiles a más lábiles (Daroub et al., 2000), hecho que ha sido recientemente corroborado en suelos volcánicos (Borie et al., 2002).

2.2.4 Efectos de la labranza sobre las fracciones de P

La influencia de las prácticas del cultivo en la distribución de P en el suelo en “pooles” de diferente biodisponibilidad es de creciente interés debido a la importancia de las formas de P tanto desde el punto de vista ambiental, agronómico y económico. Se han reportado efectos significativos de los sistemas de labranza sobre P disponible y otras formas de P en Entisoles y Alfisoles (Pezzarossa et al., 1995; Daroub et al., 2000; Zheng et al., 2002, 2004), indicando que los sistemas de labranza, tipo del suelo y tiempo bajo CL pueden influenciar en la acumulación de P disponible cerca de la superficie del suelo. La falta de movilidad de P en muchos suelos puede dar lugar a la estratificación de este elemento tal como ha sido reportado para Mollisoles por Zibilske y Bradford, (2003). La CL incrementa los contenidos de P_o y P-microbiano en los primeros cm del suelo, con respecto a LC (Pezzarossa et al., 1995), al igual

que el P disponible (Essington y Howard, 2000) y el P_T (Rheinheimer et al., 2002) en Alfisoles y Ultisoles, respectivamente. Este incremento en los contenidos de P se debe a la localización del P en los primeros centímetros del suelo y a la acumulación de residuos y C orgánico en la superficie. Como consecuencia, en la CL la concentración de P disminuye en forma más marcada en profundidad con respecto a la LC.

Hedley et al. (1982), encontraron en un Mollisol una reducción del contenido de P total de un 29% después de 65 años de una rotación trigo-trigo- barbecho sin aplicación de fertilizantes, comparando con una pradera. La alteración mecánica del suelo producida con la LC disminuye la agregación, promoviendo la mineralización de P_o . Además, el incremento del grado de contacto entre el P fertilizante y las partículas del suelo, promueve la formación de compuestos insolubles de P (Phiri et al., 2001). Daroub et al., (2000), documentan en un Alfisol una reducción en el P_i - $NaHCO_3$ y P_o - $NaHCO_3$ en muestras de suelo superficiales (0-2 cm) bajo LC, en comparación con CL. Además, señalan un aumento en el P_o - $NaOH$ y una reducción de P_i - $NaOH$ con CL. Basamba et al. (2006) encontraron una mayor acumulación de fracciones de P en Oxisol con CL en maíz y rotaciones soya- lupino que con LC. Buschiazzi et al (2000), encontraron que la LC incrementaba las pérdidas de P_i por erosión eólica en Mollisoles argentinos, y una mayor mineralización del P_o con LC, con respecto a mínima labranza.

2.2.5 Efecto de los cultivos sobre las fracciones de P

Los cultivos difieren de su potencial productivo y en la cantidad de nutrientes que remueven desde el suelo. La intensidad y la diversificación de los sistemas a través de la rotación influyen en la demanda, ciclado y distribución de nutrientes en el perfil del suelo, afectando la dinámica y requerimientos de ellos, junto con influir en la diversidad y actividad de la biomasa microbiana (Grant et al., 2002). En la rotación de cultivos, la introducción de plantas puede incrementar la disponibilidad de P; tal es el caso del lupino, el que secreta ácidos quelantes por sus raíces proteoideas cuando existe deficiencia de P (Neuman et al., 2000; Helmke et al, 2000); cuyo mecanismo es inhibido por altos niveles de P disponible (Borie et al., 1998). Los carboxilatos secretados en la rizósfera compiten con los grupos

fosfato por los sitios de adsorción del suelo. Estos pueden formar complejos estables con óxidos de hierro y aluminio y eventualmente el P es liberado a la solución del suelo (Nuruzzaman et al., 2005). Cultivos con una gran cantidad de raíces como la alfalfa pueden ayudar a mantener el P_o , debido a que esta planta es capaz de absorber el P residual y transformarlo a P_o con el reciclaje del sistema radical (Daroub et al., 2000). La introducción de cultivos verdes dentro de la rotación puede aumentar el P disponible (Phiri et al., 2001), por la movilización de fracciones menos disponibles de P (Horst et al., 2001) y por la adición de residuos ricos en P (Pypers et al., 2005).

Cultivos micorrizables como el trigo y la avena pueden aumentar el potencial de inóculo de hongos micorrizógenos, como asimismo la producción de fosfatasas por parte de la micorriza, la cual promueve la hidrólisis de P_o (Borie et al., 2002). Buechler et al. (2002), trabajando en un Oxisol de Colombia, encontraron una mayor proporción de P_o -NaHCO₃ con arroz con respecto a la sabana, pastura o una rotación de arroz y abono verde. Esta última rotación, en cambio, presentó los mayores valores de P_i -NaHCO₃, producto de la fertilización. Estos autores también encontraron que los contenidos de P_o del suelo eran más importantes cuando no se fertilizaba. Maroko et al. (1999), encontraron en un Oxisol en Kenya, que la sesbania (una leguminosa) aumenta los contenidos de P-resina y P_{mic} con respecto a una pastura, maíz o barbecho, debido al reciclaje de P a través de los residuos de la planta, aunque no encontraron un efecto sobre las otras fracciones de P.

Blake et al. (2003), en experimentos a largo plazo, encontraron una estrecha relación entre el balance de P de diferentes cultivos y las fracciones de P. Todas las fracciones se incrementan por balances positivos y disminuyen cuando el balance es negativo. Zheng et al. (2002), en un experimento en que compararon una rotación de cebada-pradera y un monocultivo de cebada con distintos fertilizantes, determinaron que la fuente de nutrientes afecta en mayor medida a las fracciones de P, especialmente P-resina, en la capa superficial del suelo, mientras que la rotación tuvo un mayor efecto en el subsuelo. Daroub et al. (2001) encontraron que el cultivo de alfalfa disminuía el P residual e incrementaba el P_o extractable con NaOH, lo que sugiere que este cultivo puede absorber de la fracción residual y reciclarla a través de la descomposición de su extenso sistema radical. Asimismo, estos autores (Daroub et

al., 2000), al incubar suelo con residuo de soya marcado con ^{33}P , encontraron que el P-resina liberado del residuo se acumulaba mayormente en la fracción extractable con NaOH.

2.2.6 El P de la biomasa microbiana

La biomasa microbiana es de suma importancia en el ciclado de nutrientes del suelo y en la nutrición vegetal. La biomasa microbiana es la fracción más activa de la materia orgánica y representa un pool de nutrientes dinámico, el cual responde rápidamente a los cambios en el medio ambiente del suelo y ha sido propuesto como indicador sensible de la calidad del mismo (Chen et al., 2000). La biomasa microbiana comprende menos del 5% de la materia orgánica del suelo, pero ella es responsable de varias funciones críticas en el suelo y en el medio ambiente. Es una fuente lábil y sumidero de C, N, P y S y un agente de transformación de nutrientes (Dalal, 1998). Es un elemento clave en la mineralización del P_o (Brookes et al., 1984). El tamaño y el reciclado de la biomasa microbiana influyen en la disponibilidad de nutrientes de las plantas y determina la disponibilidad y utilización de P_o y P_i en el sistema suelo- planta (Frossard et al., 2000; Kwabiah et al., 2003a). Los microorganismos juegan un rol fundamental en las transformaciones del P_o del suelo a través de la exudación de fosfatasas y producción de ácidos con capacidad quelante (He y Zhu, 1998), promoviendo la mineralización de P, síntesis y liberación de P_o , y solubilización de formas de P_i escasamente solubles (Oberson et al., 2001).

Procesos tales como la inmovilización de P_i por los microorganismos y su liberación gradual a través del ciclado microbiano puede proteger al P de reacciones de adsorción si esta liberación está sincronizada con la demanda de las plantas y/o generación subsiguiente de microorganismos (Oberson et al., 2001). El manejo otorgado al suelo tiene una gran incidencia en la cantidad de P asociada a la biomasa microbiana (Oberson et al., 1996). Las rotaciones de cultivo y la labranza, afectan la biomasa del suelo regulando la cantidad y calidad de residuos, especialmente de biomasa radical. Mientras aumenta la adición de biomasa vegetal, mayor será el incremento de la biomasa microbiana (Dalal, 1998) y la adición de residuos ricos en P incrementará el P microbiano (Nziguheba et al., 1998). La fertilización asimismo aumentará los contenidos de P microbiano (Guerra et al., 1995). La distribución de la biomasa

microbiana en suelos con CL sigue un patrón similar al de la materia orgánica (Dalal, 1998). Si grandes cantidades de P son mantenidos en el suelo por el ciclo microbiano y en el ciclo suelo- planta, la disponibilidad del P será alta (Lehmann et al., 2001).

Durante las últimas dos décadas se han propuesto variadas metodologías para determinar el P microbiano a través de métodos de fumigación-extracción. Se han propuesto como fumigantes cloroformo (Brookes et al., 1982, Hedley y Steward, 1982), o hexanol (McLaughlin et al., 1986). También se ha propuesto un método de fumigación-sorción-extracción (Morel et al., 1996), usando agua desionizada para la extracción y corrección para la sorción de P durante la fumigación y extracción. Finalmente, Bünemann et al. (2004a) propusieron un método basado en los trabajos anteriores, combinando extracción con resinas de intercambio aniónico y fumigación con hexanol, aplicando un factor de corrección obtenido experimentalmente al evaluar la absorción de P del suelo de P adicionado a la muestra.

2.3 Materiales y métodos

2.3.1. Descripción del área de estudio

El sitio usado para el análisis fue establecido en el año 2001 y está situado en Pumalal, cerca de Temuco en el Centro-Sur de Chile (38° 40' 15"S, 72° 31' 00"O, altitud de 185 m.s.n.m.; precipitación media anual 1200-1500 mm, con un promedio de 250-300 mm en primavera y de 300-400 mm en otoño, temperatura media: 14,6° C). El ensayo se realizó en un Ultisol de la serie Metrenco (Typic Palehumult) con material parental derivado de cenizas volcánicas, con pendientes entre 4-15 %.

2.3.2. Descripción del ensayo en campo

El ensayo consistió en una rotación lupino (*Lupinus albus* L. c.v. Rumbo)-trigo (*Triticum aestivum* L. c.v. Kumpa-INIA) y avena (*Avena sativa* L. c.v. Nehuen-INIA)-trigo. Se sembraron parcelas de 10 m de largo y 3 m de ancho, bajo dos sistemas de labranza: a) labranza convencional (LC) con quema de residuos y b) cero labranza (CL), en el cual el

rastrojo de la cosecha del año anterior fue incorporada directamente al suelo. El diseño experimental fue al azar, con 4 repeticiones.

La fertilización aplicada a los cultivos fue de 150-200-80 kg de N-P-K ha⁻¹ para el trigo y 150-80-80 kg de N-P-K ha⁻¹ para avena y 20-80-80 kg de N-P-K ha⁻¹ para lupino (30% del N y otros nutrientes a la siembra; 70% del N al final de la macolla). El control de malezas en las parcelas manejadas con CL fue con glifosato (900 g ha⁻¹ en 200 L ha⁻¹ de agua) a comienzos de otoño. Los tiempos del establecimiento, cosecha y colecta se indican en Figura 2.3. Las siembras se establecieron en mayo (otoño) de cada año y se cosecharon en febrero del año siguiente.

año	2001			2002			2003			2004			2005	
estación	O	I	P	V	O	I	P	V	O	I	P	V	O	I
rotación														
avena-trigo -LC	Avena			barbecho	trigo			barbecho	Avena			barbecho	trigo	
avena-trigo -CL														
Lupino-trigo -LC	Lupino			barbecho	trigo			barbecho	Lupino			barbecho	trigo	
Lupino-trigo -CL														
	establecimiento			1º muestreo				2º muestreo				3º muestreo		

Fig 2.3. Diseño de campo y tiempos de colecta en un Ultisol serie Metrenco, Centro-Sur de Chile. LC: labranza convencional; CL: cero labranza; O: otoño; I: invierno; P: primavera; V: verano.

2.3.3 Muestreo de suelos

La colecta de los suelos usados para este estudio se realizó en abril (otoño) previo al establecimiento del cultivo, durante las temporadas 2002-2005. Cada tratamiento consistió en ocho parcelas distribuidas aleatoriamente, de las cuales se seleccionaron cuatro. Se recogieron veinte submuestras las que se homogeneizaron para dar una muestra compuesta que representa la parcela. Se colectaron muestras a 0-10 centímetros de profundidad los años 2002 y 2003, y 0-5, 0-10 y 10-20 cm los años 2004 y 2005. En la Tabla 2.1 se indican algunas características de los suelos utilizados al inicio del experimento.

Tabla 2.1

Características del Ultisol usado en el comienzo del experimento (año 2001).

profundidad	pH	C _o (%)	N (%)	C/N	P-Olsen - (mg kg ⁻¹) -	S	Ca	Mg	K	Na	CICE ⁽¹⁾ ----- (cmol _c (+) kg ⁻¹) -----	sat. Al ⁽²⁾ (%)
0- 10 cm	5,6	5,1	0,36	14	20	9,1	6,8	1,6	0,9	0,09	9,9	1,5
10- 20 cm	5,3	3,9	0,19	20	8	5,8	4,3	0,9	0,4	0,09	6,3	9,5

⁽¹⁾CICE: capacidad de intercambio catiónico efectiva; ⁽²⁾ sat. Al: saturación de aluminio; cmol_c (+): centimoles de carga +

2.3.4 Análisis de los suelos

Los suelos se tamizaron (<2 mm) y se guardaron hasta su análisis en contenedores plásticos a humedad de campo y 4° C. El P microbiano fue analizado inmediatamente en días posteriores después de la recolección de muestras, para no alterar la actividad microbiana producida por el secado (Turner y Haygarth, 2003).

2.3.4.1 Características del suelo

a) pH: el pH del suelo fue determinado en una suspensión de suelo con relación de 1: 2,5 de suelo/agua (p/v) mediante el uso de un electrodo de vidrio, previa calibración del pH- metro.

b) P Olsen: el P disponible se extrajo con 0,5 M NaHCO₃ a pH 8.5, según la metodología de Olsen y Sommers (1982).

c) P total: El P_T fue determinado por el método de oxidación alcalina de Dick y Tabatabai (1977).

d) Materia orgánica: el contenido de materia orgánica fue analizado por el método húmedo de oxidación con dicromato (Walkley y Black, 1934).

e) P orgánico: el contenido de P orgánico fue determinado por calcinación a 550°C y extracción con H₂SO₄, según la metodología descrita por Saunders y Williams (1955) y modificada por Walker y Adams (1958).

f) Actividad fosfatasa: La actividad fosfatasa ácida (P-asa) (E.C.3.1.3.2 fosfomonoesterasa) asociada con el suelo se determinó usando *p*-nitrofenilfosfato (*p*-NFF) de acuerdo al procedimiento descrito por Tabatabai y Bremner (1969) con modificaciones informadas por Rubio et al. (1990) para suelos con altos contenidos de materia orgánica. Así, a muestras de 1 g de suelo se le adicionó 1 mL de *p*-NFF 50 mM y 4 mL de buffer Tris 0,1 M pH 5,5, durante

1h a 20°C, en oscuridad. Al término del período de incubación se añadió 1 mL de CaCl₂ 0,5 M y los contenidos se filtraron recibiendo sobre 4 mL de solución NaOH 0,5 M. Finalmente, las muestras se centrifugaron por 10 min a 2500 g y la cantidad de *p*-nitrofenol del sobrenadante, se determinó espectrofotométricamente a 400 nm.

2.3.4.2 Determinación del P microbiano

El P contenido en la biomasa microbiana fue determinado por fumigación y extracción simultánea con resinas de intercambio aniónico (BDH # 55164) en la forma de bicarbonato por 16 h. Sin embargo, se usó hexanol como fumigante en vez de cloroformo, para evitar la disolución de las membranas de intercambio aniónico (Myers et al., 1999; Bünemann et al., 2004a). La fumigación con hexanol ha demostrado ser tan efectiva como cloroformo para liberar P microbiano (McLaughlin et al., 1986). Todos los análisis se efectuaron con cuatro repeticiones.

A suelo húmedo equivalente a 2 g se adicionó 30 mL de H₂O y dos membranas de resina con (fumigadas) o sin (no fumigadas) 1 mL hexanol y se agitó por 16 h a 170 golpes min⁻¹. Las membranas de resina se lavaron cuidadosamente con H₂O y se eluyeron con 30 mL 0,5 M NaCl. El P microbiano fue calculado como la diferencia entre las muestras fumigadas y no fumigadas, pero aplicando un factor de recuperación de P de acuerdo a (Bünemann et al., 2004b) Dicho factor se determina con muestras no fumigadas adicionales, las que reciben una cantidad conocida de P inorgánico. La recuperación del P adicionado se describe como una función lineal de estos suelos, con adiciones que llegan a los 200 µg P g⁻¹ suelo. Una adición de P es por lo tanto suficiente para corregir la sorción de P. El P microbiano (P_{mic}) se calcula de acuerdo a:

$$P_{mic} = (P_{fum} - P_{resina}) / P_{rec}, \quad (1)$$

donde P_{fum} y P_{resina} son las cantidades de P extraídas de las muestras fumigadas y no fumigadas, respectivamente, y P_{rec} es la fracción de la adición de P que fue recuperada (Bünemann et al., 2004b). La concentración de P en todos los extractos se determinó mediante

el método colorimétrico de Murphy y Riley (1962) con un espectrofotómetro UV- VIS a 700 nm y pH 5,0.

2.3.4.3 Fraccionamiento de P

El fraccionamiento de fósforo se efectuó según una metodología modificada del fraccionamiento de Hedley (Hedley et al., 1982; Tiessen y Moir, 1993), adecuada para suelos ácidos derivados de cenizas volcánicas. Para este propósito, se secó una submuestra al aire, para pulverizar y tamizar a 106 μm . Se agitaron 0,5 g del suelo por 16 horas con 30 mL de agua desionizada y con resinas de intercambio aniónica y catiónica (BDH # 55164 2S y BDH # 55165 2U provenientes del laboratorio de BDH, BH15 ITD, Poole, Inglaterra) bajo la forma HCO_3^- y H^+ (Blake et al. 2003; Hedley et al, 1994). Después de la agitación, las resinas se lavaron con agua desionizada y se desorbieron con 30 mL de NaCl 0,5 M por 30 minutos; el P fue determinado por colorimetría usando el método azul de molibdeno- ácido ascórbico (Murphy y Riley, 1962). Posteriormente, la solución de suelo-agua se centrifugó a 5000 x g, descartándose el agua. Al suelo restante se agregaron 30 mL de 0,5 M NaHCO_3 , agitándose nuevamente por 16 h. Después de la centrifugación y de la filtración a través de Whatman # 40, el sobrenadante se recogió y el P total de esta fracción se determinó directamente por el método de Dick y Tabatabai (1977); el P inorgánico (P_i) fue determinado como fue descrito precedentemente. El P_o de esta fracción se estimó como la diferencia entre el P y el P_i . El suelo remanente fue extraído secuencialmente con NaOH 0,1 M en forma similar a lo descrito anteriormente para 0,5 M NaHCO_3 , y posteriormente el suelo se extrajo con H_2SO_4 0,5 M fue extraído en forma similar, pero solamente se determinó el contenido de P_i para el año 2005. El fosfato en todos los extractos fue medido por el método de Murphy y Riley (1962) a pH 5.0 con un espectrofotómetro UV-VIS. El diagrama de flujo de la extracción secuencial se resume en la Figura 2.4.

2.3.5 Relaciones P_i/P_o

Para la relación P_i/P_o , se consideró como P_i la suma de P resina, más las fracciones de P_i - NaHCO_3 y NaOH, y como P_o la suma de fracciones P_o - NaHCO_3 y P_o -NaOH (Lilienfein et

al., 2000; Solomon et al., 2002; McDowell et al., 2002). El P inorgánico no extractado se calculó a partir del P_T menos las fracciones de P_i (resina, bicarbonato, NaOH y H_2SO_4) y menos el P_o ; el P_o no extractado fue calculado como el P_o total menos las fracciones de P_o ($NaHCO_3$ y NaOH).

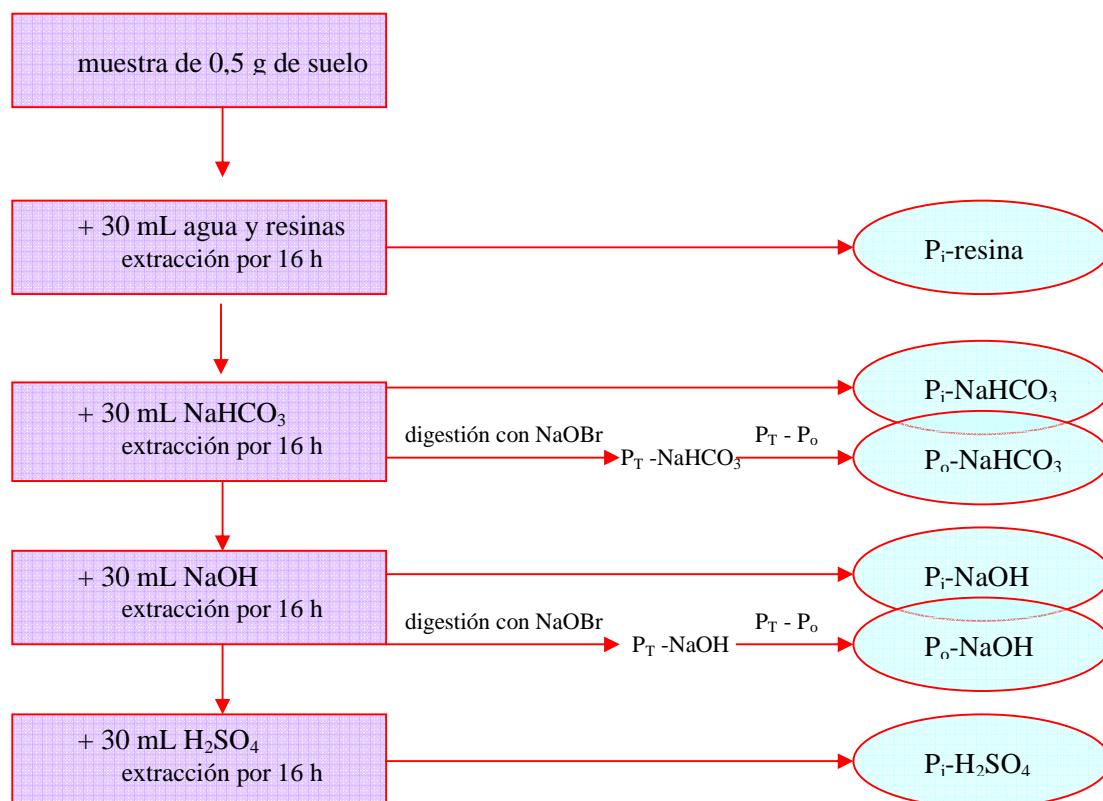


Fig. 2.4. Diagrama de flujo del modelo de extracción secuencial de P del suelo (modificado de Hedley et al. 1982).

2.3.6 Análisis estadísticos

Los datos de 4 repeticiones fueron analizados usando los procedimientos de ANOVA del instituto SAS/STAT, versión 6 (1990) siendo previamente transformados al arcoseno para cumplir con los requisitos estadísticos de la normalidad y se compararon con la prueba de rango múltiple de Duncan. La significación estadística fue determinada a $P \leq 0.05$. Se determinaron correlaciones usando ANOVA SAS/STAT, versión 6 (1990).

2.4 Resultados

2.4.1 Características iniciales del suelo

Se encontraron diferencias importantes a lo largo del perfil del suelo (Tabla 2.1). En general, se observó una acumulación superficial de C_o y de nutrientes. Además, se observó una mayor saturación de Al y acidez en el horizonte más profundo.

2.4.2 Efectos del sistema de labranza y de la rotación sobre los parámetros químicos y biológicos del suelo

En el primer año del experimento, el pH del suelo se incrementó bajo CL y se mantuvo hasta el cuarto año (Tabla 2.2), el que no fue distinto para los dos sistemas de labranza. En relación al cultivo, el pH fue más alto cuando se usó avena como cultivo en comparación con lupino. Finalmente, el pH decreció significativamente en profundidad (Tabla 2.2 y 2.3). El C_o varió significativamente de 4,5 % a 5,6%, y se acumuló en los primeros centímetros del suelo. El contenido de C_o fue mayor el primer año, pero después del primer año, los niveles de C disminuyeron y las pérdidas de C fueron más altas con la aplicación de LC en el año 2005.

En general, los contenidos de P Olsen y P_T aumentaron de 2002 a 2004, principalmente debido a la aplicación de fertilizantes a los cultivos. Se observó mayor contenido de P con CL (el promedio general de P_T de todos los tratamientos con CL para todos los años fue 3,6% mayor que para los tratamientos con LC) especialmente en el segundo año. No se observaron diferencias significativas en el P_T para los dos últimos años, ni por la rotación, ni por la labranza (Tabla 2.2). El P_T se incrementó 436 mg kg^{-1} en promedio en los 0-10 cm del suelo durante el período 2002-2005, especialmente en suelo con LC. La actividad fosfatasa ácida fluctuó entre 370 y $1055 \text{ } \mu\text{g p-NFF g}^{-1} \text{ s}^{-1}$, siendo significativamente más alta en los suelos después de lupino (con un valor promedio de $738 \text{ } \mu\text{g p-NFF g}^{-1}$ en los 0-10 cm) en comparación con avena ($577 \text{ } \mu\text{g p-NFF g}^{-1}$, Tablas 2.2 y 2.3). La P-asa se incrementó con el tiempo bajo cultivo, siendo más alta con CL.

Tabla 2.2

Propiedades del Ultisol durante cuatro años bajo labranza y rotación de cultivos en el Centro- Sur de Chile.

año	labranza	cultivo	pH	C _o (%)	P- Olsen (mg kg ⁻¹)	P- Total (mg kg ⁻¹)	P- asa (μg p-NFF g ⁻¹)
2002	LC	A	5,5 b	5,3 b	13,8 a	1631 b	605 b
		L	5,5 b	5,3 b	15,1 a	1590 b	784 a
	CL	A	5,8 a	5,2 b	19,6 a	1636 b	532 b
		L	5,5 b	5,6 a	17,1 a	1717 b	705 a
2003	LC	AT	5,7 a	4,5 a	21,8 ab	1719 b	504 a
		LT	5,7 a	4,7 a	24,5 a	1693 b	520 a
	CL	AT	5,8 a	4,7 a	17,4 b	1810 a	430 ab
		LT	5,6 b	4,6 a	17,3 b	1863 a	370 b
2004	LC	ATA	5,5 ab	4,9 a	12,1 b	1845 a	470 c
		LTL	5,4 b	4,8 a	6,7 c	1843 a	758 a
	CL	ATA	5,7 a	4,7 a	14,2 a	1898 a	627 b
		LTL	5,0 c	4,8 a	6,5 c	1895 a	773 a
2005	LC	ATAT	5,8 a	4,5 b	26,5 a	2046 a	689 b
		LTLT	5,6 a	4,5 b	22,0 b	2047 a	936 a
	CL	ATAT	5,8 a	5,0 a	26,4 a	2029 a	761 b
		LTLT	5,6 a	4,9 a	24,6 a	2093 a	1055 a
promedios		año					
LC	2002- 2005		5.6	4.8	17.8	1802	658
CL	(0-10 cm)		5.6	4.9	17.9	1868	657
A	2002 & 2004		5.6	5.0	14.9	1753	558
L	(0- 10 cm)		5.4	5.1	11.4	1761	755
T (A)	2003 & 2005		5.8	4.7	23.0	1901	596
T (L)	(0-10 cm)		5.6	4.7	21.1	1924	720
0-5 cm	2004-2005		5.9	5.0	18.9	2014	847
0-10 cm			5.6	4.8	17.4	1962	759
10-20 cm			5.0	4.1	8.6	1865	686

LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A: avena; L: lupino; P-asa: fosfatasa ácida. Para el mismo año, los valores de las columnas seguidas por letras distintas son significativamente diferentes por la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)

Tabla 2.3

Probabilidades F para las fracciones de P y propiedades en un Ultisol durante cuatro años bajo labranza y rotación de cultivos en el Centro- Sur de Chile. $P_1 + P_{ml}$: P lábil + P moderadamente lábil

	pH	C _o	P-		P-		P _i -	P _o -	P _i -	P _o -	P lábil	P ₁ + P _{ml}
			Olsen	P _T	P-asa	resina	NaHCO ₃	NaHCO ₃	NaOH	NaOH		
rotación (R)	0,029	0,097	0,159	0,008	0,021	0,423	0,981	0,008	0,654	0,100	0,023	0,040
labranza (L)	0,820	0,446	0,482	0,001	0,105	0,073	0,103	0,385	0,011	0,418	0,136	0,045
R x L	0,338	0,010	0,454	0,888	0,705	0,451	0,357	0,995	0,874	0,327	0,880	0,361
profundidad (P)	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	0,425	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
P x R	0,348	0,750	0,020	0,114	0,483	0,006	0,474	0,182	0,449	0,692	0,117	0,409
P x L	0,116	<0,001	0,037	0,065	0,831	0,988	0,448	0,860	0,050	0,069	0,393	0,002
año (A)	0,002	<0,001	0,004	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001	<0,001
A x R	0,891	0,165	0,010	0,228	0,079	0,003	<0,001	0,170	0,026	0,366	0,041	0,114
A x L	0,510	0,603	0,003	0,605	0,034	<0,001	<0,001	0,374	0,571	0,145	0,364	0,038
A x P	<0,001	0,098	<0,001	0,003	0,470	<0,001	0,001	<0,001	0,017	0,010	0,856	<0,001

2.4.3 Distribución de las formas de P a través del tiempo

En los primeros 10 cm de suelo, el P estuvo mayoritariamente asociado a la fracción moderadamente lábil, extractable con NaOH, representando un promedio de 43,5 % del P_T a través de los 4 años (Fig. 2.5). Sólo un 9,6 % del P_T es P lábil, extractable con resina y NaHCO₃. El P_o moderadamente lábil aumentó un 155 % en los 4 años. La suma de las fracciones de P lábiles extractables con NaHCO₃ y resina, fueron mayores en los años con cultivo de trigo, especialmente en la rotación ATAT (Fig. 2.5, Tabla 2.3 y 2.4), mientras que en el último año, se encontró un aumento en el P-resina. Asimismo, hubo una reducción en la relación P_i/P_o en el tiempo, de 3,44 en el año 2002 a 1,05 en el quinto año (2005, Fig. 2.5).

2.4.4 Efecto de la labranza y de la rotación en las fracciones de P.

Las formas de P lábil y moderadamente lábil fueron mayores en los suelos bajo CL que bajo LC (Tablas 2.3 y 2.4), pero las proporciones de cada fracción se mantuvieron casi constantes si se promedian los datos de los 4 años (Tabla 2.4). Las formas de P lábil fueron asimismo más altas con la rotación AT comparado a LT especialmente los años 2002 y 2004, después del cultivo con avena. El cultivo con trigo dejó una mayor proporción de P_o y P-resina en el suelo (Tabla 2.4). En general, la rotación y el sistema de labranza ejercieron el mismo nivel de significancia en el P lábil + moderadamente lábil, como lo muestra la Tabla 2.3

(probabilidad F -de 0,045 y 0,040, respectivamente). La rotación afectó al P_T y las fracciones de P_i en una mayor extensión, acumulándolas bajo CL, mientras que la rotación de cultivos afectó más las propiedades del suelo y las fracciones de P_o . Por lo tanto, bajo LC se acumuló una mayor cantidad de P_o -NaHCO₃ y se observó una mayor actividad P-asa; mientras que AT tuvo un pH más elevado y más P_o -NaOH (Tabla 2.3).

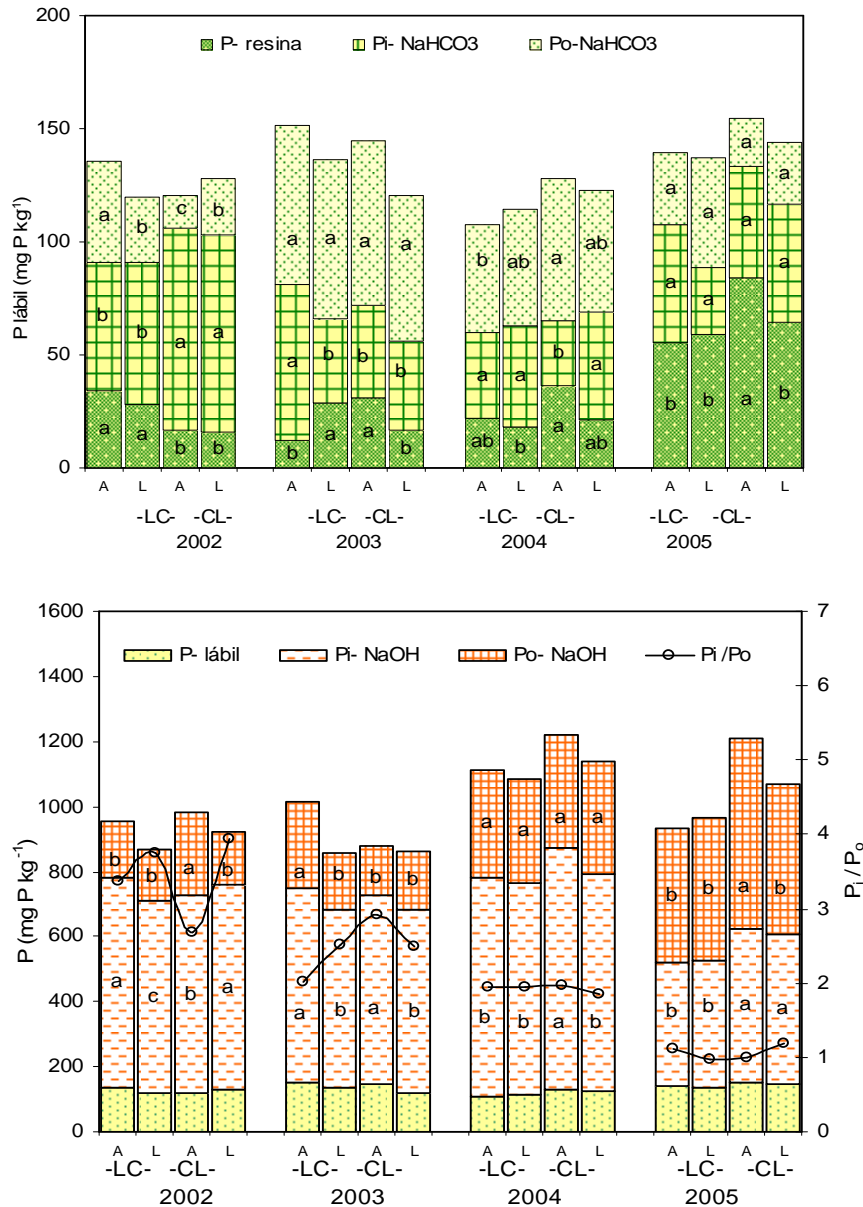


Fig. 2.5. Fraccionamiento de fósforo y relación P_i/P_o en los 0-10 cm del perfil del suelo durante cuatro años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos (Fig. 1a: todas las fracciones de P, Fig. 1b: fracciones lábiles de P). Para el mismo año y fracción, los valores de las columnas seguidas por letras distintas son significativamente diferentes por la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$). LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A: avena; L: lupino

Tabla 2.4

Promedios de las fracciones de P (mg kg^{-1}) de diferente labilidad durante cuatro años en un Ultisol agrupados según la labranza, rotación de cultivos y profundidad.

	año	P-resina	P _i - NaHCO ₃	P _o - NaHCO ₃	P _i - NaOH	P _o - NaOH	P _l + P _{ml}	P no extraído
LC	2002-2005	32,2 (3,3) ¹	48,8 (5,0) ¹	49,2 (5,1) ¹	561 (57,6) ¹	283 (29,1) ¹	974 (54,0) ²	828 (46,0) ²
CL		35,8 (3,5)	54,2 (5,2)	42,7 (4,1)	592 (57,1)	311 (30,0)	1036 (55,4)	832 (44,6)
A	2002 & 2004	27,3 (2,6)	53,3 (5,0)	42,5 (4,0)	669 (62,7)	276 (25,8)	1067 (60,9)	685 (39,1)
L	(LC & CL)	20,8 (2,1)	60,8 (6,1)	39,7 (4,0)	637 (63,5)	244 (24,4)	1002 (56,9)	759 (43,1)
T (A)	2003 &	45,6 (4,5)	52,8 (5,2)	49,2 (4,9)	508 (50,3)	354 (35,0)	1009 (53,1)	892 (46,9)
T (L)	2005	42,4 (4,5)	39,3 (4,2)	52,7 (5,6)	491 (52,3)	314 (33,4)	939 (48,8)	985 (51,2)
0-5 cm		51,9 (5,0)	59,9 (5,8)	79,7 (7,7)	513 (49,7)	328 (31,8)	1032 (51,3)	982 (48,7)
0-10 cm	2004-2005	45,0 (4,1)	42,8 (3,9)	43,2 (4,0)	556 (51,0)	404 (37,0)	1092 (55,6)	870 (44,4)
10-20 cm		19,4 (2,2)	43,0 (4,8)	34,5 (3,8)	407 (45,2)	396 (44,0)	899 (48,2)	966 (51,8)

LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A: avena; L: lupino; T(A): trigo después de avena; T (L): trigo después de lupino; P_l + P_{ml}: P lábil+ P moderadamente lábil.

¹ valores entre paréntesis en la columna son expresados en porcentaje del P lábil+ moderadamente lábil

² valores entre paréntesis en la columna son expresados en porcentaje del P total

2.4.5 Estratificación de las formas de P en profundidad durante los años 2004- 2005

A lo largo del perfil, tanto en los 0-5 cm y 10-20 cm del suelo la mayor parte del P fue extraído con NaOH (P moderadamente lábil); sin embargo se observó que la proporción de P_o aumentó en los 10-20 cm, reflejada en la reducción en el promedio de la relación P_i/P_o de 2,5 a 1,9 para los 0-5 cm y 10-20 cm del suelo, respectivamente, en el año 2004 y de 1,0 a 0,6 el año 2005 (Tabla 2.5). La rotación ATAT bajo LC tuvo el mayor contenido de P_o-NaOH en los 10-20 cm el año 2005 y ambas rotaciones bajo LC en el año 2004. Se encontró una acumulación de P_i-NaOH en la superficie de los suelos con LC, especialmente con la rotación con avena (Tabla 2.5).

Las fracciones lábiles de P extraídas con resina y NaHCO₃ se encontraron en una mayor concentración en la superficie en ambos años. El suelo después del cultivo de lupino mostró la mayor concentración de P lábil en la superficie, en especial como P_o-NaHCO₃ con CL en el año 2004 (Tabla 2.5). En el último año, los suelos tuvieron la mayor concentración de P resina, alcanzando un valor promedio de 66 mg kg^{-1} en el perfil de 0-10 cm. En los años 2004 y 2005, la rotación bajo CL-ATAT tuvo la mayor concentración de P-resina. La

concentración de P_o lábil, extractable con NaHCO_3 fue más alta en los 0-5 cm, mientras que el $P_i\text{-NaHCO}_3$ no mostró diferencias.

Tabla 2.5

Determinación de las fracciones de P (mg kg^{-1}) en los 0-5 cm y 10-20 cm de profundidad durante dos años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos.

año	profundidad (cm)	labranza	rotación	P (mg kg^{-1})					P_i/P_o
				P- resina	$P_i\text{-NaHCO}_3$	$P_o\text{-NaHCO}_3$	$P_i\text{-NaOH}$	$P_o\text{-NaOH}$	
2004	0- 5	LC	ATA	49 a	50 c	65 b	564 c	246 ab	2,1
			LTL	29 b	65 ab	70 b	569 c	203 ab	2,4
		CL	ATA	44 a	60 b	84 ab	685 a	174 b	3,1
			LTL	54 a	72 a	93 a	653 b	265 a	2,2
	10- 20	LC	ATA	13 a	40 c	39 a	521 ab	300 a	1,7
			LTL	8 b	57 a	26 a	513 b	304 a	1,8
		CL	ATA	8 b	48 b	11 b	532 a	279 ab	2,0
			LTL	10 ab	57 a	33 a	523 ab	268 b	2,0
2005	0- 5	LC	ATAT	52 b	52 a	84 ab	393 bc	418 b	0,8
			LTLT	59 ab	54 a	99 a	372 c	400 b	1,0
		CL	ATAT	62 ab	64 a	59 b	414 b	536 a	1,0
			LTLT	66 a	63 a	83 ab	454 a	382 b	1,1
	10- 20	LC	ATAT	19 b	39 a	12 b	285 a	522 a	0,5
			LTLT	23 b	35 a	54 a	300 a	505 b	0,6
		CL	ATAT	38 a	41 a	48 a	271 a	486 b	0,6
			LTLT	37 a	27 a	52 a	309 a	501 b	0,6

LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A: avena; L: lupino. Para el mismo año, profundidad y fracción de P, los valores de las columnas seguidas por letras distintas son significativamente diferentes por la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$)

La relación P_i/P_o lábil fue mayor en los años 2002 y 2005. En ambos años, la mayor relación P_i/P_o se encontró bajo la rotación AT. En el horizonte de suelo más profundo, el efecto del sistema de labranza fue opuesto al de la superficie, mostrando una acumulación de P bajo LC, efecto que fue más evidente cuando se comparan las fracciones como % del P_T . Por otra parte, la comparación de los 10-20 cm entre los años 2004 y 2005 sugiere que la acumulación de P en el tiempo no está limitada solo al horizonte superficial.

2.4.6 Efectos de la rotación y la labranza en el P al 5º año del experimento

En el año 2005, se consideraron además las fracciones de P microbiano, el P extractable con H₂SO₄ en el fraccionamiento de Hedley y el P_o, calculándose el P_i y el P_o no extraído.

2.4.6.1 Efectos de la rotación y la labranza en el P_o, fracciones de P y P microbiano

En el último año del experimento, las fracciones de P lábil extractable con resina y bicarbonato fueron significativamente más altas con la rotación LTLT que con ATAT (Tablas 2.6 y 2.7), y con CL comparado con LC, pero no fue estadísticamente significativo. El P moderadamente lábil extraído con NaOH fue más alto con la rotación ATAT bajo CL (Tablas 2.6 y 2.7). La fracción de P extraído con ácido sulfúrico fue la fracción mas pequeña (representando en promedio 5,6% del P total) y fue menor en profundidad (Tabla 2.7 y Fig. 2.6). Las fracciones residuales no extraídas con el fraccionamiento representaron en promedio, un 44,7 % de P_T. La fracción orgánica fue mayor a la inorgánica en los 0-10 cm, revirtiéndose la tendencia en los 10-20 cm. El P_i no extraído fue mayor con la rotación ATAT y bajo LC, mientras que el P_o no extraído fue mayor con la rotación LTLT y bajo CL (Fig. 2.6). El P microbiano estuvo en un rango comprendido entre 6,5 (LC-L, 10-20 cm) y 22.6 mg kg⁻¹ (CL-L, 0-5 cm) y fue significativamente mayor bajo CL y en suelos superficiales (Tabla 2.8). Por otra parte, a 10- 20 cm, P_{mic} fue menor bajo LC y lupino.

Tabla 2.6

Promedios generales de las fracciones de P (en mg kg⁻¹) de diferente labilidad en un Ultisol agrupados según tipo de labranza y rotación de cultivos en el año 2005

	P _{mic}	P lábil	P _i -NaOH	P _o -NaOH	P _i -H ₂ SO ₄	P orgánico	P _i no extraído	P _o no extraído
ATAT	14,4	144	369	493	101	1036	420	464
LTLT	14,5	155	382	448	116	1027	344	555
LC	12,5	143	354	449	92	1000	403	532
CL	16,4	156	397	492	125	1063	361	487

LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A:, avena; L: lupino.

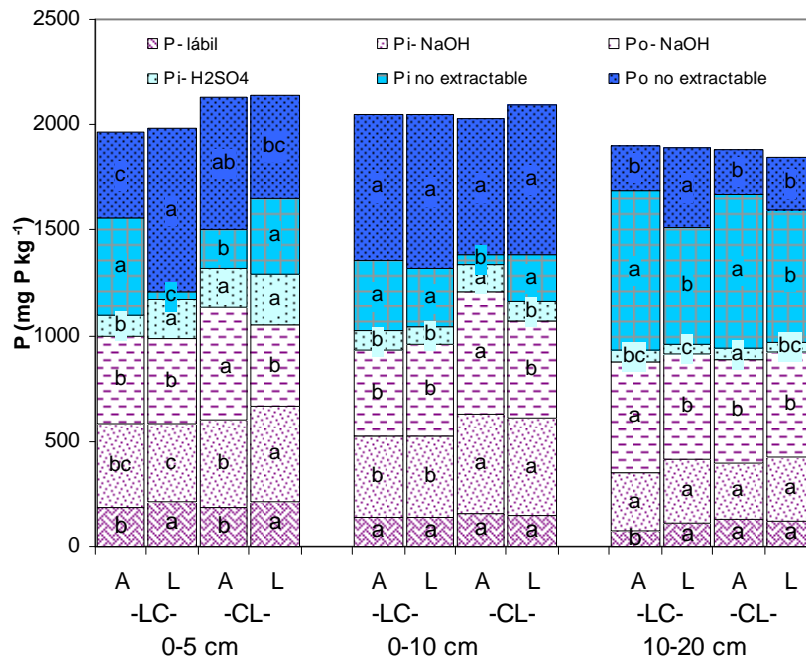


Fig. 2.6. Fraccionamiento de P en un Ultisol sometido a labranza y rotación de cultivos. LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A: avena; L: lupino. Para la misma fracción y profundidad, valores de las columnas seguidas de letras distintas denotan diferencias significativas según prueba Duncan ($P \leq 0,05$).

Tabla 2.7. Probabilidades F para las fracciones de P y propiedades del suelo en un Ultisol bajo dos sistemas de labranza y rotación de cultivos en el año 2005.

	P_{mic}	P lábil	P_i - NaOH-	P_o - NaOH	P_i - H_2SO_4	P_o	P_i no extraído	P_o no extraído
rotación (R)	0,916	0,021	0,118	0,145	0,775	0,003	0,212	<0,001
labranza (L)	<0,001	0,175	0,667	0,338	0,289	0,633	0,081	0,080
R x L	0,001	0,231	0,611	0,349	0,120	0,000	<0,001	<0,001
profundidad	<0,001	<0,001	0,020	0,007	<0,001	0,003	<0,001	<0,001

Tabla 2.8. P microbiano y P orgánico de un Ultisol bajo dos sistemas de labranza y rotación de cultivos en el año 2005.

profundidad	labranza	rotación	P_{mic} (mg kg ⁻¹)			P_o (mg kg ⁻¹)		
			0- 5 cm	0- 10 cm	10-20 cm	0- 5 cm	0- 10 cm	10-20 cm
LC		ATAT	15,8 b	14,3 b	8,6 a	909 b	1135 a	744 c
		LTLT	16,0 b	13,9 b	6,5 b	1216 a	1257 a	738 c
CL		ATAT	20,2 a	18,7 a	8,8 a	1274 a	1217 a	935 a
		LTLT	22,6 a	18,7 a	9,5 a	953 b	1199 a	803 b

Para la misma profundidad, valores de las columnas seguidas por letras distintas son significativamente diferentes por la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$). LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A: avena; L: lupino

El P_{mic} representó en promedio, un 1,4 % del P_o y un 0,72 % del P_T . El P_o representa en promedio un 51 % del P_T . La relación C_o a P_o fue en promedio de 0,47 % (Tabla 2.9). Todas las relaciones fueron mayores a 0-5 cm, excepto $C_o:P_o$, con la mayor relación a 10-20 cm de profundidad.

Algunas relaciones destacables entre los parámetros evaluados son ($P < 0,001$): P microbiano y P Olsen ($r = 0,77$), C_o ($r = 0,77$) y pH ($r = 0,65$). El P disponible estuvo correlacionado con el pH ($r = 0,75$), P_T ($r = 0,67$) y C_o ($r = 0,68$). El C_o estuvo correlacionado con la P -asa ($r = 0,63$). El P_o estuvo correlacionado con pH ($r = 0,62$), P Olsen ($r = 0,70$) y P microbiano ($r = 0,60$; $n = 48$).

Tabla 2.9.

Relaciones entre las propiedades químicas de un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos en el año 2005.

profundidad	labranza	rotación	P_{mic}/P_T (%)	P_{mic}/P_o (%)	P_o/P_T (%)	$C_o:P_o$ (%)
0- 5 cm	LC	ATAT	0,80 b	1,7 ab	46 b	0,53 a
		LTLT	0,83 ab	1,3 b	61 a	0,46 ab
	CL	ATAT	0,95 b	1,6 ab	60 a	0,39 b
		LTLT	1,05 a	2,4 a	44 b	0,55 a
0- 10 cm	LC	ATAT	0,70 b	1,3 ab	55 a	0,40 a
		LTLT	0,68 b	1,1 b	61 a	0,36 b
	CL	ATAT	0,92 a	1,5 a	60 a	0,41 a
		LTLT	0,89 a	1,6 a	57 a	0,41 a
10- 20 cm	LC	ATAT	0,45 b	1,2 a	39 b	0,58 a
		LTLT	0,34 c	0,9 b	39 b	0,60 a
	CL	ATAT	0,47 ab	0,9 b	50 a	0,43 c
		LTLT	0,51 a	1,2 a	44 ab	0,51 b

Para el mismo año y fracción, los valores de las columnas seguidas por letras distintas son significativamente diferentes por la prueba de Duncan ($P \leq 0,05$). LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A: avena; L: lupino.

2.4.7 Redistribución del P durante 2002-2005

La aplicación de un total de 520 kg P ha⁻¹ de fertilizante a lo largo de los cuatro años de cultivo resultó en un incremento promedio de las fracciones de P en 410 mg P kg⁻¹, siendo más grande bajo LC que con CL (Tabla 2.10). El incremento más alto se registró entre el tercer y el último muestreo, con una media de 186 mg P kg⁻¹, entre los años 2004-2005. El P

aplicado fue encontrado preferentemente bajo fracciones no extraídas (72,2%) sobre las fracciones lábiles (4,4%) y moderadamente lábiles (23,4%) (Tabla 2.11); específicamente en las fracciones orgánicas, especialmente P_o-NaOH y P-resina. El incremento del P no extraído fue mayor bajo LC (399 mg P kg⁻¹) que bajo CL (195 mg P kg⁻¹), especialmente por la menor acumulación con el cultivo de avena o lupino el la temporada 2003-2004. Los tratamientos con CL mostraron más altos incrementos de P-resina y P_o-NaOH que LC.

Tabla 2.10

Incremento de P total (mg kg⁻¹) durante cuatro años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos

labranza		rotación	2002- 2003	2003- 2004	2004- 2005	Δ P total
0- 10 cm	LC	ATAT	88	126	201	415
		LTLT	103	150	204	457
	CL	ATAT	174	88	131	393
		LTLT	146	32	198	376

LC: labranza convencional; CL: cero labranza ; A:, avena; L: lupino; Δ P: incremento de P

Tabla 2.11

Redistribución de las fracciones de P (mg kg⁻¹ y % con respecto a la redistribución del P_T entre paréntesis) durante cuatro años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos

labranza		rotación	P- resina	P _i - NaHCO ₃	P _o - NaHCO ₃	P _i - NaOH	P _o - NaOH	P lábil	P _{ml}	P no extraído
0-10 cm	LC	ATAT	21 (5,0)	-5 (-1,3)	-13 (-3,0)	-263 (-63,4)	236 (56,8)	3 (0,8)	-27 (-6,6)	179 (105,9)
		LTLT	31 (6,7)	-34 (-7,4)	20 (4,3)	-202 (-44,3)	284 (62,1)	17 (3,6)	82 (17,8)	173 (78,6)
		CL	67 (17,0)	-40 (-10,2)	7 (1,8)	-239 (-35,3)	336 (85,4)	34 (8,6)	97 (50,1)	57 (41,2)
	CL	LTLT	49 (13,0)	-35 (-9,3)	2 (0,7)	-168 (-44,6)	299 (79,6)	16 (4,4)	131 (35,0)	77 (60,6)

LC: labranza convencional; CL: cero labranza ; A: avena; L: lupino.

P_{ml}: P moderadamente lábil

Se observó un patrón de redistribución de P distinto después del cultivo de avena y lupino que con trigo (Fig. 2.7). El cultivo con trigo generó un mayor incremento de P_T y no extraído, mientras que el cultivo con avena y lupino produjo una disminución del P no extraído y un incremento del P moderadamente lábil, especialmente con lupino. El trigo mostró un mayor incremento de fracciones lábiles (Fig. 2.7). La rotación avena- trigo mostró los mayores cambios en relación al P lábil, incrementándose esta forma de P con el cultivo de

trigo y disminuyendo con el cultivo de avena. El cultivo de trigo después de avena mostró la mayor movilización desde las fracciones de P_i a P_o -NaOH (Fig. 2.7), resultando en la menor relación del P_i/P_o moderadamente lábil.

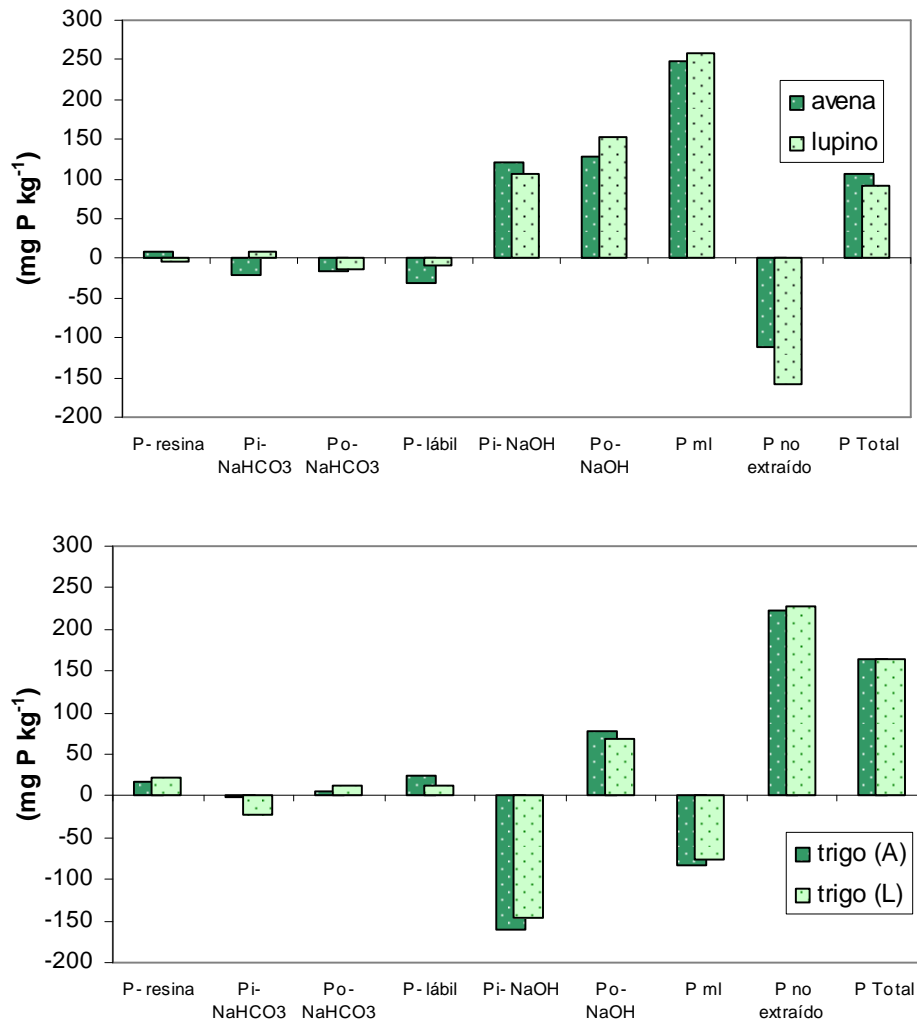


Fig. 2.7. Redistribución media anual de las fracciones de P agrupadas según cultivos durante cuatro años en un Ultisol bajo labranza y rotación de cultivos. P ml: P moderadamente lábil; trigo (A): trigo después de avena; trigo (L): trigo después de lupino.

2.4 Discusión

En este experimento, se encontraron los mayores contenidos de C_o , P_T , P lábil y P disponible con el sistema de CL en los suelos superficiales (Tabla 2.2). Esto es consecuencia que en sistemas de labranza conservacionista, particularmente CL, debido a la disturbancia

mínima del suelo y al manejo de los residuos de cosecha cerca de la superficie del suelo. Otros autores también informaron haber encontrado una mayor acumulación de P_T superficial en Ultisoles tropicales y templados (Rheinheimer y Anghinoni, 2003; Duiker y Beegle, 2006). La CL puede aumentar los niveles de P lábil en el suelo a través de la incorporación de residuos de plantas, lo que conlleva una disminución de la adsorción de P del suelo y a un incremento de la disponibilidad de P en la superficie de suelos no labrados (Borie et al., 2002). Además, la cubierta orgánica dejada por los residuos con CL puede actuar disminuyendo la pérdida de humedad del suelo, otorgando mejores condiciones para la proliferación de raíces cerca de la superficie del suelo y una liberación más gradual del P, de acuerdo a los requerimientos de la planta (Ball-Coelho et al., 1993). Por otra parte, Borie et al. (2006) reportaron una mayor acumulación de P_T , especialmente P asociado con ácido fúlvico en suelos no labrados con trigo, en un Ultisol chileno.

En nuestro estudio, se encontró una reducción de la relación P_i/P_o en profundidad (Tabla 2.5). La CL puede incrementar los contenidos de P lábil a través de la incorporación de residuos al suelo. Los productos de la descomposición de tales residuos posiblemente tuvieron un efecto en la reducción de la adsorción de P del suelo (Reddy et al., 2001). En este experimento, también se encontró una acumulación de P_o en el tiempo. Los niveles incrementados de P_o pueden deberse a la aplicación de Ca de mantención y la fertilización, tal como fue reportado por Tiessen et al. (1992) y Otabbong et al. (1997), o a la incorporación de sustrato a la biomasa microbiana y/o radical (Beck y Sanchez, 1994).

En general, la adición de P por los fertilizantes y residuos de cultivos son siempre superiores que las salidas de P en forma de producto y consecuentemente, la acumulación de P en el suelo se incrementará gradualmente con el tiempo (Guo et al., 2000; Nziguheba et al., 2002; Motavalli y Milles, 2002; Aulakh et al., 2003). Asimismo, Borie et al. (2000) encontraron una acumulación de P_T y disponible con los años bajo CL en un Alfisol, producto de la fertilización fosfatada con una acumulación de formas lábiles de P de bajo peso molecular asociadas con ácidos fúlvicos. La fuente receptora con que el exceso de P está asociado depende del tipo de suelo, sistema de cultivo y condiciones climáticas (Kuo et al., 2005). Los resultados aquí mostrados señalan una acumulación de P_o que está mayormente

asociada al incremento de la fracción moderadamente lábil (Fig. 2.5) en los años de fertilización de P moderada (2002 y 2004, con avena) y una acumulación de P no extractable y a la vez un aumento del P lábil y soluble (resina) en los años de mayor fertilización fosfatada (2003 y 2005, con trigo). De acuerdo a Friesen et al. (1997), quienes trabajaron con un Oxisol, el P mantenido en los pooles orgánicos del suelo está mejor protegido contra pérdidas que los pooles inorgánicos. Así, el cultivo de trigo dejó en el suelo mayor cantidad de P no lábil en este experimento.

La actividad fosfatasa, al igual que otros mecanismos de solubilización, incrementan la absorción de P por la planta y la mineralización de P desde los residuos. En este experimento, se encontró que la actividad P-asa fue mayor en suelos no labrados después del cultivo de lupino (Tabla 2.2). El rango de la actividad P-asa fue mayor a los valores reportados por Chen (2003) en Ultisoles y Liu et al. (2004), pero dentro de los rangos dados por Alvear et al. (2005), en Ultisoles bajo CL. La actividad P-asa esta correlacionada negativamente con P_i -NaOH, y positivamente con P resina y P_o NaOH, sugiriendo que esta enzima esta relacionada con la cantidad de P_o NaOH y no está siendo inhibida por altos niveles de P soluble, al contrario de lo que encontraron Rubio et al. (2002) en Andisoles cultivados.

En este estudio se observan niveles de P lábil (P -resina + NaHCO_3) entre 67 y 217 mg kg^{-1} , de P moderadamente lábil entre 703 y 950 mg kg^{-1} , y P_T entre 1643 y 2053 mg kg^{-1} (Fig. 2.7 y Tabla 2.5). Estos resultados son mas altos que los descritos por Cross y Schlesinger (1995) para una amplia gama de suelos y por Castillo y Joergensen (2001) en Andisoles; similares a los reportados por Linqvist et al. (1997) en Ultisoles, pero por debajo de los rangos descritos por Hirata et al. (1999), Binkley et al. (2000) y Escudey et al. (2001) en Andisoles. Los resultados muestran que estos suelos presentaron altos contenidos de P_T , moderadamente lábil y lábil en relación a otros Ultisoles. El P estuvo mayormente distribuido como P_o moderadamente lábil, atribuido a la formación de complejos de P- humus, como ha sido sugerido por Borie y Zunino, (1983).

La rotación AT bajo CL mostró los mayores contenidos de P extractable por resina y P moderadamente lábil en los 0-10 cm. Debido a la baja movilidad del P en el suelo, altos

niveles de P disponible pueden beneficiar a cultivos de enraizamiento superficial como trigo o avena en CL (Phiri et al., 2001) con respecto a lupino, que es un cultivo de enraizamiento mas profundo. Esto se confirma al observar que las diferencias en la concentración de P disponible entre avena y lupino desaparecen con CL en los 10-20 cm del perfil. (Tabla 2.5).

El cultivo con lupino disminuyó mas el P no lábil transformándolo a P_o moderadamente lábil, sugiriendo que el lupino es capaz de captar P desde esta fracción estable (Fig. 2.7). Esta capacidad puede estar relacionada con una mayor secreción de ácidos orgánicos en condiciones de deficiencia de suministro de P como ya ha sido descrita por Horst et al., (2001). Por otra parte, trigo después de lupino, mostró la mas alta transformación a fracciones no lábiles. Esto puede deberse a que lupino, un cultivo no micorrízico, minimizó la actividad de la micorriza en el cultivo de trigo siguiente, reduciendo la absorción de P. Además, el P_i liberado durante la descomposición del residuo de lupino pudo haber sido rápidamente reabsorbido por la matriz del suelo (Cavigelli y Thien, 2003), y por tanto no proveyó de formas lábiles de P al cultivo de trigo siguiente, al contrario del reporte de Borie et al. (2002) y Aulakh et al. (2003). Sin embargo, en el año 2005, la rotación LTLT incrementó las formas lábiles de P, acentuándose esta tendencia bajo CL (Fig. 2.5). Esto puede deberse a que con LC se incrementan los factores de disturbancia del suelo favoreciendo la absorción de P.

La labranza y la rotación de cultivo ejercieron el mismo nivel de efectos sobre las fracciones de P (Tabla 2.3). El efecto de la labranza fue más importante con respecto a las fracciones de P en general y P_T , al contrario a la rotación de cultivos, que afectó mas a las propiedades del suelo y al P_o . En este experimento, se encontró una acumulación de P_i y P_T en el horizonte superficial con CL, mientras que la rotación AT acumuló más P_o moderadamente lábil y lupino incrementó la actividad P-asa. Sin embargo, en el último año, las fracciones de P fueron más afectadas por la rotación que por la labranza, excepto P_T , P_i residual, P_i - H_2SO_4 y P_{mic} (Tabla 2.7). La secuencia de cultivos pueden impactar más profundamente al perfil de suelos que la disturbancia causada por la labranza (Zheng et al., 2004), resultando en una mayor influencia en las condiciones del suelo como pH y en las actividades biológicas como P-asa y en la labilidad de P como lo revela la Tabla 2.7, a pesar de que en los primeros 5 cm la

CL influyó en mayor forma en mejorar la calidad del suelo. Un análisis diferencial por profundidades (no mostrado) indica que en los 0-5 cm de profundidad, la labranza ejerció un mayor efecto que la rotación, en los parámetros del suelo y fracciones de P.

En este experimento se encontró una acumulación de P_{mic} en el horizonte superficial de los agroecosistemas estudiados (Tabla 2.8). Tales resultados están de acuerdo a lo encontrado por Balota et al. (2003) y Castillo y Joergensen (2001) en Oxisoles y Andisoles cultivados, respectivamente, pero opuestos a los reportados por Carneiro et al. (2004) quienes encontraron una mayor cantidad de P_{mic} en los 5-20 cm en Oxisoles cultivados. Una mayor cantidad de P_{mic} puede ser atribuida al ambiente de mayor aireación del horizonte superficial debido a que los microorganismos aerobios poseen mas substrato disponible y que puede ser transferido a su biomasa (Brake et al., 1999). El P_{mic} se encontró en un rango de 6,5 a 22,6 mg kg⁻¹ que es mas alto a lo encontrado por Joergensen y Castillo (2001) y Castillo y Joergensen (2001) en Andisoles arables de Nicaragua, pero dentro del rango de P_{mic} encontrado por Borie et al. (1990), para el único estudio en suelos agrícolas chilenos.

La CL dejó los mayores contenidos de P_{mic} en los 0- 5 cm, pero el efecto de la rotación o manejo del cultivo no es claro en los horizontes inferiores del suelo. En la literatura se ha reportado efectos positivos en Andisoles (Castillo y Joergensen 2001; Balota et al., 2003), efectos neutros en Alfisoles (Belay et al., 2002) o negativos en Oxisoles (Carneiro et al., 2004) en relación al P_{mic} bajo CL, con respecto a LC. Los incrementos de P_{mic} bajo CL pueden atribuirse a variados factores, tales como temperatura mas baja, mayor contenido de humedad, mejor agregación del suelo, mayor contenido de C y menor disturbancia que permiten la formación y estabilización de los agregados para mejorar y proteger el hábitat para la microbiota (Balota et al., 2003). Asimismo, la quema de residuos de cultivo con LC incide en la carencia de materia orgánica disponible para los microorganismos (Castillo y Joergensen, 2001), y la incorporación de residuos puede llevar a un incremento en el P_o y P_{mic} (Nziguheba et al., 1998, Pheav et al., 2005).

En la literatura se ha encontrado que la rotación que incluye leguminosas aumenta el P_{mic} (Oberson et al., 2001), lo que puede ser atribuido a ácidos orgánicos excretados por las

raíces de dichas plantas, pero dicho efecto no está claro en nuestro experimento. Los niveles de P_{mic} bajo CL en la superficie (0-10 cm) fueron superiores al nivel crítico de P de 19 mg kg^{-1} , definido como la cantidad de P que se requiere para asegurar un 80% de la síntesis potencial de C microbiano encontrado por Lukito et al. (1998) en Andisoles. La relación P_{mic}/P_T encontrada en este experimento (Tabla 2.9) fue menor a la encontrada por Balota et al. (2003) en Oxisoles y dentro del rango de Li et al. (2006) en Entisoles y por Chen et al. (2004) en Andisoles. La relación P_{mic}/P_o encontrada fue menor a la reportada por Brookes et al. (1984) en suelos arables de Inglaterra.

Aunque la absorción con resinas de intercambio no ha sido usada en forma extensiva para determinar el P microbiano de los suelos, la fumigación y extracción líquida simultánea que se usó en este estudio, posee la ventaja de que la absorción iónica de la resina absorbe en forma continua el P hacia sus superficies durante la extracción, manteniendo en la solución bajas concentraciones de P (Myers et al. 1999). De esta manera, el equilibrio entre el P contenido en la solución y la resina favorece la secreción del P de las células microbianas a la solución del suelo y del cual será transferido a la resina. Este mecanismo contrasta con lo que ocurre con las extracciones químicas en que se incrementa continuamente el P en la solución a medida que es extraído del suelo, por lo que el equilibrio entre el P contenido en la solución y la resina se moverá en la dirección en la que inhibe la secreción de las células microbianas (Myers et al. 1999).

El P no extraído se encontró principalmente en la forma orgánica en el horizonte 0-10 cm, mientras que a los 10-20 cm se encontró en forma inorgánica en (Fig. 2.6). El P residual es una forma estable de P, muy recalcitrante y unido a sesquióxidos (Cross y Schlesinger, 1995), y por lo tanto más ligado con las propiedades parentales del suelo. Las diferencias reflejan que las interacciones orgánicas son más altas en los 0-10 cm, debido a la formación de complejos de humus-P altamente recalcitrantes provenientes del reciclaje de los residuos de las plantas y de la fertilización (Borie y Zunino, 1983). Sin embargo, en los 0-5 cm los contenidos de P_i son menores, probablemente debido a una mayor mineralización del P orgánico (Fig. 2.6). Asimismo, el P_i no extraído fue menor en los 10-20 cm, mostrando que

preferentemente el P está unido geoquímicamente a complejos de Fe y Al, y que esta estrata está menos intemperizada que el suelo superficial (Cross y Schlesinger, 1995).

La fertilización condujo a un aumento de los niveles de P_T y lábil del Ultisol usado en este estudio. La mayor fertilización fosfatada al cultivo de trigo produjo un esperado incremento de los niveles de P disponible en el suelo, aunque la mayor parte del P adicionado se acumuló como P no extractable. Tanto la rotación de cultivo como los sistemas de labranza afectaron a las fracciones de P en el suelo pero de forma distinta; mientras que las propiedades del suelo fueron más afectadas por la rotación de cultivos, la CL dejó una estratificación de nutrientes que favoreció a los cultivos de enraizamiento más superficial (trigo y avena). Asimismo, la CL incrementó el contenido de P microbiano del suelo.

Una mayor actividad fosfatasa promovida por lupino solo tuvo un efecto ligero en la acumulación de P_o lábil en el cultivo siguiente de trigo, especialmente en el último año y en la disminución en el P no extractable, no obstante la rotación con avena acumuló mas P_o moderadamente lábil, evitando que se acumule en fracciones no disponibles para las plantas. Los datos obtenidos en este experimento sugieren que la inclusión de avena y lupino en las rotaciones de cultivo bajo cero labranza puede ayudar a prevenir la acumulación de P en el suelo en fracciones de baja disponibilidad para las plantas.

En este estudio se confirmó la hipótesis planteada, demostrando que la cero labranza conlleva a una acumulación de las diferentes formas de P en la capa superficial del suelo producto de la fertilización y estratificación de este nutriente. Sin embargo, este efecto no es tan relevante como el efecto encontrado debido a la rotación de cultivos.

2.5 Conclusiones

De los datos obtenidos en este estudio es posible extraer las siguientes conclusiones generales:

- En el agroecosistema Pumalal se pudo observar que las formas de P son afectadas por los factores que se analizaron, la rotación y la labranza. En este contexto, la inclusión de lupino incrementa la labilidad de las formas de P, especialmente al último año del experimento, mientras que con cero labranza se observó la mayor acumulación superficial de P. Una mayor actividad P-asa en la rotación lupino-trigo en comparación con avena-trigo pudo haber contribuido a los mayores niveles de P lábil encontrados en la primera.
- La fertilización de este suelo durante 4 años produjo un esperado incremento en el P total, especialmente con labranza convencional y en años en que el cultivo utilizado fue trigo. Este P se redistribuyó mayoritariamente como P moderadamente lábil y P en la fracción no extraída.

CAPÍTULO 3

Fracciones de fósforo en un Andisol con ecosistemas forestales del Centro- Sur de Chile

3.1 Introducción

En la Cordillera de los Andes, los ecosistemas con bosque de *Nothofagus* están situadas principalmente en un substrato derivado de material volcánico sobre el cual los suelos se formaron a partir del depósito de cenizas volcánicas sucesivas (Veblen et al., 1996). La vegetación nativa del sur de Chile representa una reserva natural significativa a nivel mundial, aportando la mayor área en Sudamérica y más de la mitad de la superficie total de bosques templados del hemisferio sur. Sin embargo, la mayoría de los ecosistemas forestales han sido alterados de su estado original por intervención antrópica, incluyendo prácticas tales como la tala y quema para la agricultura y ganadería. Estas prácticas han alterado en forma considerable los servicios ecosistémicos produciendo la degradación de los mismos (Lara et al., 2000, Echeverría et al., 2006).

El fósforo (P) es comúnmente un elemento limitante para el crecimiento vegetal en muchos suelos alrededor del mundo y Chile no es la excepción. Los suelos derivados de cenizas volcánicas, principalmente Andisoles y Ultisoles, son comunes y abundantes en el centro- sur del país en donde cubren más que 5×10^{10} m² y con frecuencia utilizadas con cereales como cultivo principal. Estos suelos tienen un alto contenido de P total (P_T), y la fracción orgánica de P (P_o) representa más del 50% del P_T , principalmente bajo formas de penta y hexafosfatos de inositol (Borie y Rubio, 2003). Debido a que P inorgánico (P_i) como ión fosfato es la fuente más utilizada para la absorción de la planta, el conocimiento de las diversas fracciones de P dentro de los suelos es fundamental para entender la biodisponibilidad del P y la sustentabilidad de la práctica agrícola (McDowell y Stewart, 2006).

La biomasa microbiana representa un pool dinámico de nutrientes que responde rápidamente a cambios en el medio ambiente. Los microorganismos juegan un rol fundamental en las transformaciones del P_o en el suelo a través de la liberación de fosfatasas, mineralización de P de fuentes orgánicas, en la síntesis y liberación de P_o , y solubilización de fuentes de P_i escasamente disponibles (Oberson et al., 2001). Particularmente importante es el rol de la fosfatasa, tanto del micelio y de las raíces, que contribuyen a la mineralización de los reservorios del P_o en el suelo y la hojarasca, contribuyendo a la movilización de P y su transferencia a la planta (Álvarez et al., 2006).

La calidad y la cantidad de hojarasca acumulada en el suelo forestal y tasa de descomposición de la materia orgánica son factores fundamentales en el funcionamiento global de cualquier ecosistema forestal. En general, la hojarasca de los bosques de *Nothofagus* del sur de Chile retornan menos nutrientes que los bosques deciduos templados europeos (Leiva y Godoy, 2001), probablemente como una estrategia prevaleciente en suelos de bajo contenido de P (Paoli et al., 2005). Bosques de la misma área edafoclimática, pero de diferente composición y estructura como consecuencia de la perturbación antropogénica, también diferirán en las cantidades de materia orgánica (hojarasca) acumuladas en el suelo. Los mecanismos potenciales con los que el P está asociado a los pools de materia orgánica necesitan ser investigados.

Los procedimientos de extracción secuencial de P han sido y están siendo usados para estudiar el P del suelo en formas de P_i y P_o y su diferente grado de labilidad (Cross y Schlesinger, 1995) y consecuentemente, sus diferentes grados de disponibilidad de P. Existen escasos antecedentes de estudios sistemáticos de fraccionamientos secuenciales de P en suelos volcánicos boscosos del sur de Chile con la excepción del reporte de Thomas et al. (1999) y Pinochet et al. (2001). Mientras que los primeros no encontraron diferencias significativas para el P lábil entre distintos tipos de bosque y una pradera, Pinochet et al. (2001) reportaron que la mayor parte del P se encuentra en forma orgánica. El estudio de las diferentes formas de P en bosques prístinos, comparados con bosques de *Nothofagus* deciduos secundarios y una pradera, podría ser una herramienta importante para comprender, en mejor forma, el ciclo del P en los bosques nativos del sur de Chile.

3.1.1 Hipótesis de trabajo

El horizonte orgánico de los bosques tendrá un mayor contenido de las fracciones lábiles de P que el suelo. Las formas de P en los ecosistemas forestales, especialmente en el bosque siempreverde, serán mayoritariamente de naturaleza orgánica, asociado a materia orgánica altamente humificada y la enzima fosfatasa asociada a su hidrólisis se encontrará en mayor cantidad en el bosque que en la pradera

3.1.2 Objetivo general

El objetivo general consiste en evaluar cambios en labilidad del P en un Andisol a través de la determinación de las distintas fracciones de P bajo cuatro ecosistemas boscosos templados siempreverde y caducifolios secundarios de diferente manejo silvícola comparado con una pradera natural adyacente

3.1.3 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de distintos tipos de bosque y una pradera adyacente sobre la acidez, contenido de P Olsen y P total y actividad fosfatasa del suelo.
2. Evaluar el efecto de distintos tipos de bosque y una pradera adyacente sobre la biodisponibilidad de las fracciones de P a través de una metodología basada en el fraccionamiento químico de Hedley.
3. Evaluar el efecto de distintos tipos de bosque y una pradera adyacente sobre el P microbiano del suelo.
4. Evaluar los efectos del horizonte orgánico del suelo del bosque en las propiedades del suelo, labilidad de fracciones de P y contenido de P microbiano.

3.2 Antecedentes Bibliográficos

3.2.1 Bosques templados del sur de Chile

Los bosques templados han estado cubriendo la mayor parte del centro- sur de Chile por los últimos 3000 años, permaneciendo casi intacto hasta la llegada de los europeos, hace 450 años. Desde entonces se han producido cambios significativos en el uso de los suelos en la región. Hoy en día, sólo un 56 % (o 10,3 millones ha) de este bosque original permanece en pie. Las especies más afectadas son incluidas en los tipos forestales de *Nothofagus*, permaneciendo en pie un 30% de la vegetación nativa. Por otra parte, las praderas y matorrales han duplicado su área de 2.5×10^6 a 5.5×10^6 ha. Nuevos usos de suelo, tales como áreas urbanas (55.000 ha), suelos arables (2.8×10^6) y plantaciones forestales (2.1×10^6 ha), también ocupan hoy en día un área importante, como producto del cambio de uso del suelo (Huygens et al., 2005).

A nivel mundial cada vez existe mayor preocupación por el tema ambiental y la utilización sostenible de los recursos naturales. Chile no está ajeno a este comportamiento y uno de los recursos renovables que concita el mayor interés es el bosque nativo, con sus múltiples bienes y servicios asociados (Oltremari y Thielen, 1999). El bosque cumple un importante rol en la mantención de los recursos hídricos y edáficos, en la estabilidad atmosférica, así como también en la protección de la biodiversidad, de los valores estéticos y recreacionales, lo que conlleva a considerar seriamente su gestión ambiental (Arroyo et al., 1999, Peña et al., 1999).

Las asociaciones predominantes en los bosques templados del sur de Chile son roble-raulí- coigüe, coigüe- raulí- tepa, entre otras (Donoso, 1981), describiéndose 15 asociaciones de bosque nativo para la X Región (Godoy et al., 1981). Los bosques valdivianos se encuentran sometidos a una fuerte variación medioambiental extendiéndose por un rango longitudinal de 9° y precipitaciones que alcanzan los 7000 mm con diferentes materiales de origen como suelos metamórficos, volcánicos y ñadis, hasta suelos con altos contenidos de materia orgánica (Donoso y Ramírez, 2000; Oyarzún et al., 2004).

Un área representativa de estos bosques se encuentra el predio San Pablo de Tregua, perteneciente a la Universidad Austral de Chile, y donde se realizó este estudio. Este predio posee una superficie de 2184 ha, dominado principalmente por coigüe (*Nothofagus dombeyi*)-raulí (*N. alpina*)- tepa (*L. philippiana*) distribuido entre bosque alterado y no alterado, con renovales de roble (*N. obliqua*)- raulí (*N. alpina*)- coigüe (*N. dombeyi*) que representan el 10 % de la superficie total.

3.2.2 Ciclo y formas de P en bosques

La disponibilidad del P en el suelo es regulada por procesos geoquímicos y bioquímicos. En la mayoría de los ecosistemas naturales, los procesos geoquímicos determinan la distribución de P en el suelo a largo plazo, mientras que en el corto plazo, los procesos bioquímicos determinan la distribución del P debido a que la mayor parte del P se deriva de la materia orgánica (Solomon y Lehmann, 2000). Los procesos geoquímicos, determinan la disolución del P elemento asociado a los minerales primarios fosfatados, encontrándose el P en más de 170 minerales (Chen et al., 2003b), entre los que se destacan las hidroxiapatitas y variscitas (Tan, 1998). Estas transformaciones disminuyen las fracciones de P asociadas al material parental en suelos más intemperizados, llegando a establecerse con el tiempo un equilibrio o estado estabilizado (Johnson et al., 2003). En ecosistemas deficientes de P el ciclado de P debe realizarse en forma más eficiente a través de una disminución de su contenido en la hojarasca y el suelo y aumentando su período de reciclaje (Wardle et al., 2004; Vitousek, 2006).

Los procesos bioquímicos determinan la distribución del P en el suelo, el que se recicla a través de los microorganismos formándose el P orgánico (P_o) (Johnson et al., 2003); o bien el P inorgánico (P_i) tiende a formar compuestos químicos altamente insolubles o a ser fuertemente adsorbido por las arcillas. Como estas fuentes de P en su mayoría son insolubles, la planta debe recurrir a diversas estrategias para solubilizar dichas fuentes, entre las cuales se pueden mencionar la asociación con hongos formadores de micorriza y microorganismos de vida libre tanto bacterias como hongos solubilizadores de P (Neumann et al., 2000; Whitelaw,

2000), así como también la exudación de sustancias ácidas y/o con capacidad de quelación (Raghothama, 1999; Horst et al., 2001).

Los suelos forestales del sur de Chile y en general los bosques templados poseen un reciclaje lento de P, estimándose un tiempo de residencia medio de 22 años para especies con hojas aciculadas siempre verdes y de 11 años para especies con hojas deciduas, lo que genera una acumulación de materia orgánica (Barnes et al., 1998). La nutrición de los árboles se realiza principalmente como P_o , especialmente en condiciones de deficiencia de P_i en el suelo (Firsching y Claassen, 1996; Cade-Menun et al., 2000), representando el P_o entre el 15-80% de P en el suelo (Chen et al., 2003a). Los árboles pueden utilizar P a corto plazo desde pools de P inorgánico y reciclarlo a través de la hojarasca (Donoso et al., 1993). La tasa de descomposición del P_o depende de la solubilidad de P en el residuo y de la tasa de crecimiento de los microorganismos que realizan la mineralización. Esta última a su vez depende de la accesibilidad de los microorganismos al sustrato, de su naturaleza química (contenido de celulosa, hemicelulosa, lignina) (Barnes et al., 1998), contenido de nutrientes (tasa de lignificación, relación C: N: P) de la hojarasca y del agua del medio (pH, pO_2 , y concentración de N, P, S) (Frossard et al., 1996).

En los ecosistemas forestales, el ciclo y las formas de P están determinadas por factores tales como la topografía, clima, material parental del suelo, biomasa y tiempo (Solomon et al., 2002). El P se acumula en la superficie del suelo debido a que en los primeros cm de suelo existe una mayor incorporación de hojas y de raíces, acentuándose por el limitado movimiento de P y la baja o moderada capacidad de mezclado de la fauna del suelo (Suárez et al., 2003; McGonigle et al., 2005). Por otra parte, las especies arbóreas pueden incrementar la disponibilidad de P en la superficie al acarrear nutrientes desde los horizontes más profundos (Cardoso et al., 2002). La pendiente afecta la distribución de P a través del arrastre de material particulado vía escurrimiento superficial o subsuperficial hacia las zonas de pie de monte (Araújo et al., 2004). Las distribuciones de P en el suelo variarán por la presencia de raíces (Scott y Condron, 2003) o la distancia del tronco (Kramer et al., 1999). El clima también afecta la distribución de P; así, López- Gutiérrez et al. (2004) reportaron que en la época lluviosa existe una mayor mineralización de P_o en suelos de sabana, asociada a una mayor

actividad fosfatasa (P-asa) y dependencia de micorrizas arbusculares. Diferentes tipos de bosques presentarán diferentes estacionalidades en la calidad y cantidad de hojarasca y diferirán en su descomposición, lo que afectará la población microbiana. Los bosques deciduos tienen una menor población microbiana por la alta estacionalidad de la caída de hojarasca (Wright y Coleman, 2000).

3.2.3 Mineralización del P orgánico

El P no está ligado directamente al C, sino que está a través de uniones ésteres, por lo que el P puede ser liberado de los compuestos orgánicos, sin romper la unión con el C. El P contenido en el humus no está dentro de la matriz de los compuestos húmicos y los ácidos fúlvicos poseen una mayor cantidad de P, lo que facilita la absorción de las plantas, pero también puede incrementar la pérdida de P por lixiviación (Perry, 1994).

Las fosfatasas catalizan reacciones que liberan P por hidrólisis de ésteres. Las enzimas más estudiadas han sido las fosfomonoesterasas por ser el tipo de fosfatasa predominante en el suelo (Turner et al., 2003a). Estas se clasifican de acuerdo con el pH óptimo de actividad, en fosfatasas ácidas y alcalinas. En los suelos, compuestos como inositol fosfatos, polifosfatos, mononucleótidos y azúcares fosforilados son sustratos naturales de estas enzimas. La actividad de ambas fosfatasas está influenciada por las propiedades del suelo, interacciones de microorganismos, cubierta vegetal, lixiviados y presencia de inhibidores o activadores (Chen et al., 2004; Chacón et al., 2005). Factores de manejo forestal, tales como fertilización (Schneider et al., 2001) y quema (Saá et al., 1998), pueden afectar su actividad en el suelo.

3.2.4 Efectos del cambio de uso del suelo en el ciclo del P

La conversión del bosque a otros usos disminuye la biomasa aérea y radical del sitio, disminuyendo el sombreado e incrementando los extremos de temperatura y niveles de humedad. Debido a la radiación directa, la capa superficial del suelo forestal puede secarse a contenidos de humedad muy inferiores a la de los suelos boscosos. Consecuencia de esto es que se produce un incremento de las tasas de descomposición y mineralización de nutrientes

en los sitios deforestados, además de un aumento de la erosión y compactación (Cade Menun et al., 2000), llegando a desaparecer eventualmente la capa superficial de suelo (horizonte orgánico) si no hay regeneración del bosque. Adicionalmente, la absorción de las plantas y la transpiración del agua del suelo y la adquisición de nutrientes decrece en menos de 2 a 3 años, aunque el bosque se renueve rápidamente. Con una evapotranspiración reducida, se incrementa el flujo de agua a través del suelo, y las pérdidas de nutrientes a través de la lixiviación a las napas subterráneas y corrientes de agua vía escurrimiento (Vitousek, 1983).

Los efectos de la deforestación sobre el ciclo del P son variados. Por una parte, se produce una alteración en el equilibrio de las entradas y salidas del P del ecosistema. La tala y quema de material boscoso conlleva a la exportación de minerales (Barnes et al., 1998), entre ellos el P (García-Montiel et al., 2000) en el producto forestal cosechado y el aumento del transporte de P a lagos y ríos, con lo que puede incrementar la eutroficación (Vitousek, 1983; Wallbrink et al., 2003; Cummins y Farrell, 2002), constituyendo una amenaza a la biodiversidad de los ecosistemas, debido a que la productividad primaria de éstos está limitada por la disponibilidad de P (Wassen et al., 2005).

En numerosos estudios se ha examinado la influencia del cambio de uso del suelo (de bosque a pradera) sobre las propiedades químicas del suelo y la disponibilidad de nutrientes como el P. Se han reportado niveles de P más altos en bosques comparados con praderas adyacentes (Chen et al., 2000). También se ha encontrado que el P total (P_T), la mineralización de P y la proporción de P_o disminuyen con el tiempo con el establecimiento de una pradera a partir de bosque (Guggenberger et al., 1996; Cross y Schlesinger, 2001; Townsend et al., 2002; Asner et al., 2004). Asimismo, se ha encontrado menores proporciones de P lábil en suelos con pradera comparado con bosques nativos adyacentes o forestaciones (Neufeldt et al., 2000). Estos cambios químicos se han atribuido mayormente a una mayor mineralización de la materia orgánica del suelo y de nutrientes asociados bajo el bosque (Chen et al., 2000) y a un reciclaje más efectivo a través de la hojarasca (Neufeldt et al., 2000). Wright y Coleman (1999) no encontraron cambios significativos en las fracciones de P después de una tala de árboles y un huracán. La quema de biomasa arbórea produce una mineralización de P, con un aumento del P disponible e inorgánico extractable con NaHCO_3 a expensas del P orgánico

moderadamente lábil (Giardina et al., 2000), o bien el efecto contrario, con un aumento del P microbiano (Istedt et al., 2003). Se ha reportado que la fertilización del bosque aumenta los contenidos de P-resina (Turrión et al., 2000a; Comerford et al., 2002; Kuckzak et al., 2006).

Con respecto a la distribución de P a través de los distintos horizontes del suelo, Ross et al. (1999) determinaron en un Typic Udivitrand que el horizonte con material fermentado y húmico de la hojarasca de una conífera (*Podocarpus sp.*) de hoja caduca nativa posee una mayor cantidad de P total, que el horizonte consistente en hojas. Los contenidos de P fueron a la vez mayores que el contenido de la fracción mineral del suelo, en la que el horizonte más superficial presentó mayor cantidad de P_T que el horizonte más profundo. Cardoso et al. (2002), quienes trabajaron en Oxisoles en Brasil, encontraron que en un sistema de agroforestería de café con especies arbóreas se incrementa en general, el contenido de las fracciones lábiles de P_o en profundidad, con respecto a un sistema tradicional contenido de P.

Con respecto a los distintos tipos de bosque, Ross et al. (1999) determinaron que la vegetación nativa posee una menor cantidad de P_T , P_i extractable y P_o que el suelo bajo un bosque de pino y una pradera artificial adyacente y otros autores como Spears et al. (2001) y Binkley et al. (2000) encontraron diferencias entre las fracciones de P en distintas especies arbóreas, especialmente en la superficie del suelo.

3.2.5 P en la biomasa microbiana

El tamaño y el reciclaje de la biomasa microbiana influye en la nutrición de las plantas y es un factor importante que determina la disponibilidad y utilización de P_o y P_i en el sistema suelo-planta (Bünemann et al., 2004a). Procesos tales como la inmovilización de P_i por microorganismos y liberación gradual a través del reciclaje pueden proteger al P de reacciones de adsorción físico-químicas si esta liberación está sincronizada con la demanda de plantas en crecimiento y/o en la generación subsiguiente de microorganismos (Oberson et al., 2001). Diferentes tipos de vegetación tendrán distinta calidad y estacionalidad en la producción de hojarasca que afectarán a la descomposición microbiana (Wright y Coleman, 2000). Las especies forestales y pratenses poseen diferentes tipos de raíces y de exudados radicales, que

afectan la población microbiana en el suelo y la transformación del P en el humus y la hojarasca (Chen et al., 2000; Santruckova et al., 2004).

3.2.6 Metodologías de estudio del P en el suelo

La complejidad y heterogeneidad de las formas de P en el suelo hacen muy difícil determinar el P disponible para las plantas, por lo que se hace necesario obtener respuestas experimentales a la aplicación de P bajo condiciones de invernadero o de campo; sin embargo, estos métodos son de alto costo (Chen et al., 2003b). De acuerdo a esto, los métodos químicos de extracción han sido utilizados para determinar la disponibilidad de P. A través de los años se han desarrollado procedimientos de extracción múltiple o secuencial. Su uso está basado en la premisa de que dado que no es posible extraer P disponible para la planta en forma cuantitativa, una aproximación lógica es dividir el P disponible para la planta en varios, razonablemente bien definidos 'pooles' químicos cuya contribución al P en la vegetación, puede ser medida a través de experimentos (Hedley et al., 1982).

El fraccionamiento químico del P inorgánico por extracción secuencial puede ser usado para cuantificar el P_i en formas asociadas al hierro, aluminio y calcio (Chang y Jackson, 1957). Bowman y Cole (1987) usaron una aproximación parecida para fraccionar el P_o en pooles de P lábil (extractable con 0,5 M NaHCO_3), moderadamente lábil (P orgánico extractable con ácido), moderadamente resistente (P fúlvico soluble con ácido y álcalis), y altamente resistente (P húmico soluble en álcalis).

Se han desarrollado dos paradigmas a partir de la extracción secuencial y que son frecuentemente referidas en la literatura. Walker y Syers (1976), estudiando la pedogénesis de suelos de Nueva Zelanda, desarrollaron un modelo describiendo el cambio en 4 fracciones de P (Fig. 3.1). Hedley et al. (1982) y Tiessen et al. (1984) desarrollaron un modelo conceptual asociado al procedimiento de extracción secuencial que separa el P_i del P_o en varios "pooles" lábiles y no lábiles y delinearon las principales vías por las cuales estos "pooles" están relacionados a través de procesos químicos y biológicos de corto y largo plazo. Hoy en día, se utilizan diversos métodos de fraccionamiento de P en el suelo, algunos destinados a

caracterizar suelos determinados como los de Jiang y Gu (1989) y Shen et al. (2004) para suelos alcalinos a fin de caracterizar fracciones de P unidos a Ca de diversa disponibilidad u otros basadas en la extracción con NH_4Cl , $\text{NH}_4\text{-F}$, reactivos que extraen P unido a Ca y Al, respectivamente (Hirata et al., 1999; Gale et al., 2000; Peltovuori et al., 2002).

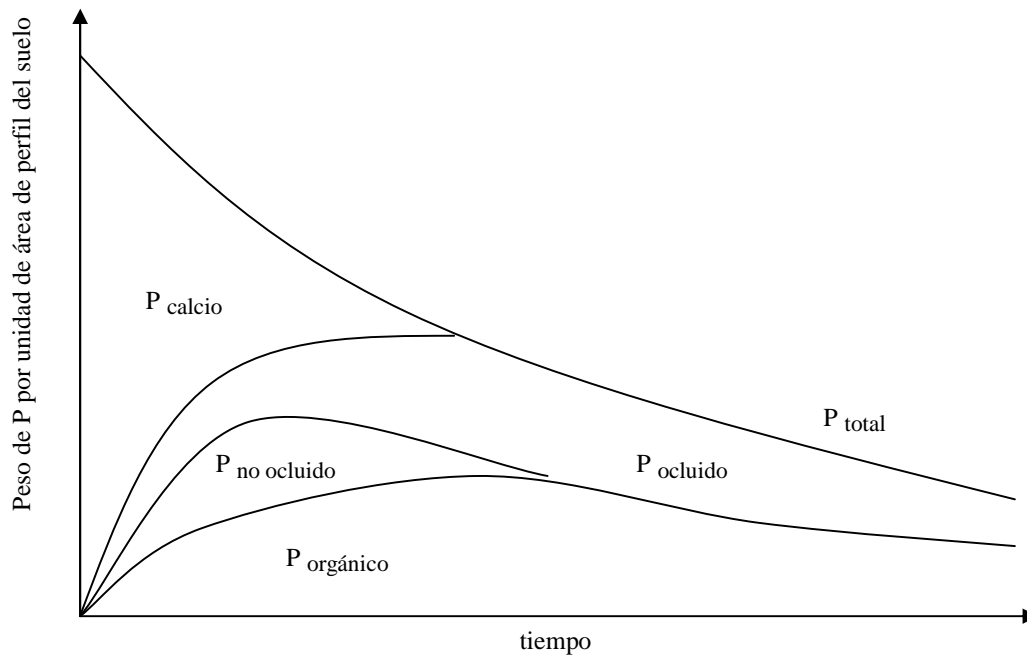


Fig 3.1. Esquema del paradigma desarrollado por Walker y Syers (1976) del cambio en cuatro fracciones de P en suelos de Nueva Zelanda

Sin embargo, es el fraccionamiento de P de Hedley o modificaciones de éste, los que mas se emplean en estudios de fraccionamiento de P. Varias versiones modificadas del esquema original se han usado en la investigación del desarrollo de los suelos y el efecto de los distintos usos del suelo y prácticas agrícolas en la naturaleza y disponibilidad del P (Cassagne et al., 2000; Litaor et al., 2005). No obstante, es hace necesario insistir que la interpretación de estos resultados está limitada a la incerteza asociada con la asociación de la solubilidad química del P del suelo y su biodisponibilidad. (Guo y Yost, 1998; Frossard et al., 2000).

3.2.7 Determinación de P contenido en la biomasa microbiana

La fumigación con cloroformo, seguido de una extracción ha sido usada generalmente para cuantificar la biomasa de C, N y S en un rango de suelos (Jenkinson, 1988). Para determinar la biomasa de P, el extractante NaHCO_3 0,5M pH 8,5 ha sido propuesto para todos los tipos de suelo (Brookes et al., 1982; Hedley y Steward 1982; Srisvastava y Singh, 1988). Sin embargo este extractante da resultados irreales en suelo con alta capacidad de sorción de P (Olsen y Sommers, 1982; Kuo et al., 1988; Shuman et al., 1988) o en suelos ácidos, (Chen y He, 2004); específicamente, Potter et al. (1991), mostraron que el P determinado por este método de Olsen era errático en suelos ácidos. En un estudio mas reciente, Oberson et al. (1997) recomendó el uso del extractante Bray-1 para medir la biomasa microbiana de suelos tropicales con una alta capacidad de sorción. Aun más, los métodos propuestos para cuantificar la biomasa por los distintos autores son diferentes. En el procedimiento usado por Brookes et al. (1982), el suelo es fumigado con cloroformo gaseoso por 24 h y extraído por el método de Olsen en una razón suelo: solución de 12:20 v/w por 30 min. El contenido de P microbiano es calculado como el incremento de P_i en el suelo fumigado usando complementariamente un factor de recuperación del P aplicado al suelo (k_p). El valor de k_p de 0,4 es considerado como representativo de la proporción de biomasa microbiana extraída durante la fumigación. Brookes et al. (1982) sugirió que del P biomásico extraído, un 80 % corresponde a P_i y que debe ser corregido por la sorción del suelo durante la extracción usando los valores de recuperación del P_i adicionado. McLaughlin et al. (1986) propuso el uso de fumigación gaseosa y de un período de extracción mas corta que el propuesto por Brookes et al. (1982).

3.2.8 Investigaciones en P realizados en bosques chilenos

En bosques chilenos, la mayor parte del P está bajo forma orgánica (Pinochet et al. 2001). De Brouwere et al. (2003) encontraron más de un 90% de P orgánico y una concentración de P total entre 187 y 1413 mg P kg^{-1} para bosques de *Nothofagus*. Thomas et al. (1999) no encontraron diferencias significativas en el P lábil entre distintos tipos de bosques y un pantano, señalando que la productividad del bosque no estaba limitada por P,

sino por N (Vann et al., 2002). Borie y Rubio (2003) han reportado en suelos del sur de Chile, contenidos de P total mayores en suelos agrícolas que forestales, pero una mayor disponibilidad de P en estos últimos, es explicada por la alta intemperización de materiales primarios en suelos forestales, incluyendo la acción de hongos, en especial las ectomicorrizas.

3.3 Materiales y Métodos

3.3.1 Descripción del área de estudio

El predio de San Pablo de Tregua, propiedad de la Universidad Austral, está localizado en la comuna de Panguipulli, provincia de Valdivia, en la Cordillera de los Andes, entre los paralelos 39°30' - 39°38' de latitud sur y los meridianos 72°02' - 72°09' de longitud oeste, a altitudes entre los 550 y 1600 m.s.n.m. (Fig. 3.2).

3.3.1.1 Suelos

El predio presenta suelos derivados de materiales volcánicos de diferentes edades (Andisoles) el primer estrato de cenizas finas tiene una profundidad de 0,5-1,2 m y cubre un viejo estrato de material pumicítico con tamaño de partículas de gran diámetro (Huygens et al., 2005; Staelens et al., 2006). Mas del 90% (2000 ha) del predio corresponde a la serie Liquiñe y fue clasificado como un Acrudoxic Hapludands. Son suelos profundos a moderadamente profundos (1,50 a 0,70 m de profundidad efectiva), sueltos, con buenas condiciones de infiltración, buen drenaje y alta capacidad de retención de agua. Son franco limosos a franco arenosos (39,6% arena, 49,3 % limo, 11,1% arcilla en los 0-60 cm de perfil; Godoy, comun. pers.), con alto contenido de materia orgánica (>20%), ácidos a moderadamente ácidos, presentan ciertas limitantes ya que al quedar expuestos sufren un rápido secado superficial, permaneciendo susceptibles a la compactación en temporada húmeda producto de su elevado volumen de poros que supera el 83%, densidad aparente 0,30- 0,32 g /cm³ (Lara et al., 2002). Una caracterización química general está dada en la Tabla 3.1.

Tabla 3.1

Características del Andisol usado en el experimento

profundidad	pH	C _o (%)	N (%)	C/N	H	Ca	Mg	K	Na	CIC ⁽¹⁾ -----($\text{cmol}_c (+) \text{kg}^{-1}$)-----	sat. ba. ⁽²⁾ (%)
0- 20 cm	5,3	17,8	0,66	16	13,3	6,6	3,1	0,6	0,15	44	24
20- 40 cm	5,6	12,9	0,50	15	10,2	2,0	0,9	0,3	0,13	43	8
40- 70 cm	5,7	8,4	0,37	13	8,7	2,5	1,3	0,2	0,18	52	8

⁽¹⁾CIC: capacidad de intercambio catiónico; ⁽²⁾ sat. ba.: saturación de bases; $\text{cmol}_c (+)$: centimoles de carga +.

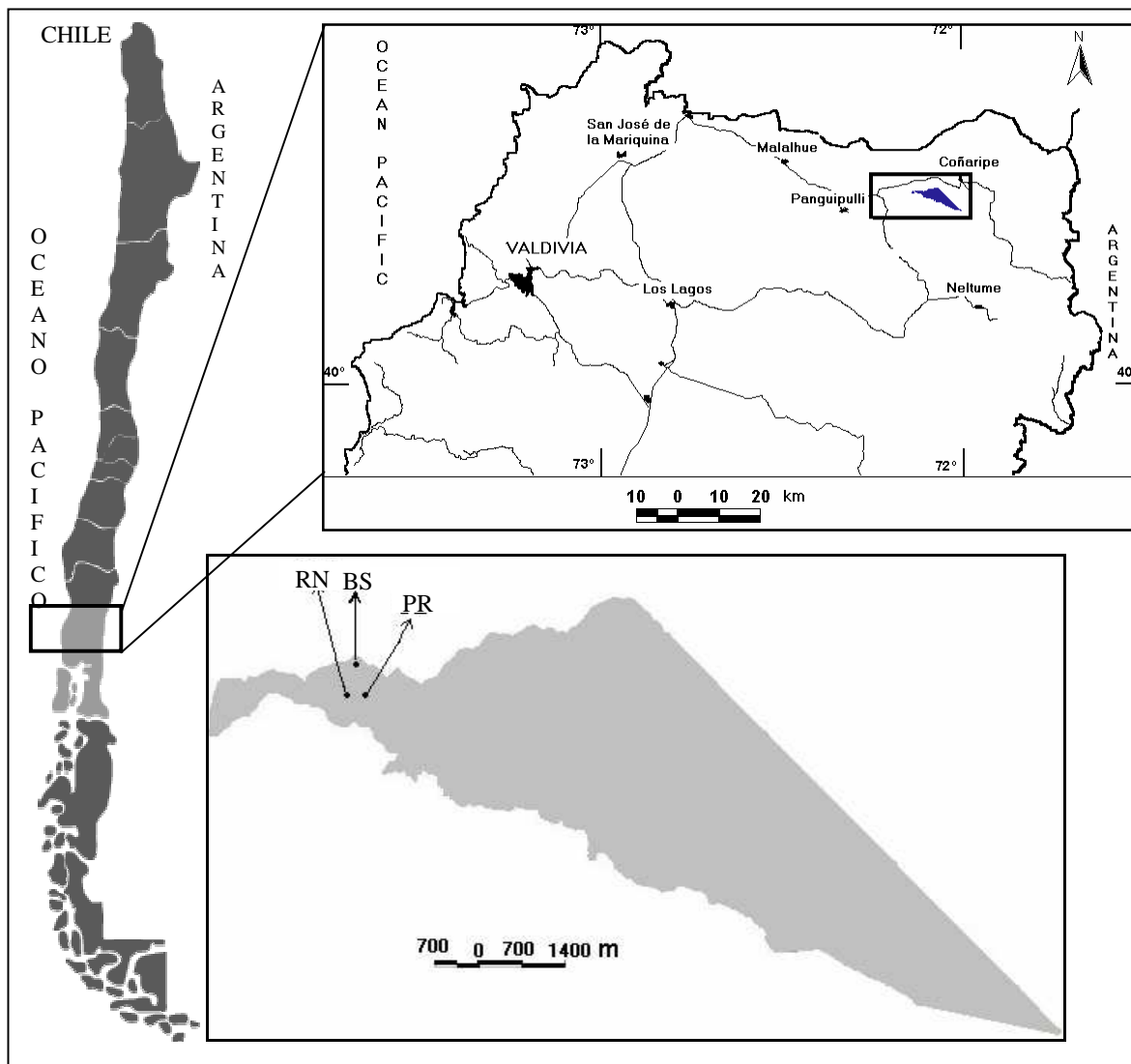


Fig. 3.2. Mapa de la provincia de Valdivia mostrando las localizaciones en San Pablo de Tregua. Los tres sitios de estudio que están aquí indicados son: BS: bosque siempreverde; RN: bosque decido; PR: pradera

3.3.1.2 Topografía

Son terrenos de tipo montañoso y de topografía compleja, aunque existe una pequeña superficie de terrenos planos. Un 50% del predio está constituido por lomajes moderadamente suaves (0- 10°), el otro 50% abarca terrenos con mas de 10° de pendiente a terrenos netamente de protección (25°) (Lara et al., 2002).

3.3.1.3 Clima

El clima se caracteriza por una alta precipitación anual, con veranos muy cortos y secos e inviernos húmedos. La temperatura media anual es de 11°C, la temperatura mínima del mes más helado (agosto) es de 5°C y la máxima promedio del mes mas cálido (febrero) es 20°C. El número de heladas durante el año varía entre 30 y 50. La pluviosidad es alta, anualmente precipitan 4000 a 5000 mm.. En invierno se produce comúnmente precipitación nival sobre los 1000 m.s.n.m. Los vientos predominantes varían de acuerdo a la estación del año. En invierno se presentan mayormente vientos del norte, mientras que en época estival son vientos del sur y sudoeste (Lara et al., 2002).

3.3.1.4 Formaciones vegetacionales

La superficie total corresponde a 2184 ha, donde el bosque adulto es el mas extenso con 1936 ha (89%), seguido de renoval con 154 ha (7%), matorral- pradera con 50 ha (2%) y plantación de nativas y exóticas con 24 ha (1%) y 21 ha (1%), respectivamente. El predio se encuentra dominado principalmente por *N. dombeyi*- *N. alpina*- *L. philippiana* (83%) distribuido entre bosque alterado y no alterado mientras que, los renoval del tipo forestal *N. obliqua*- *N. alpina*- *N. dombeyi* y bosque degradado, ocupan una superficie de 222 ha representando el 10% de la superficie total, distribuidos en diferentes subtipos (Lara et al., 2002).

3.3.1.5 Flora

San Pablo de Tregua mantiene una interesante muestra de comunidades vegetales a lo largo de una gradiente altitudinal que abarca desde los 600 hasta los 1200 m.s.n.m. Un pequeño sector (10%) fue intensamente alterado por usos con extracción de madera, presentando en la actualidad renovales de *N. alpina*. Aparecen como especies acompañantes coigüe (*N. dombeyi*), roble (*N. obliqua*), tino (*W. trichosperma*), tepa (*L. philippiana*), mañío hembra (*Saxegothaea conspicua*) y ulmo (*Eucryphia cordifolia*). Se observan pequeños rodales de *N. dombeyi* puro que se establecieron en áreas sujetas a alteración reciente, como incendios y deslizamientos de suelo. Este tipo de bosques se encuentra en la zona baja del predio. Alrededor de un 83% de la superficie se encuentra dominado por bosques adultos del tipo forestal *N. dombeyi*- *N. alpina*- *L. philippiana*, con bajos grados de alteración. La extensa superficie, cercana a las 2000 ha y la estabilidad ambiental de estos sectores permite que se desarrolle la dinámica natural del bosque en ausencia de perturbaciones de origen antropogénico (Lara et al., 2002).

El sotobosque es muy escaso, aunque la estabilidad permite la presencia de una rica variedad de epífitas y trepadoras, destacando por su dominancia la canelilla (*Hydrangea serratifolia*), el pipil voqui (*Capsidium valdivianum*), la botellita (*Mitraria coccinea*) y diversas especies de quilineja (*Luzuriaga radicans*). Entre las especies arbustivas destaca la presencia de colihue (*Chusquea culeou*) en sitios abiertos que impiden la regeneración de los bosques. Los helechos más comunes son la palmilla (*Laphosoria quadripinnata*) y dentro de las herbáceas, el chuponcillo (*Greigea landbecki*) (Lara et al., 2002).

3.3.2 Selección del sitio de estudio

a) Bosque siempreverde (BS₁): corresponde un 83 % de la superficie total y corresponde a un bosque natural adulto. El bosque con un nulo grado de perturbación tiene un dosel casi cerrado y dominado por *N. dombeyi*, *L. philippiana*, y con *S. conspicua* dominando el dosel alto. Aunque el sotobosque está escasamente desarrollado, éste posee una rica comunidad de

trepadoras y epifitas. La posición topográfica es de cumbre y el máximo de producción de hojarasca es de Febrero a Mayo (Tabla 3.2).

b) Bosque siempreverde (BS₂): bosque intervenido hace 50 años con una selección antrópica. El bosque ha sido recuperado, pero con cambios en su composición y estructura. BS₂ presenta a *N. dombeyi*- *L. philippiana* y *S. conspicua* como árboles dominantes y *Dassyphyllum diacanthoides*, *Myrceugenia planipes* como árboles acompañantes. El grado de disturbancia es bajo, con altos niveles de regeneración y estabilidad. La posición topográfica es de media ladera y su máximo de producción de hojarasca es en marzo (Tabla 3.2).

Tabla 3.2.

Características dasométricas y aporte de hojarasca los ecosistemas forestales del Centro- Sur de Chile.(Lara, no publicado)

Bosque	altura (m)	edad (a)	composición	n° fustes (ha ⁻¹)	área basal (m ² ha ⁻¹)	hojarasca (Mg ha ⁻¹)	caída de hojarasca (kg ha ⁻¹ a ⁻¹)	P en la hojarasca (kg ha ⁻¹ a ⁻¹)
Siempreverde prístino BS ₁	45	> 200	Nd/Lp/Sc	450	91,3	24	4776	3,44
Siempreverde secundario BS ₂	43	> 200	Nd/Lp/Sc/Mp	911	119,0	10	5010	3,00
Deciduo sin manejo RN ₁	25	53	Na/No/Lp	1330	45,2	48	4632	3,58
Deciduo con manejo RN ₂	25	53	Na/No	1030	30.1	101	4115	2,55

*Nd: *Nothofagus dombeyi*; Lp: *Laurelia philippiana*; Sc: *Saxegothaea conspicua*; Na: *N. alpina*; No: *N. obliqua*; Mp: *Myrceugenia planipes*.

c) Bosque deciduo (RN₁): este bosque fue destruido y quemado en 1944. La regeneración secundaria está compuesta por *N. alpina* de 25 m de altura, la que representa mas del 90% de los fustes en número por ha. El dosel alto está dominado por *N. alpina*, acompañado de algunas especies como *N. obliqua* *L. philippiana*, *S. conspicua*, *Luma apiculata* y *E. cordifolia*, que se encuentran en baja cantidad. El sotobosque está dominado por especies de quila *C. culeou* (Castillo et al., 2006). La exposición es de ladera sur con una pendiente media de 35% y su posición topográfica es de baja ladera. El período de crecimiento del año, en el cual los árboles tienen hojas, es de octubre a abril con un máximo de producción de hojarasca en mayo (Tabla 3.2).

d) Bosque deciduo (RN₂): El sitio RN₂ corresponde a bosque secundario alterado de la misma forma que RN₁ (hace 53 años), y con un manejo silvícola como resultado de un corte selectivo de un 50% de su área basal realizado con exportación de madera y quema de residuos, hecho el año 2002. El bosque está compuesto por *N. alpina*, la cual representa sobre un 90% de los fustes de árboles por ha y domina el dosel alto acompañado de algunas especies como *N. obliqua*, *N. dombeyi*, *W. trichosperma*, *L. philippiana*, *S. conspicua* y *E. cordifolia*, que se encuentran en baja cantidad. El sotobosque está dominado por especies de quila *C. culeou* que se encuentran en baja cantidad.

La exposición es de ladera sur con una pendiente media de 35% y su posición topográfica es de media ladera. El período de crecimiento del año, en el cual los árboles tienen hojas, es de octubre a abril, con un máximo de producción de hojarasca en mayo (Tabla 3.2). El manejo consistió en un raleo del área basal de 62,7 a 30,2 m²/ha. Ambos sitios experimentales (RN₁ y RN₂), son comparativos en las características de sus microcuencas y son similares en cuanto a su topografía, superficie, suelos y geología.

e) Pradera (PR). La pradera es el resultado del corte del bosque efectuado hace 100 años, y es un sitio carente de especies forestales o arbustivas. Consiste en una mezcla de *Holcus lanatus*, *Poa annua*, *Plantago lanceolata*, *Taraxacum officinale*, *Trifolium pratense* y otras especies. La pradera fue pastoreada en varias ocasiones. Mas detalles acerca de la descripción de los sitios están dados en la Tabla 3.3 y en los trabajos de Castillo (2005) y Castillo et al. (2006).

3.3.3 Muestreo de suelos

Las muestras se tomaron al final del otoño (mayo de 2005) en 5 áreas dentro de cada ecosistema forestal. Los sitios fueron seleccionadas aleatoriamente dentro de cada área para estudios biológicos y biogeoquímicos. Dentro de cada sitio de 1000 m² de área superficial, se tomaron 15 muestras usando un colector tubular de 20 cm, cruzando el área en forma diagonal. Las muestras de cada sitio se mezclaron para dar cinco réplicas. Las muestras fueron tomadas del horizonte orgánico (material fermentado y húmico) y del horizonte mineral (2-20 cm de profundidad) de los sitios experimentales. Las muestras de suelo se tamizaron (< 2

mm), eliminándose la fracción gruesa correspondiente a hojas, ramas y raíces. Posteriormente se guardan a humedad de campo y 4 °C en contenedores plásticos hasta su análisis. El P microbiano fue analizado en días posteriores después de recogidas las muestras a fin de no alterar la actividad microbiana producida por secado (Turner y Haygarth, 2003).

Tabla 3.3.

Flora en los sitios de estudio de San Pablo de Tregua, Centro Sur de Chile. (BS: bosque siempreverde; RN: renoval; PR: pradera. Adaptado de Castillo (2005)

Forma de vida	Nombre científico	Familia	Sitio de estudio		
			BS	RN	PR
Arbórea	<i>Aetoxicum punctatum</i>	Aetoxicaceae	+	-	-
	<i>Amomyrtus luma</i>	Myrtaceae	+	-	-
	<i>Amomyrtus meli</i>	Myrtaceae	+	-	-
	<i>Dasyphyllum diacanthoides</i>	Asteraceae	+	-	-
	<i>Drimys winteri</i>	Winteraceae	+	-	-
	<i>Embothrium coccineum</i>	Proteaceae	+	-	-
	<i>Eucryphia cordifolia</i>	Eucryphiaceae	+	+	-
	<i>Gevuina avellana</i>	Proteaceae	+	-	-
	<i>Laureliopsis philippiana</i>	Monimiaceae	+	+	-
	<i>Lomatia dentata</i>	Proteaceae	+	-	-
	<i>Lomatia ferruginea</i>	Proteaceae	+	+	-
	<i>Lomatia hirsuta</i>	Proteaceae	+	-	-
	<i>Luma apiculata</i>	Myrtaceae	+	-	-
	<i>Maytenus magallanica</i>	Celastraceae	+	-	-
	<i>Myrceugenia planipes</i>	Myrtaceae	+	-	-
	<i>Nothofagus alpina</i>	Fagaceae	-	+	-
	<i>Nothofagus dombeyi</i>	Fagaceae	+	+	-
	<i>Nothofagus obliqua</i>	Fagaceae	+	+	-
	<i>Sagotahaea conspicua</i>	Podocarpaceae	+	+	-
	<i>Weinmannia trichosperma</i>	Cunoniaceae	+	+	-
Arbustiva	<i>Aristotelia chilensis</i>	Elaeocarpaceae	+	-	-
	<i>Azara lanceolata</i>	Flacourtiaceae	+	-	-
	<i>Berberis buxifolia</i>	Berberidaceae	+	-	-
	<i>Berberis linearifolia</i>	Berberidaceae	+	-	-
	<i>Chusquea culeou</i>	Graminae	+	-	-
	<i>Desfontainia spinosa</i>	Desfontainaceae	+	-	-
	<i>Drimys andina</i>	Winteraceae	+	-	-
	<i>Fuchsia magallanica</i>	Onagraceae	+	-	-
	<i>Gaultheria phyllireifolia</i>	Ericaceae	+	-	-
	<i>Griselinia ruscifolia</i>	Cornaceae	+	-	-
	<i>Myoschilos oblonga</i>	Santalaceae	+	-	-
	<i>Myrceugenia parvifolia</i>	Myrtaceae	+	-	-
	<i>Ovidia pillo-pillo</i>	Thymaleaceae	+	-	-
	<i>Ribes magallanicum</i>	Saxifrageceae	+	-	-
	Trepadora y epífita	<i>Asteranthera ovata</i>	Gesneriaceae	+	-
<i>Capsidium valdivianum</i>		Bignoniaceae	+	-	-
<i>Fascicularia bicolor</i>		Bromeliaceae	+	-	-
<i>Hydrangea integerrima</i>		Hydrangeaceae	+	-	-
<i>Hydrangea serratifolia</i>		Hydrangeaceae	+	-	-
<i>Luzuriaga radicans</i>		Philesiaceae	+	-	-
<i>Mitratia coccinea</i>		Gesneriaceae	+	-	-

Tabla 3.3 (Continuación)

Forma de vida	Nombre científico	Familia	Sitio de estudio		
			BS	RN	PR
Helecho	<i>Asplenium dareoides</i>	Aspleniaceae	+	+	-
	<i>Blechnum hastatum</i>	Blechnaceae	+	-	-
	<i>Blechnum blechnoides</i>	Blechnaceae	+	+	-
	<i>Blechnum chilense</i>	Blechnaceae	+	-	-
	<i>Hymenophyllum pectinatum</i>	Hymenophyllaceae	+	-	-
	<i>Hymenophyllum sp.</i>	Hymenophyllaceae	+	-	-
	<i>Hypolepis poeppigii</i>	Dennstaedtiaceae	+	-	-
	<i>Lophosoria quadripinnata</i>	Lophosoriaceae	+	-	-
Herbácea	<i>Acaena ovalifolia</i>	Rosaceae	-	-	+
	<i>Achillea millefolium</i>	Asteraceae	-	-	+
	<i>Agrostis capilaris</i>	Poaceae	-	-	+
	<i>Dichondra sericea</i>	Convolvaceae	-	-	+
	<i>Dysopsis glechomoides</i>	Euphorbiaceae	+	+	-
	<i>Fragaria chiloensis</i>	Rosaceae	-	-	-
	<i>Greigea landbeckii</i>	Bromeliaceae	+	+	+
	<i>Holcus lanatus</i>	Poaceae	-	-	+
	<i>Hypericum perforatum</i>	Clusiaceae	-	-	+
	<i>Hypochaeris radicata</i>	Asteraceae	-	-	+
	<i>Juncus procerus</i>	Juncaceae	-	-	-
	<i>Loasa sclareifolia</i>	Loasaceae	+	-	+
	<i>Lotus uliginosus</i>	Fabaceae	-	-	+
	<i>Mendicago sp.</i>	Fabaceae	-	-	+
	<i>Mentha blanca</i>	Labiatae	-	-	+
	<i>Nertera granadensis</i>	Labiatae	+	-	-
	<i>Osmorrhiza granadensis</i>	Rubiaceae	+	-	-
	<i>Plantago lanceolata</i>	Apiaceae	-	-	+
	<i>Poa annua</i>	Poaceae	-	-	+
	<i>Prunella vulgaris</i>	Lamiaceae	-	-	+
	<i>Ranunculus minutiflorus</i>	Ranunculaceae	-	-	+
	<i>Rumex acetosella</i>	Polygonaceae	-	-	+
	<i>Senecio vulgaris</i>	Asteraceae	-	-	+
	<i>Solanum sp.</i>	Solanaceae	+	-	-
	<i>Taraxacum officinale</i>	Asteraceae	-	-	+
	<i>Trifolium pratense</i>	Fabaceae	-	-	+
	<i>Trifolium repens</i>	Fabaceae	-	-	+

3.3.4 Propiedades del suelo:

a) pH: el pH del suelo fue determinado en una suspensión de suelo con relación de 1: 2,5 de suelo/agua (p/v) mediante el uso de un electrodo de vidrio.

b) Actividad fosfatasa: La actividad fosfatasa ácida (P-asa) (E.C.3.1.3.2 fosfomonoesterasa) asociada con el suelo se determinó usando p-nitrofenilfosfato (*p*-NFF) de acuerdo al procedimiento descrito por Tabatabai y Bremner (1969) con modificaciones informadas por Rubio et al. (1990) para suelos con altos contenidos de materia orgánica. A 1 g de suelo se le

adicionó 1 mL de *p*-NFF 50 mM y 4 mL de buffer Tris 0,1 M pH 5,5 y se incubaron durante 1h a 20°C, en oscuridad. Al término del período de incubación se añadió 1 mL de CaCl₂ 0,5 M y los contenidos se filtraron recibiendo sobre 4 mL de solución NaOH 0,5 M. Finalmente, las muestras se centrifugaron por 10 min a 2500 g y la cantidad de *p*-nitrofenol en el sobrenadante se determinó espectrofotométricamente a 400 nm.

c) P Olsen: el P Olsen fue extraído con 0,5 M NaHCO₃ a pH 8.5, según la metodología de Olsen y Sommers, (1982).

d) P total: El P_T fue determinado por el método de oxidación alcalina de Dick y Tabatabai (1977).

e) Materia orgánica: el contenido de materia orgánica fue analizado por el método húmedo de oxidación con dicromato (Walkley y Black, 1934).

f) P orgánico: Se determinó la distribución de P_o de acuerdo a la extracción secuencial de Steward y Oades (1972), modificada por Borie y Zunino (1983).

3.3.5 Fraccionamiento de P

El fraccionamiento de fósforo se efectuó según una metodología modificada del fraccionamiento de Hedley (Hedley et al., 1982; Tiessen y Moir, 1993), adecuada para suelos ácidos derivados de ceniza volcánica.

Para este propósito, se secó una submuestra al aire y se tamizó a 106 µm. Se agitaron 0,5 g del suelo por 16 horas con 30 ml de agua desionizada y con resinas de intercambio aniónica y catiónica (BDH # 55164 2S y BDH # 55165 2U provenientes del laboratorio de BDH, BH15 ITD, Poole, Inglaterra) bajo la forma de HCO₃⁻ y H⁺ (Blake et al. 2003; Hedley et al, 1994). Después de la agitación, las resinas fueron lavadas con agua desionizada y desorbidas con 30 ml de 0,5 M NaCl por 30 minutos; el P fue medido usando el método azul se molibdeno- ácido ascórbico (Murphy y Riley, 1962). Posteriormente, la solución de suelo-agua se centrifugó a 5000 x g, descartándose el agua. Al suelo restante se agregaron 30 mL de 0,5 M NaHCO₃, agitándose nuevamente por 16 h. Después de la centrifugación y de la filtración a través de Whatman # 40, se recogió el sobrenadante y el P total de esta fracción se determinó directamente por el método de Dick y Tabatabai (1977); P inorgánico (P_i) fue

determinado directamente como fue descrito anteriormente. El P_o fue estimado como la diferencia entre el P total de esta fracción y el P_i .

El suelo remanente se extrajo secuencialmente con NaOH 0,1 M de manera semejante al descrito anteriormente para 0,5 M NaHCO₃, y posteriormente el suelo se extrajo con H₂SO₄ 0,5 M en forma similar, pero solamente se determinó el contenido de P_i . El fosfato en todos los extractos fue medido por el método de Murphy y Riley (1962) a pH 5.0 con un espectrofotómetro UV-VIS. El diagrama de flujo de la extracción secuencial se resume en la Figura 3.3.

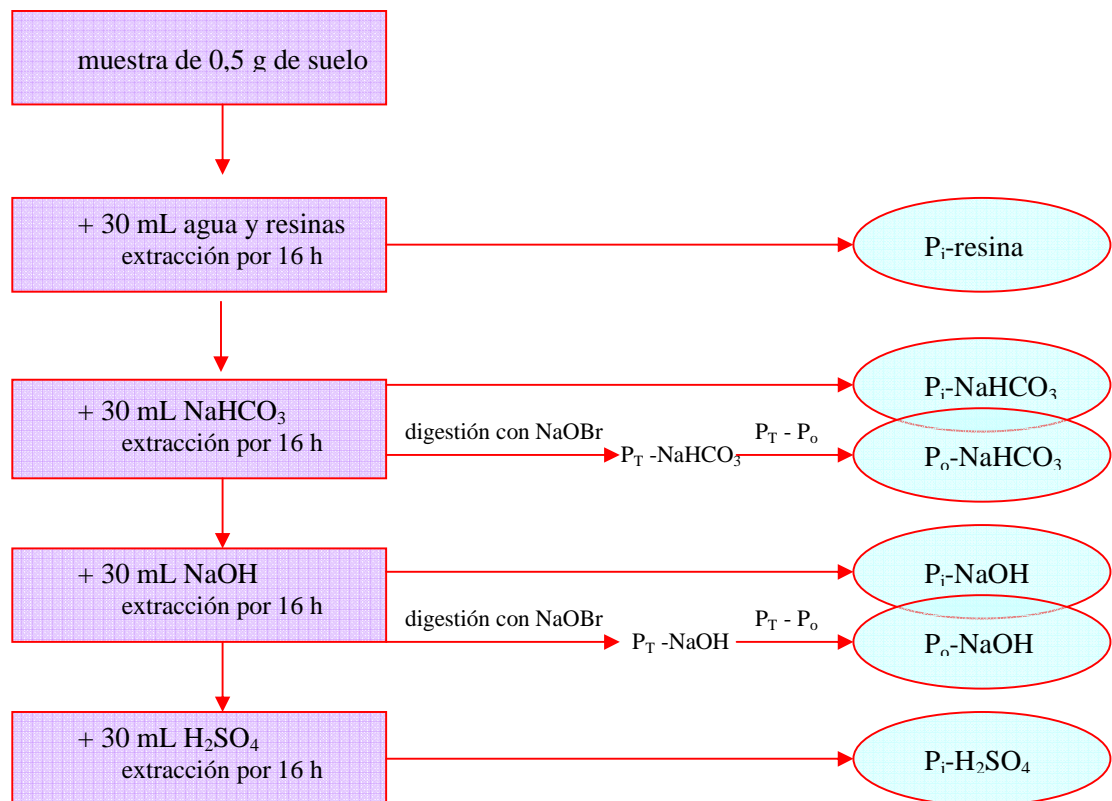


Fig. 3.3. Diagrama de flujo del modelo de extracción secuencial de P del suelo modificado (Hedley et al., 1982).

3.3.6 Determinación del P microbiano

El P contenido en la biomasa microbiana fue determinado por fumigación y extracción simultánea con resinas de intercambio aniónico (BDH # 55164) con HCO_3^- como intercambiador iónico por 16 h. Sin embargo, se usó hexanol como fumigante en vez de cloroformo, porque se encontró que este último disolvía las membranas de intercambio aniónico (Myers et al., 1999; Bünemann et al., 2004a). La fumigación con hexanol ha demostrado ser tan efectiva como cloroformo para liberar P microbiano (McLaughlin et al., 1986). Todos los análisis se efectuaron con cinco repeticiones.

Se agitó suelo húmedo equivalente a 2 g en con 30 mL de H_2O y dos membranas de resina con (fumigadas) o sin (no fumigadas) 1 mL hexanol por 16 h a 170 golpes min^{-1} . Posteriormente, las membranas de resina se lavaron cuidadosamente con H_2O y se eluyeron con 30 mL 0,5 M NaCl. El P microbiano fue calculado como la diferencia entre las muestras fumigadas y no fumigadas, aplicando un factor de recuperación de P de acuerdo a Bünemann et al., (2004b) Dicho factor se determina con muestras no fumigadas adicionales, las que reciben una cantidad conocida de P inorgánico. La recuperación del P adicionado se describe como una función lineal de estos suelos, con adiciones que llegan a los 200 $\mu\text{g P g}^{-1}$ suelo. Una adición simple de P es por lo tanto suficiente para corregir la sorción de P. El P microbiano (P_{mic}) se calcula de acuerdo a:

$$P_{\text{mic}} = (P_{\text{fum}} - P_{\text{resina}}) / P_{\text{rec}}, \quad (1)$$

donde P_{fum} y P_{resina} son las cantidades de P extraídas de las muestras fumigadas y no fumigadas, respectivamente y P_{rec} es la fracción de la adición de P que fue recuperada (Bünemann et al., 2004b). La concentración de P en todos los extractos se determinó mediante el método de Murphy y Riley (1962) con un espectrofotómetro UV- VIS a 700 nm y pH 5,0.

3.3.7 Análisis estadísticos

Los datos de 5 repeticiones fueron analizados usando los procedimientos de ANOVA del instituto SAS/STAT, versión 6 (1990) siendo previamente transformados al arcoseno para cumplir con los requisitos estadísticos de la normalidad, para después ser comparado por la prueba de rango múltiple de Duncan. La significación estadística fue determinada a $P \leq 0.05$. Se determinaron correlaciones usando ANOVA SAS/STAT, versión 6 (1990).

3.4 Resultados

3.4.1 Parámetros químicos y biológicos de los suelos y del horizonte orgánico

El pH fue más ácido en el horizonte orgánico y suelo mineral de los bosques siempreverdes que en los deciduos, con diferencias significativas para el suelo de BS₁. El contenido de C_o fue más alto para el horizonte orgánico que el suelo, pero no se observaron diferencias estadísticas entre los distintos tipos de bosque (Tabla 3.4).

Tabla 3.4.

Parámetros químicos y biológicos del horizonte orgánico y del suelo (2- 20 cm) en los ecosistemas forestales

ecosistema	pH	C _o	Fosfatasa ácida	pH	C _o	Fosfatasa ácida
	--- horizonte orgánico ----			--- suelo-----		
	(%)	(mg p-NFF g ⁻¹ h ⁻¹)	(%)	(%)	(mg p-NFF g ⁻¹ h ⁻¹)	(%)
Bosque siempreverde- BS ₁	5,0 b	19 a	17,0 a	4,7 c	12 b	6,0 b
Bosque siempreverde- BS ₂	5,0 b	15 a	25,3 a	5,1 b	13 ab	18,2 a
Bosque deciduo- RN ₁	5,6 a	16 a	9,7 b	5,4 a	13 ab	7,2 b
Bosque deciduo- RN ₂	5,8 a	16 a	19,6 a	5,2 ab	17 a	7,6 b
Pradera- PR				5,3 a	12 b	3,3 c

Para el mismo horizonte, valores seguidas por diferentes letras son significativamente distintas según prueba Duncan ($P \leq 0,05$).

La fosfatasa ácida, que cataliza la hidrólisis del P_o, fue más alta en la cubierta vegetal y en el suelo de BS₂. en general, los valores de P-asa fueron mas bajos en el suelo que en las muestras del horizonte orgánico. La actividad de la fosfatasa ácida estuvo en un rango que varió desde 17.0 a 25.3 mg p-NFF g⁻¹h⁻¹ para el horizonte orgánico del bosque siempreverde

BS₁ y BS₂, respectivamente (Tabla 3.4). Sin embargo, en los bosque deciduos los valores de P-asa fueron más bajos, pero la menor actividad P-asa fue en la pradera con 3,3 mg p-NFF g⁻¹ h⁻¹.

3.4.2 Contenidos de P en el horizonte orgánico y en el suelo

En la Fig. 3.4 se muestran los resultados para P_T, P_o y P disponible para los ecosistemas. El P_T fue mas alto para el suelo bajo PR que en el suelo u hojarasca de los bosques. Para el horizonte orgánico, el P_T varió desde 1501 a 1913 mg kg⁻¹ y fue significativamente superior en BS₁ que en los otros tipos forestales y asimismo en el suelo mineral. El P_o estuvo en un rango de 732 a 1176 mg kg⁻¹, con los mayores contenidos en suelos de PR, seguido del horizonte orgánico de los bosques. El P disponible fue mayor en el horizonte orgánico y el suelo de RN₁ y BS₁, con una disminución en los bosques manejados.

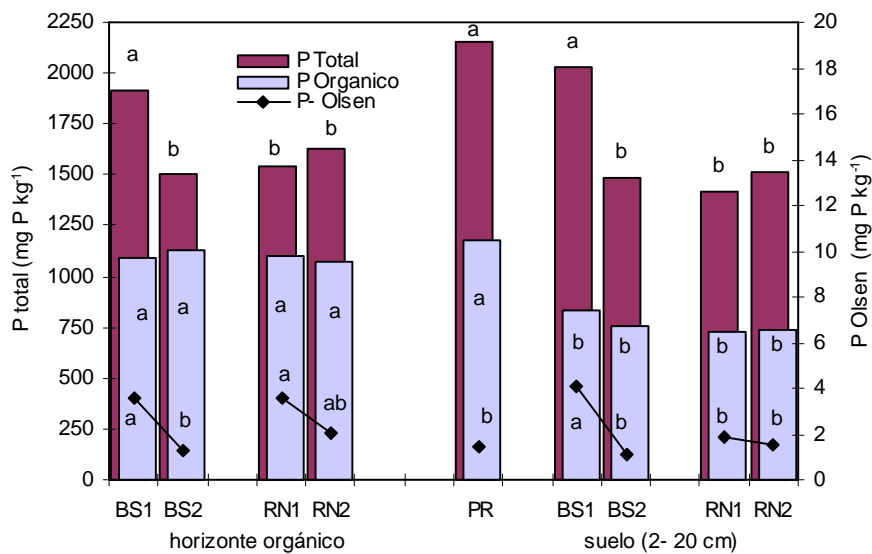


Fig. 3.4. P Total, P orgánico y P Olsen en el horizonte orgánico y en el suelo (2-20 cm) en los ecosistemas forestales. BS: Bosque primario siempreverde; RN: Bosque secundario deciduo (Renoval); PR: Pradera. Letras distintas en el mismo estrato y fracción de P denotan diferencias significativas según prueba Duncan ($P \leq 0,05$).

Expresada en proporción al P_T, el horizonte orgánico tuvo un mayor contenido de P_o (57-75%) que la pradera (55%) y el suelo forestal (41-52%). Los mayores contenidos de P-Olsen se encontraron en el horizonte orgánico y en el suelo de los bosques RS₁ y BS₁, siendo

significativamente más altas que en los otros tratamientos, con la excepción del suelo bajo RN₁ (Fig. 3.4).

Los resultados para el P_{mic} están dados en la Fig. 3.5, y estuvieron en un rango de 15 a 118,5 mg kg⁻¹. Los contenidos de P_{mic} fueron significativamente más altos en suelos minerales y en el horizonte orgánico bajo BS, comparado con RN, con la excepción de BS₁. Generalmente, los menores valores de P microbiano se encontraron en el suelo. El suelo bajo PR tuvo un contenido significativamente menor de P microbiano que el horizonte orgánico y suelo mineral de los ecosistemas boscosos.

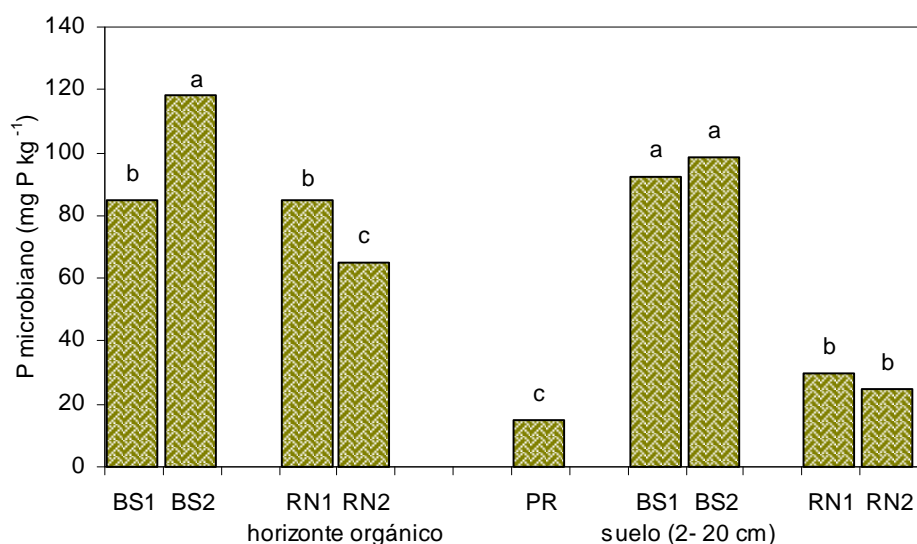


Fig. 3.5. P microbiano en el horizonte orgánico y en el suelo (2-20 cm) en los ecosistemas forestales. BS: Bosque primario siempreverde; RN: Bosque secundario decíduo (Renoval); PR: Pradera. Letras distintas en el mismo estrato y fracción de P denotan diferencias significativas según prueba Duncan ($P \leq 0,05$).

3.4.3 Fracciones de P

Tanto en el suelo como en la cubierta vegetal, el P se encontró mayormente en la fracción moderadamente lábil P_o-NaOH (Fig. 3.6), representando en promedio un 35% del P_T (Tabla 3.5). En ambas cubiertas orgánicas bajo BS y en el suelo de BS₂, esta fracción representó más de un 40 % del P_T. La fracción de P_i + P_o fue más alta en BS que en RN, tanto en el suelo

mineral como en el horizonte orgánico. Los contenidos de P_i -NaOH fueron moderadamente similares para todos los tipos de horizonte orgánico, y su contenido fue mayor en el suelo de RN₁. Las fracciones más pequeñas encontradas en todos los ecosistemas fue las del P asociado al Ca (Fig. 3.6). Las fracciones lábiles fueron más altas para BS (Fig. 3.7), encontrándose principalmente en forma orgánica en el suelo mineral de todos los bosques, en donde la fracción de P_o -NaHCO₃ representó en promedio un 4,2 % del P_T (Tabla 3.5). El P_i -NaHCO₃ fueron mayores en el horizonte orgánico. Esta última fracción representó un 6,1 % del P_T en el horizonte orgánico y un 3,1 % en el suelo. El P resina representó sólo un 1,4% del P_T (Tabla 3.5), con los mayores porcentajes en el suelo y en el horizonte orgánico de BS₂. La PR tuvo los menores contenidos de P_o -NaHCO₃ y P-resina.

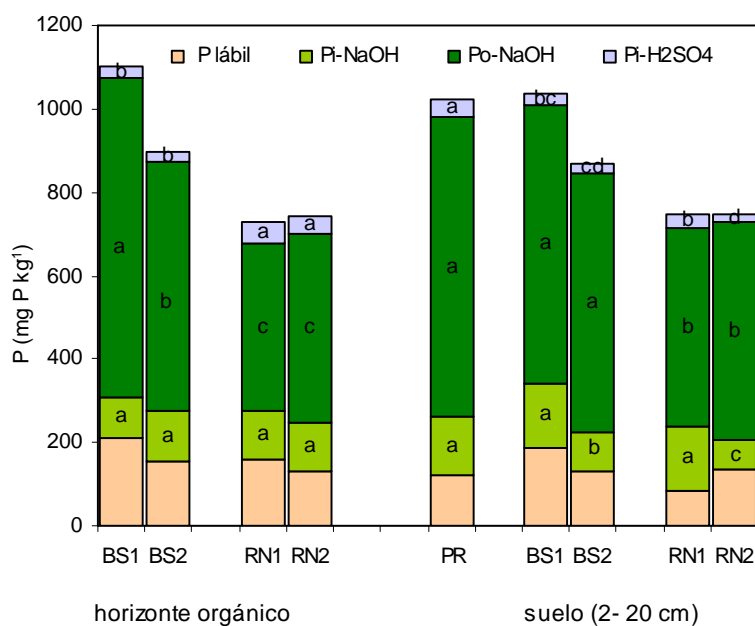


Fig. 3.6. Fraccionamiento de P (fracciones no lábiles) en el horizonte orgánico y en el suelo (2- 20 cm) en los ecosistemas forestales. BS: Bosque primario siempreverde; RN: Bosque secundario deciduo (Renoval); PR: Pradera. Letras distintas en el mismo estrato y fracción de P denotan diferencias significativas según prueba Duncan ($P \leq 0,05$).

Tabla 3.5

Fracciones de P presentes como porcentaje del P total en el horizonte orgánico y el suelo mineral (2-20 cm) en los cuatro ecosistemas boscosos y una pradera. BS: Bosque primario siempreverde; RN: Bosque secundario decido (Renoval); PR: Pradera; P_l + P_{ml}: P lábil + P moderadamente lábil

predio forestal	horizonte orgánico	P lábil			P _{mic}	P moderadamente lábil		P _l + P _{ml}
		P resina (%)	P _i NaHCO ₃ (%)	P _o NaHCO ₃ (%)		P _l NaOH (%)	P _o NaOH (%)	
		(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
	BS ₁	1,3	7,3	2,4	4,4	5,1	40,0	56,2
	BS ₂	2,8	3,9	3,6	7,9	8,0	40,0	58,3
	RN ₁	1,6	7,3	1,7	5,5	7,6	25,9	43,9
	RN ₂	1,4	6,0	0,6	4,0	7,1	28,0	43,1
	suelos							
	BS ₁	1,0	1,9	6,3	4,5	7,5	33,0	50,0
	BS ₂	1,2	3,9	3,8	6,7	6,2	42,0	57,0
	RN ₁	0,8	2,6	2,6	2,1	10,8	33,9	50,6
	RN ₂	0,9	4,0	4,1	1,6	4,5	34,4	48,0
	PR	0,3	0,9	4,4	0,7	6,4	33,3	45,4

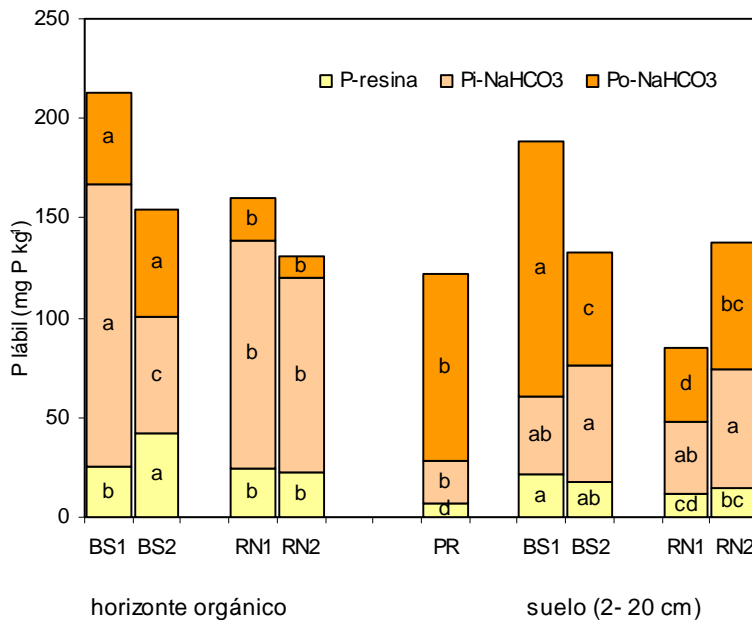


Fig. 3.7. Fraccionamiento de P (fracciones lábiles) en el horizonte orgánico y en el suelo (2- 20 cm) en los ecosistemas forestales. BS: Bosque primario siempreverde; RN: Bosque secundario decido (Renoval); PR: Pradera. Letras distintas en el mismo estrato y fracción de P denotan diferencias significativas según prueba Duncan ($P \leq 0,05$).

El P orgánico presente como P microbiano en el horizonte orgánico fue similar para todas las muestras, con la excepción de BS₂ (Tabla 3.6); sin embargo, en todos los casos no fue mayor a un 14%, siendo más alto en el suelo del bosque siempreverde que en el suelo en bosque deciduos. Además, el P orgánico presente como P lábil+ moderadamente lábil fue de un 82% en el horizonte orgánico y en los suelos de BS, mientras que en las muestras bajo RN alcanzó solo un 58%.

Se observaron relaciones positivas para el suelo y el horizonte orgánico entre la P-asa y P-resina ($r^2= 0,38$), P microbiano y P resina ($r^2= 0,46$), P-asa y P microbiano ($r^2= 0,42$), (n= 45). Adicionalmente, se observan relaciones positivas entre el P disponible y P_i-NaHCO₃ ($r^2= 0,63$), pH y P_o ($r^2= 0,83$), y P_o y P resina ($r^2= 0,39$) para la hojarasca (n= 20; para todas las relaciones, $P < 0,001$).

Tabla 3.6

Porcentaje de P microbiano (P_{mic}) con respecto a P orgánico (P_o), P orgánico lábil + P orgánico moderadamente lábil (P_{ol} + P_{oml}) con respecto a P_o y P_T en el horizonte orgánico y en el suelo (2-20 cm) en los ecosistemas forestales.

ecosistema	P _{mic} /P _o	(P _{ol} + P _{oml})/P _o	(P _{ol} + P _{oml})/P _T	P _{mic}	(P _{ol} + P _{oml})/P _o	(P _{ol} + P _{oml})/P _T
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
	--- horizonte orgánico ----			--- suelo-----		
BS ₁	7,7	75,0	44,2	11,2	96,1	38,1
BS ₂	10,5	61,2	47,2	13,3	96,2	47,9
RN ₁	7,7	43,9	29,0	4,5	80,1	37,4
RN ₂	6,0	39,9	26,9	3,2	69,0	37,0
PR				1,3	77,0	44,2

BS: Bosque primario siempreverde; RN: Bosque secundario deciduo (Renoval); PR: Pradera.

3.5 Discusión

Se puede observar en general, un menor contenido de P en los ecosistemas boscosos afectados por acción antropogénica, con respecto al bosque no alterado. En este mismo sentido, Chacón y Dezzeo (2004), han reportado pérdidas de P en bosques degradados con respecto a bosques nativos, atribuido a fuegos recurrentes que provocaban pérdidas en el

horizonte orgánico y erosión. Menores contenidos de P en RN pueden deberse a un raleo del bosque por fuego y menor número de árboles por hectárea y biodiversidad fúngica mas baja de este ecosistema con respecto a los demás (Castillo et al., 2006). Además, los árboles pudieron haber enriquecido el horizonte superior por el reciclaje de hojarasca e incluso algunos árboles pueden acelerar el ciclado de P (Cardoso et al., 2002). La pradera mostró niveles superiores de P_T que el bosque nativo, pero no significativos. En la literatura se ha reportado que praderas derivadas de bosques talados poseen un contenido mas alto de P_T (Ross et al., 1999; Turrión et al., 2000b), también se ha reportado que no existen diferencias en P_T o inclusive valores de P_T más bajos que en bosques nativos (Thomas et al., 1999; Chacón y Dezzeo, 2004). Mayores valores de P_T pueden deberse a excretas de animales (Turrión et al., 2000a), mientras que las reducciones pueden deberse a una mineralización acentuada de P orgánico, especialmente en ambientes áridos (Solomon y Lehmann, 2000).

La actividad fosfatasa en este estudio fue excepcionalmente alta con respecto a Ultisoles agrícolas (Redel et al., 2007), y con valores reportados en otros ecosistemas forestales (Chen et al., 2000, 2003a; Chen, 2003) e incluso en un suelo alofánico forestal (Liu et al., 2004). Recientemente se han reportado valores mas bajos de P-asa en Andisoles templados del sur de Argentina, incluyendo coníferas y bosques deciduos (Satti et al., 2007). Estos valores contrastantes para la P-asa del suelo encontrados entre los Andisoles chilenos y argentinos, puede deberse a una mayor temperatura, humedad, P orgánico y total de nuestros suelos. Los únicos valores comparables de P-asa con los nuestros son aquellos reportados por Schneider et al. (2001) en un Cambisol forestal que presenta una alta fijación de P, atribuyendo los altos valores de P-asa encontrados a altos niveles de P_o lábil y a la alta capacidad del suelo para fijar P_i y a la limitada mineralización de la materia orgánica, debida a la formación de complejos de P_o con Al y Fe activos. Dadas estas condiciones, la actividad P-asa tiene un rol fundamental en la adquisición de P por plantas y microorganismos.

El hecho de que el P microbiano fuera más alto en el horizonte orgánico del suelo del bosque deciduo, confirma lo que ya ha sido reportado por Brake et al. (1999); Ross et al. (1999); Chen et al. (2000) y Wright y Coleman, (2000), quienes encontraron que el P microbiano es varias veces superior en el horizonte orgánico que en el suelo mineral. Esta

diferencia en el P microbiano puede deberse al ambiente no anóxico de esta capa de suelo, debido a que los microorganismos aerobios poseen más sustrato disponible y puede ser transferido a su biomasa (Brake et al., 1999). Se encontró que los contenidos de P microbiano en los ecosistemas forestales fueron varias veces superiores que en la pradera de acuerdo con Brookes et al. (1984) y Oberson et al. (2001). El P encontrado en los ecosistemas forestales es más alto que el P microbiano en suelos agrícolas volcánicos reportados por Borie et al. (1990). Sin embargo, el hecho de que el P microbiano fuera mayor en BS que en RN es atribuible a la recalcitrancia de las hojas y al período de recolección de muestras. Debido a que en el muestreo de RN se incorporaron hojas muy descompuestas y los *Nothofagus* deciduos secretan P más “rápido” que los *Nothofagus* siempreverdes (Decker y Boerner, 2006), menos P permanece soluble para el crecimiento microbiano.

Aunque la absorción con resinas de intercambio no ha sido usada en forma extensiva para determinar el P microbiano de los suelos, la fumigación y extracción líquida simultánea que se usó en este estudio posee la ventaja de que la absorción iónica de la resina, absorbe en forma continua el P hacia sus superficies durante la extracción, manteniendo en la solución bajas concentraciones de P (Myers et al., 1999). De esta manera, el equilibrio entre el P contenido en la solución y la resina favorece la secreción del P de las células microbianas a la solución del suelo y del cual será transferido a la resina. Este mecanismo contrasta con lo que ocurre con las extracciones químicas en que se incrementa continuamente el P en la solución a medida que el P es extraído del suelo, por lo que el equilibrio entre el P contenido en la solución y la resina se moverá en la dirección en la que inhibe la secreción de las células microbianas (Myers et al., 1999).

Los resultados muestran que para estos Andisoles bajo bosque se encuentran mayores niveles de P_T y el P_o -NaOH que los otros suelos estudiados por Cross y Schlesinger (1995), Liu et al. (2004) y Thomas et al. (1999). Los Andisoles agrícolas chilenos muestran niveles de P_T en un rango de 1150 a 3250 mg kg⁻¹ para suelos no cultivados y más altos para suelos cultivados (Borie y Rubio, 2003). Esos elevados contenidos pueden atribuirse a la formación de complejos P-humus, tal como ha sido reportado previamente por Borie y Zunino (1983). De

hecho, el P moderadamente lábil representa en promedio un 64% del P_o total y el P recalcitrante representa en promedio un 31% del P_o en este experimento.

Los suelos forestales templados, incluyendo los suelos chilenos muestran altos contenidos de P_o (Thomas et al., 1999; Pinochet et al., 2001; De Brouwere et al., 2003), con la mayor parte del P presente en la fracción moderadamente lábil (Spears et al., 2001, Binkley et al., 2000). Este incremento puede atribuirse a adiciones de hojarasca, menor crecimiento de las plantas y actividad microbiana, especialmente en el otoño tardío y en el invierno (Ross et al., 1999; García- Montiel et al., 2000; Townsend et al., 2002). Estas adiciones son fundamentales para biodisponibilidad del P, la que se hace evidente al comparar los bosques con la pradera, la cual posee mayores contenidos de P relativamente lábil y no lábil, y un menor contenido de P lábil y microbiano. Si bien la acumulación de P_o puede ayudar a limitar la pérdida de P en zonas con alta pluviometría (Miller et al, 2001), la acumulación de P_o -NaOH puede ser limitante para el crecimiento de las plantas en suelos volcánicos como lo encontraron Schlesinger et al. (1998), probablemente por la rápida acumulación de P_o -NaOH, con la pérdida de una forma de P mas recalcitrante como es P - H_2SO_4 .

Las formas de P lábil se encontraron acumuladas en el horizonte orgánico del bosque como P_i , de acuerdo con Chacón y Dezzeo (2004) y McGrath et al. (2000). Estas formas inorgánicas se encontraron mayormente asociadas al horizonte orgánico siendo una fuente importante de P para plantas y microorganismos. La descomposición de la hojarasca depende de su composición química. Cálculos derivados de resultados del aporte de hojarasca y del P contenida en ella (Tabla 3.2) resultan en una vida media del P en la hojarasca de 13, 5, 21 y 64 años para BS_1 , BS_2 , RN_1 y RN_2 , respectivamente. Comparando estas grandes diferencias, la variabilidad de las fracciones de P en el horizonte orgánico son moderadamente pequeñas, por lo que no es sorprendente de que el horizonte orgánico de RN tenga menores fracciones de P de BS y asimismo una menor actividad microbiana.

La menor relación entre el P orgánico lábil y P_T del horizonte orgánico de RN refleja mejor la diferencia en la calidad del P entre RN y BS, sugiriendo que contenidos de P_o favorecen la descomposición de las hojas. Debido a que no se observaron diferencias en la

actividad P-asa entre RN₂ y BS indica que la P-asa fue un factor que contribuyó a la homogeneidad en los contenidos de P en los ecosistemas.

El manejo del bosque, tal como el corte selectivo, tala y crecimiento de un bosque secundario, conducen a una reducción de los contenidos de P del ecosistema de acuerdo a Markewitz et al. (2004). Esto se hace evidente al observar la reducción en las fracciones de P en BS₂ con uso histórico, como asimismo con la tala del bosque y establecimiento de renovales cuando se comparan BS con RN. Sin embargo, el raleo actual (3 años atrás) de RN₂ no afectó significativamente la bioquímica del P en los ecosistemas forestales. Esto se debe a que los residuos se dejan en el suelo y la intervención es mínima comparada con los efectos de una tala completa del árbol (remoción de todos los residuos). Esto puede verse como una alta regeneración vegetativa de árboles, arbustos y especies herbáceas, que contribuyeron a un ciclado de P conservativo en los ecosistemas.

En el caso de BS₂, los niveles de P orgánico, fosfatasa, pH, y vegetación aérea se incrementaron con el tiempo. Esto muestra que este ecosistema boscoso ha desarrollado una estrategia adaptativa y una alta capacidad de recuperación, que puede regular la regeneración de la vegetación, propiedades químicas y biológicas de suelo y el funcionamiento general del ecosistema.

En este estudio, sólo se confirmó parte de la hipótesis, demostrando que el horizonte orgánico de los bosques tuvo un mayor contenido de las fracciones lábiles de P que el suelo. y que las formas de P en los ecosistemas forestales serán mayoritariamente de naturaleza orgánica, asociado a materia orgánica altamente humificada como P-NaOH. Además, se encontró que la enzima fosfatasa asociada a su hidrólisis se encontrará en mayor cantidad en el bosque que en la pradera. Sin embargo, en la pradera se observaron los contenidos mas altos de P orgánico asociado a materia orgánica altamente humificada.

3.6 Conclusiones

- De este estudio se puede concluir que la intervención antrópica resultó en una disminución el contenido de las fracciones de P y del P_T del suelo.
- En el bosque con manejo histórico (BS₂) los niveles de P orgánico, fosfatasa, pH y cubierta vegetal se incrementaron con el tiempo, mostrando que este ecosistema tiene una alta capacidad de resiliencia.
- El cambio de uso del suelo de bosque a pradera produjo una reducción en la disponibilidad de P y en la actividad P-asa.
- En el horizonte orgánico se observaron los mayores contenidos de P en sus formas más lábiles y la mayor actividad P-asa, siendo beneficiosa para la disponibilidad del P en el ecosistema.

CAPÍTULO 4

Disponibilidad y formas de P evaluada mediante ^{31}P -RMN en suelos volcánicos bajo cultivo agrícola y forestal del Centro- Sur de Chile

4.1 Introducción

El P orgánicamente ligado (P_o) representa entre el 20 y 90% del P total (P_T) de la superficie del suelo, pero solo una pequeña parte de este P_o está disponible para la mineralización. Sin embargo, la fracción lábil representa un componente importante en la nutrición de P de la planta, tanto en ecosistemas forestales como bajo cultivo (Rubaek et al., 1999).

El fraccionamiento de Hedley (Hedley et al., 1982), se ha utilizado convencionalmente para estudiar la dinámica de las fracciones de P en el suelo, asumiendo que las fracciones secuencialmente extraídas representan una gradiente de disponibilidad decreciente para las plantas. El principal beneficio de los métodos de fraccionamiento es que permiten un análisis completo de las formas de P presentes en el suelo (Taranto et al., 2000). Sin embargo, esta metodología no permite identificar la estructura de los componentes de P extraídos. Consecuentemente, el número de investigadores que utilizan la resonancia magnética nuclear de ^{31}P -RMN) se ha incrementado últimamente. Con esta técnica es posible identificar diferentes formas químicas de P orgánico como P ligado a monoéster y diéster, fosfonatos y polifosfatos, así como también P inorgánico, como ortofosfato y pirofosfato.

Algunos estudios en los que se ha usado ^{31}P -RMN han sido orientados hacia la determinación del efecto de los cambios de uso del suelo en la naturaleza y distribución del P orgánico de los suelos, observándose una acumulación de formas monoéster en el suelo (Rubaek et al., 1999; Solomon et al., 2002). En suelos volcánicos chilenos, el P de los suelos ha sido estudiado empleando diferentes tratamientos mediante técnicas con ^{31}P -RMN

(Escudey et al., 1997, 2004a,b), no encontrándose diferencias entre horizontes del suelo, ni por la aplicación de purines y fertilización, pero si encontrándose una acumulación de P en la fracción arcilla de Andisoles. Por otra parte, Briceño et al. (2004) encontraron mas P monoéster en Andisoles que en un Ultisoles no cultivados y los mismos autores (2006), comparando métodos de extracción, reportan que la extracción más eficiente para suelos volcánicos es una extracción secuencial con HCl, NaOH y resinas Chelex. Por tanto, existe escasa información disponible acerca del efecto del cultivo o de cambio de uso del suelo en las formas de P en suelos temperados de origen volcánico.

4.1.1 Hipótesis de trabajo

Las formas químicas de P en agroecosistemas bajo cero labranza frente a labranza convencional será diferente. La relación monoéster: diéster será menor en Ultisol con cero labranza, como asimismo en el Andisol en los bosques templados con respecto a la pradera antropogénica. Las formas de P en los ecosistemas forestales serán mayoritariamente de naturaleza orgánica y asociado a materia orgánica altamente humificada

4.1.2 Objetivo general

El objetivo general consiste en evaluar cambios en la naturaleza del P en dos ecosistemas a través de la determinación de algunas formas químicas de P en: a) un ecosistema agrícola (Ultisol) sometido a una rotación corta y dos sistemas de labranza: tradicional y cero labranza y b) un Andisol bajo cuatro ecosistemas boscosos templados siempreverde y caducifolios secundarios de diferente manejo silvícola comparado con una pradera natural adyacente

4.1.3 Objetivos específicos

1. Evaluar el efecto de los sistemas de labranza y rotación sobre las formas químicas de P en el suelo

2. Evaluar el efecto de la profundidad de muestreo sobre las formas químicas de P en el suelo
3. Evaluar el efecto del uso de suelo y tipo de bosque sobre las formas químicas de P en el suelo
4. Evaluar el efecto del horizonte orgánico sobre las formas químicas de P en el suelo

4.2 Antecedentes bibliográficos

El análisis del P_o del suelo se puede realizar indirectamente a través de la extracción con ácidos o bases (Bowman y Cole, 1987). A partir del uso de técnicas de cromatografía o electroforesis se ha establecido que el P orgánico en el extractante se distribuye en inositol fosfatos, fosfolípidos, fosfonatos, ácidos nucleicos, fosfoproteínas o esteres solubles en ácidos. Sin embargo, estas técnicas son demorosas y solo un tercio del P_o de suelo puede ser clasificado en uno de estos compuestos (Zhang et al., 1999)

El desarrollo de técnicas de investigación como la espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) provee una forma directa de caracterizar el P_o del suelo. Esta técnica ha permitido determinar las estructuras orgánicas o minerales junto a las cuales se encuentra el P y actualmente se está aplicando a muchos campos de investigación, entre ellos la ciencia del suelo (Briceño, 2001). La RMN se basa en el principio de que los electrones de los átomos de P son magnetizados por la presencia de un campo eléctrico y originan desplazamientos químicos característicos dependiendo del grupo de átomos vecinos junto a los cuales se encuentra emplazado (Briceño, 2001).

Las formas más comunes de P encontradas en suelos son ortofosfatos y pirofosfatos inorgánicos y los compuestos orgánicos polifosfatos, fosfonatos, fosfatos monoéster y diéster (Newman y Tate, 1980; Turner et al., 2003b). En general, los P monoéster son la forma predominante de P_o en los suelos. Estas formas poseen grupos OH^- que por intercambio de ligando forman complejos moderadamente solubles con metales como Fe y Al (Rheinheimer

et al., 2002) que los protege de la degradación (Sumann et al., 1998; Turner et al., 2003b), siendo considerados medianamente lábiles (Tate y Newman, 1982). Entre las formas monoéster, el inositolfosfato es el compuesto que se encuentra en mayor proporción en suelos volcánicos (Borie et al., 1989). Los P monoéster derivan de fosfolípidos originados de la hidrólisis de material vegetal, incluyendo glicerofosfato, inositol fosfato, colina fosfato y otros que son asociados con la cutícula y el tejido de la lámina media y de las membranas celulares (Solomon et al., 2002).

Los P diéster, que incluyen entre otros al ADN y fosfolípidos, se encuentran en menor proporción en el suelo. Estos compuestos son químicamente más lábiles que el P monoéster (Tate y Newman, 1982), debido a que poseen 2 grupos OH⁻ que le confieren una menor densidad de carga y adsorción a los coloides (Rheinheimer et al., 2002). Debido a lo anterior, son más accesibles al ataque microbiano y enzimático que las formas monoéster (Turner et al., 2003c) y de allí que se encuentran en pequeña cantidad en los suelos. En este contexto, Borie y Barea (1985) han reportado valores menores a 1% de P_o en suelos volcánicos. Por la mayor labilidad y accesibilidad a las plantas de las formas diéster, la proporción diéster: monoéster es usada como un indicador de la labilidad del P orgánico (Cardoso et al., 2002). Una disminución en la proporción monoéster: diéster indica un incremento en la actividad microbiana debido a que se considera que el P diéster es derivado de la actividad microbiana (Guggenberger et al., 1996). Briceño et al, (2004) encontraron que en el extracto alcalino el P inorgánico y el P monoéster comprendían entre el 89- 100% del total de P de suelos de origen volcánico del sur de Chile y que el diéster- P y el pirofosfato fueron un 5- 10% y 0-3%, respectivamente, del P total del suelo. Cuando se identifica el tipo predominante de P_o, es posible inferir su disponibilidad para las plantas. Los monoéster P al tener mas alta carga residual se adsorben y se acumulan en los coloides del suelo (Gatiboni et al., 2005).

La espectroscopia ³¹P-RMN puede ser utilizada para obtener estimaciones cualitativas y cuantitativas de varias formas de P del suelo. Analíticamente, es menos compleja que las técnicas de partición cromatográficas requeridas para identificar compuestos específicos de P orgánico (Cade Menun y Preston, 1996). Como los niveles de P son generalmente bajos en el suelo y la ³¹P-NMR es relativamente poco sensible, se requieren más de 100 µg de P mL⁻¹ para

el análisis cuantitativo, por lo que se deben concentrar los extractos previo al análisis por RMN. Un extractante ideal debe remover prácticamente todo el P de la muestra del suelo sin alterar de ninguna forma las formas de P encontradas en el suelo. La mayoría de los estudios utilizan NaOH 0,5 M y ultrasonido (Cade Menun y Preston, 1996), utilizándose también otros tratamientos secuenciales que incluyen HCl, HF, HClO₄ y NaOH 0,5 o 0,1 M, entre otros extractantes.

Una desventaja de estos métodos es que además de P se extraen otros iones paramagnéticos como Mn y Fe, lo que causa ensanchamientos y distorsiones de las señales obtenidas con RMN. Condron et al., (1996), Cade Menun y Preston, (1996) y Briceño et al. (2006) utilizan Chelex, una resina de intercambio catiónica para remover estos iones interferentes. Chelex es una resina de intercambio catiónico quelante que muestra una alta preferencia por Fe y otros metales iónicos polivalentes sobre cationes como Na y K; el orden de preferencia es Fe>Al>>Ca>>>Na. En la forma Na, la resina Chelex es alcalina, dando un pH 11-12, por lo que también puede ser utilizada para solubilizar P orgánico de la muestra. Otros métodos incluyen la mezcla de NaOH y EDTA como quelante en un solo paso (Bowman y Moir, 1993), que aumentan la cantidad de P extraído en comparación con la extracción con NaOH. Sin embargo, fallan en mejorar la calidad del espectro (Briceño et al., 2006).

Trabajando con ³¹P-RMN, Cade-Menun et al. (2000) han establecido que la presencia de P-diéster a través del perfil es típica de bosques sobre suelos ácidos y fríos. Estos autores señalan que la mayoría del P en la hojarasca está bajo formas orgánicas. En el horizonte superior de suelo mineral, el P está mayormente no ocluido, mientras que en el inferior la mayoría del P estuvo ocluido con bajos niveles de P orgánico, principalmente como monoéster. Rubaek et al. (1999) encontraron una mayor proporción de P diéster en un bosque de abetos y bosques de hoja caduca que en suelos bajo pradera y una rotación con labranza tradicional. Neufeldt et al. (2000), quienes trabajaron en Oxisoles encontraron en condiciones naturales (sabana) una proporción de P orgánico mayor a 60% de P_T donde el cultivo y el establecimiento de praderas aumentaba los valores de P recalcitrante. Solomon et al. (2002) y Solomon y Lehmann, (2000) han encontrado la secuencia vegetación nativa > plantaciones >

cultivos para el diéster P. McDowell y Stewart, (2006) encontraron una mayor proporción de P diéster en suelos nativos y menor en pastura y forestaciones.

Algunos estudios en los que se ha usado ^{31}P -RMN han sido orientados hacia la determinación del efecto de los cambios que incluyen suelos de ecosistemas naturales, y cambio de uso del suelo, existiendo relativamente pocos trabajos en que se analiza el efecto de las prácticas agrícolas sobre los contenidos de P orgánico. Se ha reportado que la fertilización incrementa el P inorgánico y en forma menor el P monoéster, mientras que el P diéster no se ve afectado o disminuido (Zhang et al., 1999; Gatiboni et al. 2005). Busato et al. (2005) reportaron un aumento de las formas monoéster con la quema de residuos y acumulación de P diéster con la preservación de los residuos de caña de azúcar. Por otra parte, Mahieu et al. (2000) observaron una acumulación de P diéster con el aumento de la intensidad de cultivo de arroz en Filipinas.

4.3 Materiales y Métodos

Para el análisis espectroscópico mediante ^{31}P - RMN se utilizaron muestras de suelo provenientes de los sitios de Pumalal y San Pablo de Tregua, descritos en los capítulos 2 y 3 , respectivamente. Para el agroecosistema, se analizaron las muestras del año 2005 provenientes de los horizontes 0-5 cm y 10-20 cm de los tratamientos con labranza convencional (LC) y cero labranza (CL) para las rotaciones con avena-trigo (AT) y lupino-trigo (LT). Para los ecosistemas forestales, se seleccionaron las muestras provenientes del horizonte orgánico de bosque siempre verde (BS_1) y renoval (RN_1), como asimismo del suelo (2-20 cm) de los sitios BS_1 , RN_1 y pradera (PR). Las muestras corresponden a suelos tamizados (<2 mm) y guardados a humedad de campo a 4° C.

4.3.1 Procedimiento de extracción para espectroscopia ^{31}P -RMN y condiciones de medición

Para el análisis de espectroscopia ^{31}P -RMN se pesaron muestras de suelo equivalente a 10 g de peso seco las cuales se extrajeron con 75 mL de 1M HCl; la mezcla se agitó por 1h a

temperatura ambiente. La suspensión se separó por centrifugación. El residuo sólido se trató secuencialmente con 125, 75 y 75 mL de 0.5 M NaOH y ultrasonido por 3, 1 y 1 min, respectivamente. Las suspensiones fueron separadas por centrifugación y combinadas. Los extractos ácido y alcalino fueron equilibrados separadamente con 30 g de la forma sódica de la resina Chelex 100, agitadas por 17 h en un agitador recíproco y posteriormente filtrados con microfiltros de 0.45 μm diámetro de poro. El filtrado fue liofilizado, redissuelto en 3,0 mL de D_2O , agitado por 2 h, centrifugado y transferido a tubos RMN de 5 mm.

4.3.2 Experimento RMN

El espectro de ^{31}P -RMN para los extractos de suelo fueron obtenidos a 162 MHz en un espectrómetro Bruker Avance 400 usando un pulso de 70° , un tiempo de adquisición de datos de 0,603 s y un tiempo de relajación de 1 s. Los espectros de ^{31}P fueron desacoplados del protón usando el esquema de estándar de Waltz para evitar el efecto Overhauser. Los desplazamientos químicos fueron medidos con respecto al ácido ortofosfórico. Se acumularon entre 6.000 y 20.000 scan, dependiendo de la muestra, con el fin de obtener un espectro satisfactorio. Se usó el ácido 2- aminoetilfosfónico 0,002 M como estándar interno para determinar la eficiencia de recuperación de las especies de P encontradas por ^{31}P -RMN, el que fue agregado directamente a las muestras. Los porcentajes de las formas de P en el espectro fueron obtenidas por integración.

4.4 Resultados

4.4.1 Distribución de las estructuras de P de los extractos alcalinos

Se caracterizaron variadas formas de los compuestos de P en los extractos de suelo con NaOH-Chelex por espectroscopia ^{31}P -RMN, cuyas diferencias en el entorno químico del núcleo de P, causaron diferencias en las frecuencias de resonancia. las señales obtenidas fueron asignadas de acuerdo a lo propuesto por Newman y Tate (1980). En la figura 4.1 se puede observar la distribución de las formas de P en un modelo de ^{31}P -RMN. En general, la señal del estándar interno utilizado se observó alrededor de $\delta = (+19.0)$ - $(+20)$ ppm. Señales

intensas de P inorgánico resuenan en torno a $\delta = (+5.7)$ - $(+6.3)$ ppm. Las señales intensas entre $\delta = (+4.5)$ - $(+5.3)$ ppm representan fosfatos monoéster, una forma diversa de P que contiene inositolofosfatos, azúcarfosfatos y mononucleótidos (Newman y Tate, 1980). La señal correspondiente a P diéster, habitualmente menos significativa, aparece en un rango de $\delta = (+1.5)$ - $(0,5)$ ppm y la señal correspondiente a pirofosfato se encuentra alrededor de $\delta = (-4)$ - (-5) ppm. El espectro de ^{31}P -RMN de estos suelos no muestra la presencia de polifosfatos, que usualmente resuenan en torno a $\delta = (-20)$ ppm (Fig. 4.2 y 4.3).

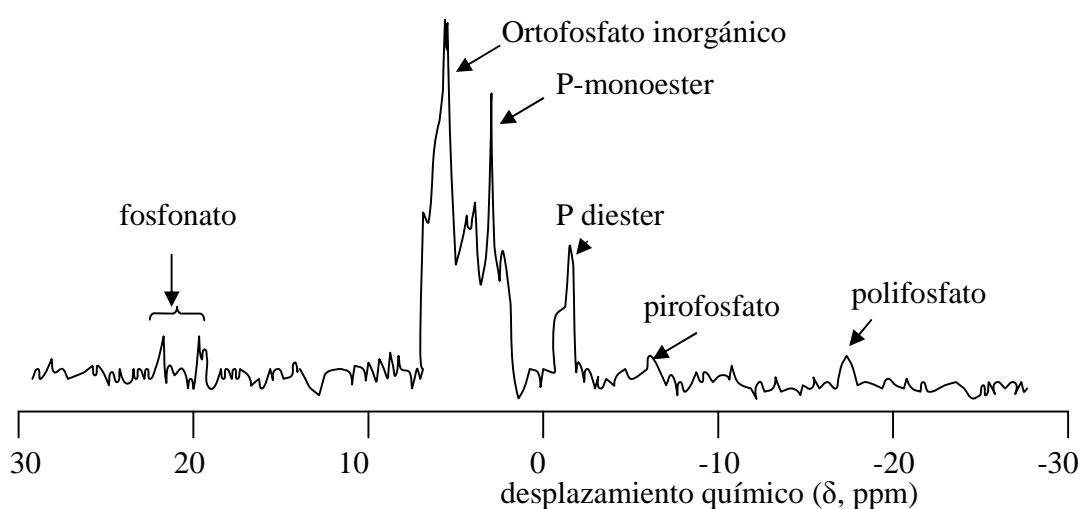


Fig. 4.1. Distribución de P en los suelos de acuerdo a un espectro modelo de ^{31}P -RMN

En la Fig. 4.2 se puede observar los espectros de ^{31}P -RMN correspondiente a la extracción alcalina del Ultisol. No fue posible distinguir con total precisión la señal correspondiente a P monoéster y P inorgánico y en algunas, la señal correspondiente a P diéster apenas fue cuantificable. La señal de P asociado a monoéster en lo general es bastante ancha, especialmente en los suelos bajo la rotación que incluye lupino, las cuales además tuvieron la mayor cantidad de señales de diéster y pirofosfato. En general, todos los espectros tuvieron una buena relación señal ruido, mejor que en los Andisoles, pero la separación de las señales fue más deficiente.

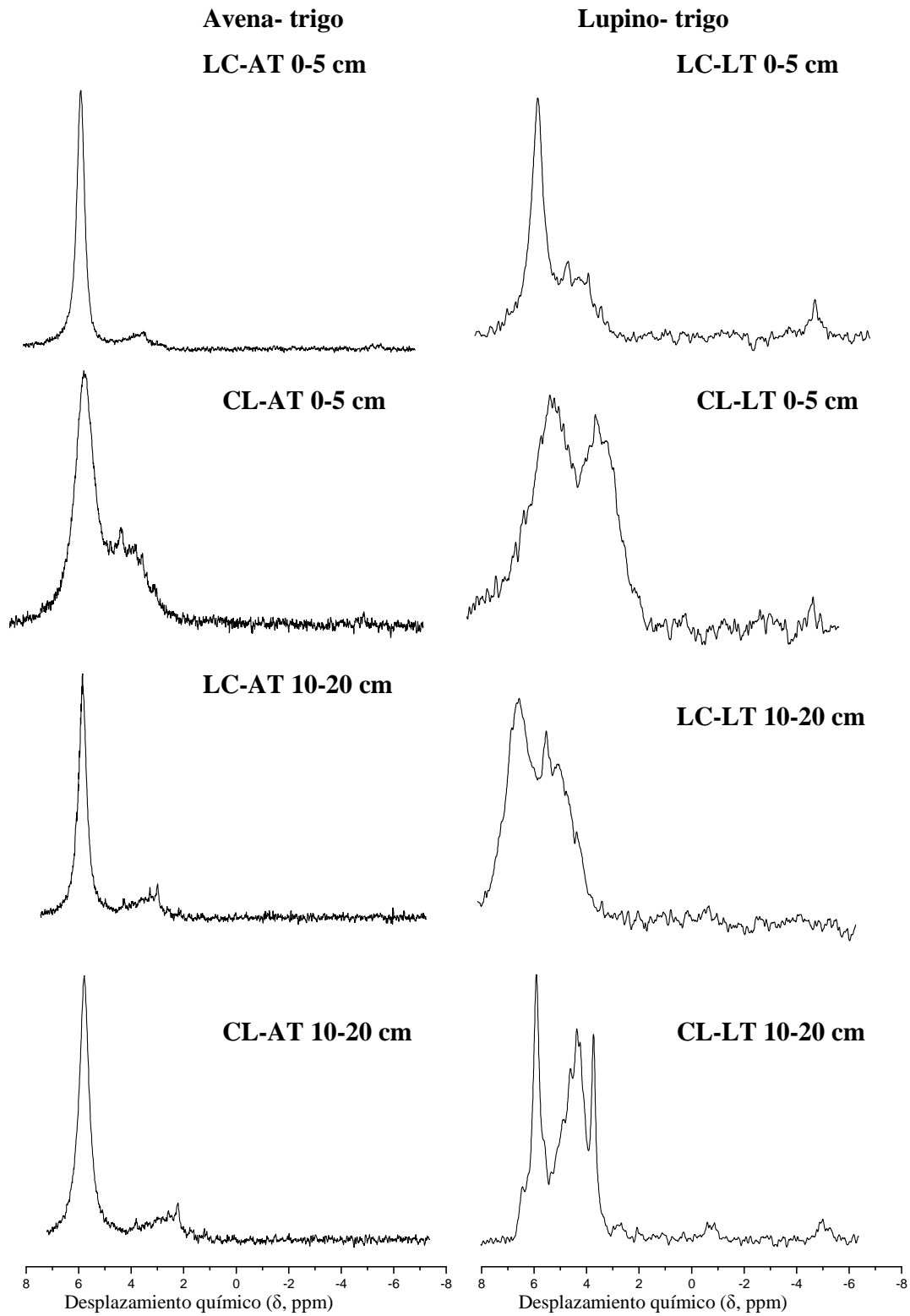


Fig. 4.2. Señales de P obtenidas por ^{31}P -RMN en Ultisoles. LC: labranza convencional; CL: labranza convencional; A: avena; T: trigo; L: lupino.

La contribución relativa (en %) de las áreas de los picos de las formas de P están dadas en la Tabla 4.1. En ella se observa que las formas de P_i en el Ultisol alcanzan al 66% (Tabla 4.2); el doble que en los Andisoles. Esto puede ser debido a la deficiente resolución de señales, especialmente en los suelos bajo rotación AT, en la que el fosfato comprende un 79% del P extraído. En estos suelos, casi todo el P restante (19% en promedio), está bajo la forma monoéster. Los suelos bajo rotación LT, tuvieron la mayor proporción de P diéster, (10% en promedio), monoéster (37%), y pirofosfato (4%). El contenido de fosfato fue mayor en la superficie y con LC. El contenido de P monoéster fue mayor en los suelos superficiales con CL (35% en promedio) y en los 10-20 cm con la rotación LT (42%).

Tabla. 4.1

Contribución relativa de las formas de P (%) de cada especie y relación P monoéster: P diéster de los suelos estudiados.

suelo	uso	estrata	tipo	P inorgánico		P orgánico		P _{monoéster} / P _{diéster}	
				Ortofosfato	Pirofosfato	Monoéster	Diéster		
labranza rotación									
Ultisol	cultivo	0- 5 cm	LC	AT	90		9	1	10,0
				LT	60	5	24	12	2,0
		CL	AT	64		31	5	6,6	
			LT	57	1	38	4	9,4	
	10-20 cm	LC	AT	82		17	1	20,8	
			LT	53	1	38	8	4,8	
		CL	AT	78		21	1	26,3	
			LT	30	9	46	16	2,9	
Andisol	bosque	horizonte orgánico	BS ₁	46	2	36	15	2,4	
			RN ₁	27		41	31	1,3	
	suelo (2- 20 cm)	BS ₁	35	1	52	11	4,5		
		RN ₁	25	3	55	16	3,4		
	pradera	2- 20 cm		31	1	51	18	2,9	
Promedios									
Ultisol					64	2	28	6	10,4
Andisol					33	1	47	18	2,9

LC: labranza convencional; CL: cero labranza; A: avena; T: trigo; L: lupino; BS: bosque siempreverde; RN: renoval.

En la Fig 4.3 se puede observar los espectros de ³¹P- RMN correspondiente a la extracción alcalina de los Andisoles. Al igual que en el Ultisol, en algunas de estas señales no fue posible distinguir con total precisión la señal correspondiente a P monoéster y P inorgánico. La señal de P asociado a monoéster en lo general es bastante ancha y denota que

existe más de un tipo de monoéster. En el horizonte orgánico de los bosques, la relación señal:ruido fue mas baja que en los suelos y la mayor diversidad de señales se pudo observar en el suelo del bosque y de la pradera. El espectro de la pradera y el suelo del bosque siempreverde presentan un mayor grado de similitud que el del renewal con éstas dos.

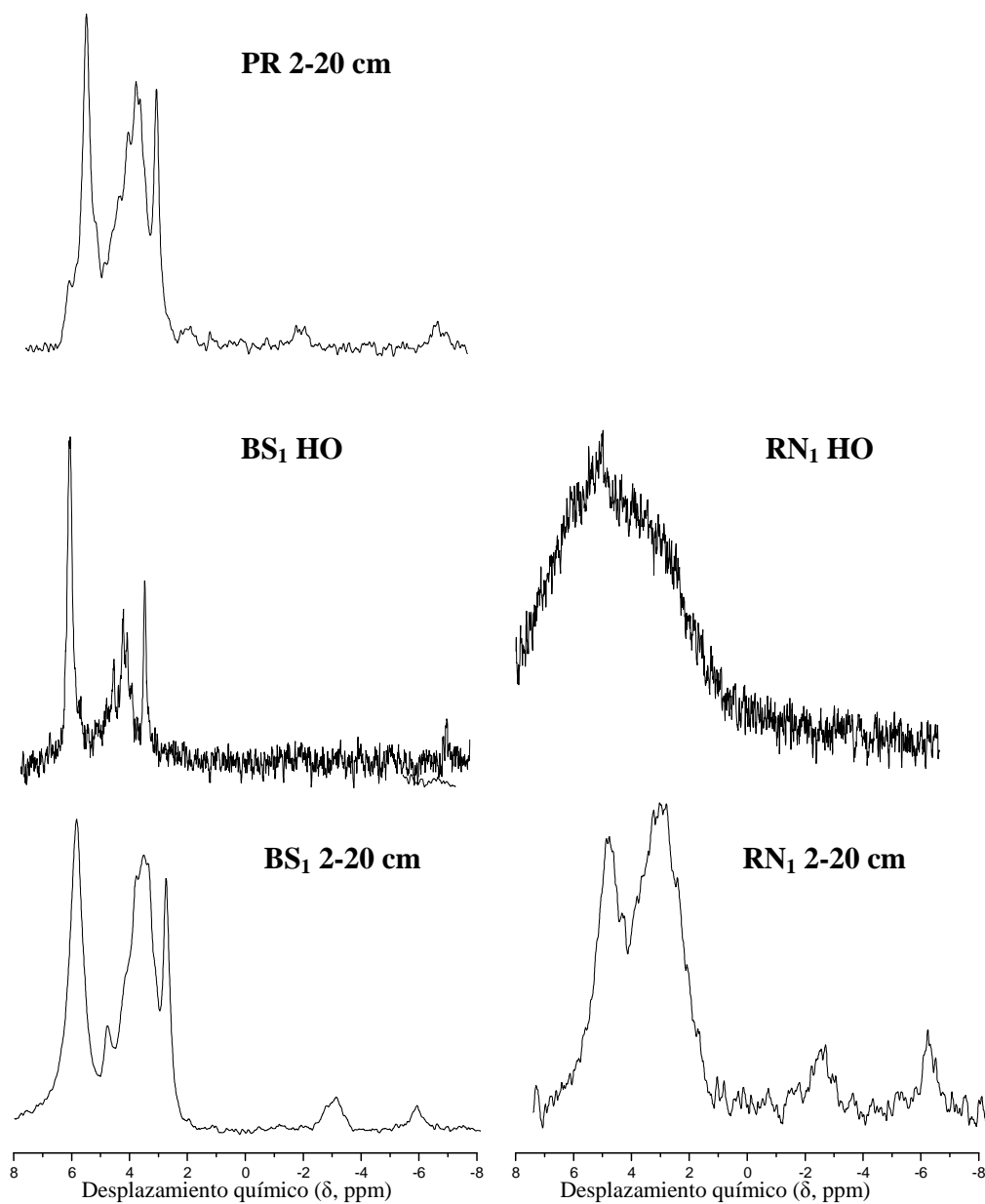


Fig. 4.3. Señales de P obtenidas por ^{31}P -RMN en Andisoles. PR: pradera; BS: bosque siempreverde; RN: renewal; HO: horizonte orgánico.

En Andisoles se observa que en promedio, un 33% del P está como ortofosfato, un 47% en la forma monoéster y un 18 % en la forma diéster (Tabla 4.1). En todas las muestras, el P monoéster fue predominante, especialmente en el suelo, en donde representó un 52% del P extraído con NaOH. En cambio, en el horizonte orgánico se encontró una mayor proporción de P diéster y fosfato que en el suelo. En el renoval se observó la mayor proporción de P monoéster y diéster, alcanzando un 72 % del P, mientras que en el bosque siempreverde, éstas formas de P_o solo representaron un 42%. La mayor proporción de P diéster se encontró en los suelos de RN₁, reflejada en la menor proporción monoéster:diéster.

4.5 Discusión

En este experimento se utilizó la extracción alcalina con NaOH con la incorporación de la resina Chelex 100, debido a que se ha comprobado que esta última en la extracción incrementa la razón señal-ruido y permite la distinción de P inorgánico, P monoéster, P diéster y pirofosfato (Briceño et al., 2006). También se incorporó, como paso previo, la extracción con HCl, debido a que se ha reportado que mejora la razón señal ruido en suelos con alto contenido de materia orgánica, mientras que la extracción NaOH-EDTA es eficiente solamente en suelos con bajo contenido de materia orgánica (Briceño et al., 2006), porque EDTA también aumenta la extracción de iones paramagnéticos como Fe y Mn que causan el ensanchamiento y distorsión del espectro (Cardoso et al. 2002). Sin embargo, todas estas medidas fueron insuficientes para obtener espectros de óptima calidad, debido a que la razón señal ruido no fueron satisfactorias para el horizonte orgánico de los bosques ni la separación de las señales en el Ultisol, por lo que solamente se identificaron las formas principales de P, sin entrar a determinar las señales provenientes de compuestos específicos, como inositolfosfatos. La relación señal: ruido fue mejor en el Ultisol, lo que concuerda con Briceño et al. (2002). En los Andisoles se encontró una mayor diversidad de formas de P en los suelos, especialmente BS₁, lo que concuerda con lo reportado por Dai et al., (1996) para suelos forestales, lo que puede deberse a la mayor acidez de este suelo (Cade-Menun, 2005).

En el Andisol, un 66% del P se encuentra en las formas de P_o , lo que concuerda con los resultados del fraccionamiento químico descrito en el capítulo 3 que en que las fracciones

de P_o comprenden un 77% de las fracciones lábiles y relativamente lábiles, y por otra parte el P_o total representa un 56 % del P_T . Los contenidos de P_o aquí determinados son mayores a los reportados por Briceño et al (2004) para Andisoles no cultivados. Los mayores contenido de P_i se encontraron en el horizonte orgánico, además de P diéster en el bosque deciduo, lo que se puede relacionar con mayores contenidos de P microbiano y $P_i \text{ NaHCO}_3$ (Capítulo 3), de acuerdo a los resultados obtenidos por Canellas et al. (2004) en bosques secundarios en Ultisoles brasileños. En la literatura, se reporta que la cantidad de P diéster se incrementa en suelos con adición de residuos, especialmente en suelos agrícolas (Canellas et al., 2004; Mahieu et al., 2000), mientras que en suelos forestales el P diéster se acumula en el suelo debido a la falta de degradación debida a factores ambientales desfavorables, como acidez y bajas temperaturas (Turrión et al. 2000b; Cade Menun, 2005). En este bosque, el pH es más alcalino que en BS_1 y las otras condiciones son similares para ambos tipos de bosque. Por otra parte, la recalcitrancia de las hojas de RN_1 es menor a las de BS_1 (Capítulo 3), por lo que su mayor reciclaje, biomasa y actividad microbiana serían la causa de esta acumulación.

En los Andisoles predomina el P monoéster (47%), valor muy cercano a lo reportado por Briceño et al (2004) en este tipo de suelos, lo que se puede relacionar con el contenido de $P_o\text{-NaOH}$, que alcanza un 69% del P lábil+ relativamente lábil. Esto puede deberse a una mayor estabilización del P (Amelung et al., 2001). El P monoéster está constituido principalmente por inositolfosfatos, que constituyen en promedio el 58% del P_o en suelos chilenos (Borie y Rubio, 2003) y son un remanente de la biomasa que deriva del P_i presente en los suelos (Condrón et al., 1990). Estos compuestos están sujetos por sorción química a compuestos de Fe y Al a la superficie del suelo y protegidos de reacciones de desfosforilación, resistiendo ataques microbianos y enzimáticos, siendo persistentes en el suelo (Zhang et al., 1999). En cambio, en los Ultisoles predomina el P fosfato (65%), con un menor contenido de P_o , lo que concuerda con Briceño et al (2004) al comparar estos dos tipos de suelo. Este efecto también puede atribuirse en parte al cambio de uso del suelo, lo que está ampliamente respaldado por la literatura (Rubaeck et al., 1999; Zhang et al., 1999; Solomon et al., 2002; Cardoso et al., 2002) y a factores climáticos distintos, como las precipitaciones y la temperatura (Amelung et al., 2002; Turrión et al., 2001).

La proporción de P_i obtenida por RMN es mayor a obtenida por el fraccionamiento químico para estos suelos, en que las fracciones de P_i representan un 45% del P lábil+relativamente lábil extractado y el P_i total representa un 48% del P_T . Estas diferencias pueden atribuirse a un acoplamiento parcial de las señales de RMN para el fosfato y el monoéster, o a la hidrólisis de compuestos orgánicos de P durante la extracción (Briceño et al., 2004) la cual en este caso es con NaOH más concentrado (0,5 M en vez de 0,1M) y con la ayuda de ultrasonido, lo cual favorece el proceso de hidrólisis.. La proporción de P_i encontrada es menor a la reportada por estos autores, quienes asimismo encontraron una mayor proporción de P_i con RMN que con fraccionamiento químico para Ultisoles (Escudey et al., 2001).

La proporción de P_i fue mayor en los primeros 5 cm del suelo, corroborando los resultados del fraccionamiento químico (Capítulo 2), y que se debe a la mayor fertilización con P_i recibida por el horizonte superficial. Esta acumulación fue mas marcada en suelos bajo LC, y puede deberse a la acción mineralizadora del fuego usado en la quema de residuos (Cade-Menun, 2005). Por otra parte, el contenido de P monoéster fue mayor con cero labranza (35%) sobre LC (23%), especialmente en los primeros centímetros del suelo, atribuible a la acumulación de residuos con CL (Zhang et al., 1999; McDowell et al., 2002; Busato et al., 2005). La rotación LT tuvo mayores contenidos de P_o y una menor relación monoéster/diéster, lo que puede deberse a la menor relación lignina/N de las leguminosas, y promover la acumulación de P diester (Canellas et al., 2004), lo que también se observó en este estudio, especialmente en los 10- 20 cm. De igual manera, se observa que la rotación LT presentó un mayor porcentaje de monoésteres, lo cual sugiere una mayor solubilización de inositolfosfato de Fe y Al debido a la exudación de citrato, lo que es habitual en las raíces de leguminosas (Neumann y Römheld, 1999), lo que se puede relacionar además con contenidos más altos de C microbiano (Redel et al., 2007).

El contenido de P diéster en Ultisoles sólo representó un 6%, siendo mayores a los encontrados por Briceño et al. (2004) para este tipo de suelos. En suelos chilenos se ha encontrado que los niveles de P diéster como también los fosfolípidos contenidos en esta fracción son inherentemente bajos en suelos con alta actividad microbiana (Borie y Barea, 1985; Bishop et al., 1994) y pueden ser fácilmente hidrolizados durante la espectroscopía con

RMN (Briceño et al., 2004). La proporción de P diéster fue ligeramente superior en los 10- 20 cm, lo que está de acuerdo a su menor P y C microbianos (Capítulo 2; Redel et al., 2007), y a la mayor concentración de P fertilizante recibida por la estrata superior (Gatiboni et al., 2005).

El pirofosfato se observó en la mayoría de las muestras , especialmente en los 10-20 cm del agroecosistema y en el suelo de bosque. No se tiene muy claro en la literatura el origen de esos compuestos, indicándose como fuentes la degradación microbiana de la materia orgánica persistente y recalcitrante (Briceño et al., 2004), o de hongos del suelo (Makarov et al., 2005; McDowell et al., 2007), o ser producto de la hidrólisis de polifosfato y de ésteres hidrolizados en la extracción (Dai et al., 1996). En cambio, no se encontraron polifosfatos, los que son de fácil descomposición y regularmente se observan en suelos con un elevado contenido de materia orgánica y baja actividad microbiana (Makarov et al., 2002) y no en suelos agrícolas (Gatiboni et al., 2005).

La eficiencia en la extracción de P medida como el P extraído por NaOH/ Chelex alcanza el 52 % del P_T como promedio, lo que es inferior a lo obtenido por Briceño et al. (2006) en Ultisoles, quienes obtuvieron un 76% de eficiencia para la misma técnica de extracción. Los menores contenidos de C_o de los suelos utilizados por dichos autores puede ser la razón de una mejor eficiencia de extracción obtenida. Otros autores reportan eficiencias de extracción menores en suelos de estepa (Amelung et al., 2001) o en bosques canadienses similares a los obtenidos en este estudio (Cade Menun et al., 2000).

En este estudio, sólo se confirmó parte de la hipótesis, demostrando las formas de P en los ecosistemas forestales son mayoritariamente de naturaleza orgánica, comparadas a la pradera y al agroecosistema. Sin embargo, se observó que la relación monoéster: diéster fue mayor en el Ultisol con cero labranza y en el Andisol, no hubieron diferencias entre el suelo bajo bosque y la pradera.

4.6 Conclusiones

- El análisis con ^{31}P -RMN revela diferencias en las formas de P entre los Andisoles y Ultisoles estudiados. En el primero predominan las formas de P orgánico, mientras que en el segundo las de P_i . Esta diferencia puede atribuirse a factores edafoclimáticos y de manejo.
- La forma predominante de P en el Andisol fue la forma monoéster, especialmente en el suelo. El tipo de bosque afecta la proporción de las formas de P, presentando el renoval mayores contenidos de P monoéster en el suelo y P diéster en el horizonte orgánico que el bosque siempreverde y la pradera.
- En el Ultisol, la mayor diferencia en los espectros se obtuvo comparando los distintas rotaciones, observándose una mayor proporción de P monoéster y diéster con la rotación lupino- trigo que con avena- trigo. Además, se pudo observar una acumulación de P_i en suelos superficiales y P monoéster con cero labranza.

CAPÍTULO 5

Proyecciones y Conclusiones Generales

En esta tesis se corrobora la hipótesis general planteada que señala que las fracciones de P y labilidad de ellas difieren en suelos de agroecosistemas cuando se les compara con los provenientes de bosques templados y pradera natural. En el agroecosistema, la cero labranza conllevará a una acumulación de las diferentes formas de P en la capa superficial del suelo frente a labranza convencional, mientras que en los ecosistemas forestales, las formas de P serán mayoritariamente de naturaleza orgánica, especialmente en la cubierta orgánica. Sin embargo, las hipótesis planteadas en cada capítulo sólo se cumplen parcialmente al observar nuestros resultados obtenidos. De este modo, se pudo constatar que el efecto de la labranza planteada en nuestra hipótesis es demasiado evidente, comparado con el efecto de la rotación. Este último efecto no fue observable a través de un sencillo análisis estadístico de cada año por separado de las fracciones de P como lo fue el efecto de la labranza, sino que fue necesario un análisis más complejo que involucró 4 años de muestreo y se hizo más evidente al final del período estudiado, especialmente con el estudio con ^{31}P -RMN.

En los ecosistemas forestales, se encontró mayor cantidad de formas orgánicas de P tanto por el fraccionamiento secuencial de P como por el análisis con ^{31}P -RMN. No obstante, no se corrobora la parte de la hipótesis referente a que en el bosque siempreverde se encontrarán las mayores proporciones de P orgánico asociado a materia orgánica altamente humificada, sino que fue la pradera la que tuvo más formas de P orgánico moderadamente lábil. Lo anterior puede atribuirse a la falta de un horizonte orgánico que afectó la labilidad de las fracciones de P contenidas en el suelo.

De acuerdo al objetivo general, se evaluaron cambios en la naturaleza y labilidad de P en ecosistemas agrícolas y forestales. Para los agroecosistemas se determinó una acumulación esperada de P total, lábil y microbiano con cero labranza en la estrata superficial con respecto

a la labranza convencional y una mayor proporción de formas orgánicas de P determinada por ^{31}P -RMN con la rotación lupino trigo con respecto a la rotación avena trigo al final del período. Una mayor actividad P-asa en esta rotación pudo haber contribuido a la mayor proporción de formas orgánicas de P. En los ecosistemas boscosos, se evaluó que los distintos tipos de bosque difieren en su biodisponibilidad de P. En este sentido, el contenido de las fracciones de P fueron mayores en el bosque siempreverde no intervenido que en los bosque caducifolios o en el siempreverde con intervención antrópica. Los suelos bajo renovales presentaron una mayor proporción de P orgánico diéster, mientras que el suelo del bosque siempreverde presentó los mayores contenidos de P microbiano. En la hojarasca se acumularon las formas más lábiles de P, como asimismo de actividad P-asa. En cambio, en la pradera se observó la menor disponibilidad de P, con una mayor concentración de P orgánico moderadamente lábil.

En el ecosistema Pumalal, la observación repetida por varios años fue fundamental para establecer efectos no solo de la labranza, sino también de la rotación. Además, distintos factores medioambientales y bióticos pueden afectar el contenido y las formas de P durante el año, por lo que un estudio más detallado con varias repeticiones y/o por un período más extenso serían útiles para el estudio de P en el suelo. También resultaría conveniente, la inclusión de otros tipos de especies cultivadas, tanto de uso intensivo del suelo (ej. *Solanum tuberosum*) o de uso extensivo (como una pradera permanente).

Con respecto al estudio del P en los ecosistemas forestales, una de las fortalezas de este estudio fue la elección de bosques prístinos con una mínima depositación aérea de P y de otros nutrientes y la proximidad geográfica de los sitios escogidos, cubriendo un área suficiente para conservar sus características de ecosistema natural. En este experimento sólo se evaluaron bosques con dos tipos de especies de *Nothofagus* y una pradera, siendo de suma utilidad el estudiar en futuros trabajos el efecto de plantaciones exóticas y de otras especies nativas, que pueden presentar características importantes y peculiares en el ciclado del P y que eventualmente se podrían complementar con un agroecosistema a través de la agroforestería. Otra limitación de este estudio es de que solo comprendió el P en el suelo, sin medir las entradas y salidas del sistema, como lo son habitualmente la pérdida de P a los cuerpos

acuíferos y la exportación a través de la fauna y antrópica como la exportación de madera y de cenizas con la quema de residuos.

Cabe resaltar que en esta tesis se estudiaron dos tipos de ciclados de P, el del agroecosistema, que es un ciclo abierto, que posee entradas de P provenientes de fertilizantes y salidas en forma de producto cosechado, residuos transportados fuera del área y erosión eólica principalmente. En este ecosistema, las mayores entradas de P resultaron en la acumulación, con el tiempo, de P en el suelo. En los ecosistemas forestales, en cambio, las entradas y salidas de P son mínimas, produciéndose un ciclo de P eventualmente cerrado a corto plazo. Sin embargo, cada manejo o perturbación histórica efectuada a este ecosistema, resultó en una reducción del contenido de las diversas fracciones de P, lo que es natural, tomando en cuenta que en estos ecosistemas naturales no reciben adición de P derivadas de fertilizantes. Debido a lo anterior, el contenido de P refleja en cierta medida, el grado de intervención antropogénica y perturbación natural sufrida por el ecosistema a largo plazo, con mayores contenidos de P en ecosistemas más prístinos. En cambio, en los agroecosistemas, el contenido de P refleja en cierta medida, la intensidad de uso comercial del suelo, con un mayor contenido de P en agroecosistemas más explotados comercialmente, con fuertes adiciones de P, o en un sentido más general, del tipo de explotación agrícola (comercial o de subsistencia).

Con respecto a las metodologías empleadas en este estudio, el fraccionamiento de P resultó ser un instrumento útil, eficiente y relativamente barato y accesible en la determinación de la labilidad del P. Especialmente útil fue la incorporación de resinas de intercambio aniónico, método que destaca por su simplicidad y confiabilidad de resultados, por lo que sería conveniente implementar éste método en forma comercial para la determinación de P disponible en los suelos, tal como se ha hecho en otros países, como Nueva Zelanda. Este reemplazo de metodologías abre otros campos de investigación a nivel local, como es el desarrollo de equivalencia entre este método y P-Olsen, que es el comúnmente utilizado, siendo necesaria la determinación de estas equivalencias para los distintos tipos de suelo existente en Chile. Por otra parte, el empleo de técnica de fumigación líquida y extracción resultó útil para la determinación del P microbiano y también podría implementarse a nivel comercial como una alternativa de medición de P.

En cambio, el uso de técnicas más sofisticadas, como ^{31}P -RMN muestran una gran complejidad y para su ejecución se requieren de muchos recursos, siendo más baja su eficiencia para la determinación de P. Además, el alto contenido de iones paramagnéticos de los suelos del sur de Chile que interfieren en la lectura y la complejidad en la preparación de las muestras restan versatilidad a esta metodología. Cabe destacar que existe muy poca investigación con respecto al efecto de los cultivos en las formas de P con el uso de este recurso, el que en esta tesis fue fundamental para reflejar diferencias con respecto a la rotación de cultivos. En este aspecto, la rotación lupino-trigo mostró grandes diferencias, con un contenido mayor de P monoéster y diéster que la rotación avena trigo, por lo que la investigación de plantas alternativas a la rotación como lupino, resultaría interesante.

Las técnicas empleadas para determinar contenidos, labilidad y formas químicas de P sólo interpretaron de forma limitada el tema de la disponibilidad de P, debido a que el fraccionamiento sólo considera el P extraído físicamente por agitación y químicamente, por la adición de reactivos extractante de P y el análisis espectroscópico sólo entrega otra aproximación acerca del entorno químico en que se encuentra el P, considerando grupos funcionales. Sin embargo, la disponibilidad de P es afectada por múltiples factores no considerados en este estudio y también se debe considerar como objetivo a investigar el “para que” se requiere cierta disponibilidad de P. Los requerimientos y la capacidad de extracción de P desde el suelo varían según la especie considerada, su desarrollo y medio ambiente. Asimismo, cada especie tiene sus propias adaptaciones para absorber el P en forma eficiente, estrategia que están más desarrolladas en algunas especies en particular.

Aún falta mucha investigación para determinar en qué medidas estas estrategias, entre las que se pueden mencionar la exudación de ácidos quelantes, secreción de fosfatasa, asociaciones con microorganismos de vida libre o simbiotes, morfología radical, etc. afectan la disponibilidad de P, por lo que sería importante orientar la investigación en desarrollar metodologías que determinen la disponibilidad de P de acuerdo a los mecanismos que posee la planta en absorber el P y de sus requerimientos fisiológicos. Otro aspecto importante es el comportamiento en comunidad de las distintas plantas, debido a su posible complementariedad

y/o competencia de sus sistemas radicales, como asimismo el efecto de la comunidad de plantas en el desarrollo aéreo y sus posibles repercusiones en la demanda de P.

Otro aspecto a considerar es el efecto de cada uno de los componentes en la ciclado del P, los que sólo fueron considerados en esta tesis como un conjunto. Entre estos componentes se deben considerar los flujos de P existentes entre la planta y el suelo, y dentro de la planta, el contenido de P de las hojas y sus variaciones estacionales. Con respecto al suelo, en ecosistemas forestales la cubierta orgánica es de vital importancia, como asimismo el P contenido en bacterias y hongos, siendo el P contenido en estas últimas, de gran importancia en el tipo de suelos estudiados es esta tesis. La ciencia aún no se ha desarrollado técnicas que permitan determinar de forma cuantitativa todos los flujos de P necesarios a determinar, como por ejemplo, la cuantificación del P aportado por los microorganismos. Asimismo, para la realización de un estudio acabado, se debe considerar el ecosistema in situ, aplicando técnicas de muestreo que abarquen el volumen entero explorado por la planta. Esto requiere de un gran numero de muestras y de técnicas de muestreo con intervención mínima del suelo, y también de un análisis de P más sencillo y aplicable en campo.

En el contexto de la globalización y del cambio climático, el recurso suelo se ve cada vez más amenazado, tanto en cantidad y calidad de éste, lo que traerá no solamente consecuencias medioambientales, sino también afectando la calidad de vida de la humanidad, tanto en la disponibilidad per cápita de recursos, así como la distribución equitativa de éstos. Con respecto a los agroecosistemas, entre estos factores se pueden mencionar la intensificación de la agricultura con elevada aplicación de fertilizantes y de P en particular, así como el agotamiento de las fuentes naturales de reservas de P, la exportación de productos agrícolas a los países desarrollados, la pérdida de cosechas debida a catástrofes climáticas cada vez mas recurrentes producto del calentamiento global y del aumento de la concentración de CO₂ en la atmósfera. Por otra parte, los ecosistemas forestales se ven cada vez más amenazados por la presión demográfica, la necesidad de producción de energía para sostener el aumento del desarrollo, la polución del aire y consiguiente alteración de entradas y salidas de nutrientes en los ecosistemas, la pérdida del entorno ecosistémico debido a la fragmentación de éstos y consiguiente pérdida de la fauna. En el caso del P en particular, se

demostró que la intervención antrópica disminuye su contenido en el suelo, pero no necesariamente su labilidad. A partir de esta observación, sería necesario cuantificar las pérdidas de P a otros ecosistemas adyacentes, como son los cuerpos acuíferos, que al recibir adiciones de P soluble, perjudica su funcionamiento natural.

Como conclusión, se puede señalar que los diseños experimentales implementados para determinar las formas de P (fraccionamiento químico y ^{31}P -RMN) en el suelo fueron en general adecuados y permitieron dar cumplimiento a los objetivos planificados originalmente en esta Tesis. Del cumplimiento de tales objetivos se pueden concluir que en el agroecosistema Pumalal se pudo observar que las formas de P son afectadas por los factores que se analizaron, la rotación y la labranza. En este contexto, la inclusión de lupino reporta los mayores efectos benéficos en la labilidad del P, especialmente al último año del experimento, mientras que la cero labranza se observó la mayor acumulación superficial de P. Por otra parte, en los ecosistemas boscosos, el establecimiento de un bosque secundario y de una pradera redujeron los contenidos de P en el suelo. Sin embargo, el efecto de la intervención antrópica sobre la biodisponibilidad del P sólo fue negativa en el caso de la pradera. Finalmente, los impactos de la intervención antrópica se vieron reflejados en ambos ecosistemas, reflejándose las entradas y salidas del P en las variaciones del P total en el ecosistema. Sin embargo, su efecto negativo o positivo dependerá de las características de cada ecosistema y de la intervención realizada.

Referencias

- Álvarez, M., Gieseke, A., Godoy R., Härtel, S. (2006). Surface-bound phosphatase activity in ectomycorrhizal fungi. A comparative study between a colorimetric and microscope-based method. *Biol. Fertil. Soils* 42: 561-568.
- Alvear, M., Rosas, A., Rouanet, J.L., Borie F. (2005). Effects of three soil tillage systems on some biological activities in an Ultisol from Southern Chile. *Soil Till. Res.* 82: 195-202.
- Amelung, W., Rodionov, A., Urusevskaja, I., Haumaier, L., Zech, W. (2001). Forms of organic phosphorus in zonal steppe soils of Russia assessed by ^{31}P NMR. *Geoderma* 103: 335-350.
- Aulakh, M.S., Kabba, B.S., Baddesha, H.S., Bahl, G.S., Gill, M.P.S. (2003). Crop yields and phosphorus fertilizer transformations after 25 years of applications to a subtropical soil under groundnut-based cropping systems. *Field Crops Res.* 83, 283-296.
- Araújo, M., Schaefer, C., Sampaio, E. (2004). Soil phosphorus fractions from toposequences of semi- arid Latosols and Luvisols in northeastern Brazil. *Geoderma* 19:309-321.
- Arroyo, M., Armesto, J., Roíz, R., Peñaloza, A. (1999). Bases de la sustentabilidad ecológica y sus implicancias para el manejo y conservación del bosque nativo en Chile. En: Donoso, C., Lara, A. (Eds.). *Silvicultura de los Bosques Nativos de Chile*. Ed. Universitaria, Santiago. pp. 35-68.
- Asner, G., Townsend, A., Bustamantes, M., Nardoto, G., Olander, L. (2004). Pasture degradation in the central Amazon: linking changes in carbon and nutrient cycling with remote sensing. *Global Change Biology* 10: 844-862.
- Ball-Coelho, B., Salcedo, I., Tiessen, H., Stewart, J. (1993). Short- and long- term phosphorus dynamics in a fertilized Ultisol under sugarcane. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 57:1027-1034.
- Balota E, Colozzi D, Dilho A, Andrade D, Dick R (2003) Microbial biomass in soils under different tillage and crop rotation systems. *Biol. Fertil. Soils* 38:15-20.
- Barnes, B., Zak, D., Denton, S., Spurr, S. (1998). *Forest Ecology*. 4^o Ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, 774p.
- Basamba, T. Barrios, E., Améquita, E., Rao, I., Singh, B. (2006). Tillage effects on maize yields in a Colombian savanna oxisol: Soil organic matter and P fractions. *Soil Till. Res.* 91:131-142
- Beck, M.A., Sanchez, P.A. (1994). Soil phosphorus fraction dynamics during 18 years of cultivation on Typic Paleudult. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 58:1424-1431.
- Belay, A., Claasens, A., Wehner, F. (2002). Effect of direct nitrogen and potassium and residual phosphorus fertilizers on soil chemical properties, microbial components and maize yield under long-term crop rotation. *Biol Fertil. Soils* 35:420-427.
- Binkley, D., Giardina, C., Bashkin, M. 2000. Soil phosphorus pools and supply under the influence of *Eucalyptus saligna* and nitrogen- fixing *Albizia facaltaria*. *For Ecol. Manage.* 128:241-247.
- Bishop, M., Chang, C., Lee, R. (1994). Enzymatic mineralization of organic phosphorus in a volcanic soil in Chile. *Soil Sci.* 157:238-243.

- Blake, L., Johnston, A.E., Poulton, P.R., Goulding, K.W.T. (2003). Changes in soil phosphorus fractions following positive and negative phosphorus balances for long periods. *Plant Soil* 254:245-261.
- Borie, F., Zunino, H. (1983). Organic matter P associations as a sink in P-fixation processes in allophanic soils of Chile. *Soil Biol. Biochem.* 15:599-603.
- Borie, F., Barea, J. (1985). Occurrence of lipid-P in volcanic ash derived soils of Chile. *Agrochimica* 28: 317-324.
- Borie, F., Rubio, R. (2003). Total and organic phosphorus in Chilean volcanic soils. *Gayana Bot. (Chile)* 60:69-78.
- Borie, F., Rubio, R. y Moraga, E. (1989). Macromolecule- P associations and inositol phosphates in some Chilean volcanic soils of temperate regions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 20: 1881-1884.
- Borie F., Rubio R., Schalchli., C. (1998). Micorrizas arbusculares y actividad fosfatásica de diez cultivares de trigo. *Agric. Téc. (Chile)* 58:47-55.
- Borie, F., Catalán, Z., Castillo, C., Bernier, R. (1990). Phosphorus changes in two volcanic soils as influenced by P- fertilization. *Trans. 14th Int. Soil Sci. Congress. Kyoto, Japan, II*, 192-197.
- Borie, F., Rubio, R., Morales, A., Castillo, C. (2000). Relationships between arbuscular mycorrhizal hyphal density and glomalin production with physical and chemical characteristics of soils under no-tillage. *Rev. Chil. Hist. Nat. (Chile)* 73:749-756.
- Borie, F., Redel, Y., Rubio, R., Rouanet, J.L., Barea, J.M. (2002). Interactions between crop residues application and mycorrhizal developments and some soil-root interface properties and mineral acquisition by plants in an acidic soil. *Biol. Fertil. Soils* 36:151-160.
- Borie, F., Rubio, R., Rouanet, J.L., Morales, A., Borie, G., Rojas, C. (2006). Effects of tillage systems on soils characteristics, glomalin and mycorrhizal propagules in a Chilean Ultisol. *Soil Till. Res.* 88: 253-261.
- Bowman, R., Cole, C. (1987). Transformations of organic phosphorus substrates in soils as evaluated by NaHCO₃ extraction. *Soil Sci.* 125:49-54.
- Bowman, R., Moir, J. (1993). Basic EDTA as an extractant for soil organic phosphorus. *Soil Sci. Soc. Am J.* 57: 1516-1518.
- Brake, M., Hoper, H., Joergensen, R., (1999). Land use-induced changes in activity and biomass of microorganisms in raised bog peats at different depths. *Soil Biol. Biochem.* 31:1489-1497.
- Briceño, M. (2001). Efectos de la adición de lodo sobre la selectividad catiónica (K, Ca) y distribución de P en los suelos volcánicos chilenos. Trabajo de graduación para optar al grado de Doctor en Química, Universidad de Santiago de Chile. Santiago, Chile, 113p.
- Briceño, M., Escudey, M., Galindo, G., Borchardt, D., Chang, A. (2004). Characterization of chemical phosphorus forms in volcanic soils using ³¹P- NMR spectroscopy. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* 35:1323-1337.
- Briceño, M., Escudey, M., Galindo, G., Borchardt, D., Chang, A. (2006). Comparison of extraction procedures used in the determination of phosphorus species by ³¹P-NMR in Chilean volcanic soils. *Commun. Soil Sci. Plant. Anal.* 37:1-17.
- Brookes, P., Powlson, D., Jenkinson, D. (1982). Measurement of microbial biomass phosphorus in soil. *Soil Biol Biochem.* 14: 319-329.

- Brookes, P., Powlson, D., Jenkinson, D (1984). Phosphorus in the soil microbial biomass. *Soil Biol. Biochem.* 16:169-175.
- Buechler, S., Oberson, A., Rao, I.M., Friesen, D.K., Frossard, E. (2002). Sequential phosphorus extraction of a P-33-labeled Oxisol under contrasting agricultural systems. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66, 868-877.
- Bünemann, E., Bossio, D., Smithson, P., Frossard, E., Oberson, A. (2004a). Microbial community composition and substrate use in a highly weathered soil as affected by crop rotation and P fertilization. *Soil Biol. Biochem.* 36:889-901.
- Bünemann, E., Steinebrunner, F., Smithson, P., Frossard, E., Oberson, A. (2004b). Phosphorus dynamics in a highly weathered soil as revealed by isotopic labeling techniques. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 68:1645-1655
- Buschiazzo, D., Hevia, G., Urioste, A. and Hepper, E. (2000). Cultivation effects on phosphate forms and sorption in loess – soils of Argentina. *Soil Sci.* 165: 427- 436.
- Busato, J., Canellas, L., Rumjanek, V., Velloso, A. (2005). Phosphorus in an inceptisol under long-term sugarcane. II. Humic acids analysis by NMR ³¹P. *R. Bras. Ci. Solo* 29:945-953.
- Cade- Menun, B., Preston, C. (1996). A comparison of soil extraction procedures for ³¹P RMN spectroscopy. *Soil Sci.* 161: 770- 785.
- Cade-Menun, B., Berch, S., Preston, C. and Lavkulich, L. (2000). Phosphorus forms and related soil chemistry of podzolic soils on northern Vancouver Island. I. A comparison of two forest types. *Can. J. For. Res.* 30:1714-1725.
- Cade- Menun, B.(2005). Characterizing phosphorus in environmental and agricultural samples by ³¹P nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Talanta* 66: 359-371.
- Canellas, L., Espíndola, J., Guerra, J., Teixeira, M., Velloso, A. Rumjanek, V. (2004). Phosphorus analysis in soil under herbaceous perennial leguminous cover by nuclear magnetic spectroscopy. *Pesq. Agropec. Bras.* 39:589-596.
- Cardoso, I., Janssen, B. Oenema, O. and Kuyper, T. (2002). Inorganic and organic phosphorus in oxisols under agroforestry and conventional coffee (*Coffea arabica* L.) systems in Minas Gerais, Brazil. En: Phosphorus in agroforestry systems: a contribution to sustainable agriculture in the zona of Mina Gerais Brazil. Cardoso, I. Ph D. Thesis. Wageningen University. pp. 23-32.
- Carneiro, R., Mendes, I., Lovato, P., Carvalho, A., Vivaldi, L. (2004). Soil biological indicators associated to the phosphorus cycle in a Cerrado soil under no- till and conventional tillage systems. *Pesq. Agropec. Bras.* 39:661-669.
- Cassagne, N., Remaury, M., Gauquelin, T., Fabre, A. (2000). Form and profile distribution of soil phosphorus in alpine Inceptisols and Spodosols (Pyrenees, France). *Geoderma* 95:161-172.
- Castillo, G.C. (2005). Diversidad y efectividad de hongos micorrízicos arbusculares en ecosistemas agroforestales del centro sur de Chile. Tesis para optar al grado de Doctor en Ciencias de Recursos Naturales. Universidad de La Frontera, Temuco, Chile. 124 p.
- Castillo, G.C., Borie, F., Godoy, R., Rubio, R., Sieverding, E. (2006). Diversity of mycorrhizal plant species and arbuscular mycorrhizal fungi in evergreen forest, deciduous forest and grassland ecosystems of Southern Chile. *J. Appl. Bot. Food Qual.* 80:40-47.

- Castillo, X., Joergensen, R. (2001). Impact of ecological and conventional arable management systems on chemical and biological soil quality indices in Nicaragua. *Soil. Biol. Biochem.* 33:1591-1597.
- Cavigelli, M., Thien, S. (2003). Phosphorus bioavailability following incorporation of green manure crops. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:1186-1194.
- Chacón, N., Dezzio, N. (2004). Phosphorus fractions and sorption processes in soil samples taken in a forest-savanna sequence of the Gran Sabana in southern Venezuela. *Biol. Fertil. Soils* 40:14-19.
- Chacón, N., Dezzio, N., Flores, S. (2005). Effect of particle- size distribution, soil organic carbon content and organo- mineral aluminium complexes on acid phosphatases of seasonally flooded forest soils. *Biol. Fertil. Soils* 41:69-72.
- Chang, S.C., Jackson, M.L. (1957). Fractionation of soil phosphorus. *Soil Sci.* 84:133-144
- Chen, H. (2003). Phosphatase activity and P fractions in soil of an 18-year-old Chinese fir (*Cunninghamia lanceolata*) plantation. *For. Ecol. Manage.* 178:301- 310.
- Chen, G., He, Z. (2004). Determination of soil microbial biomass phosphorus in acid red soils from southern China. *Biol. Fertil. Soils* 39:446-451.
- Chen, C., Condon, L., Davis, M., Sherlock, R. (2000). Effects of afforestation on phosphorus dynamics and biological properties in a New Zealand grassland soil. *Plant Soil* 220:151-163.
- Chen, C., Condon, L., Davis, M., Sherlock, R. (2002). Phosphorus dynamics in the rhizosphere of perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) and radiata pine (*Pinus radiata* D. Don.). *Soil Biol. Biochem.* 34:487- 499.
- Chen, C., Condon, L., Davis, M., Sherlock, R. (2003a) Seasonal changes in soil phosphorus and associated microbial properties under adjacent grassland and forests in New Zealand. *For. Ecol. Manage.* 177:539-557.
- Chen, C., Sinaj, S., Condon, L., Frossard, E., Sherlock, R., Davis, M. (2003b). Characterization of phosphorus availability in selected New Zealand grassland soils. *Nutr Cycl Agroecosyst.* 65: 89-100.
- Chen, C., Condon, L., Davis, M., Sherlock, R. (2004). Effects of plant species on microbial biomass phosphorus and phosphatase activity in a range of grassland soils. *Biol. Fertil. Soils* 40:313-322.
- Comerford, N., McLeod, M., Skinner, M. (2002). Phosphorus form and bioavailability in the pine rotation following fertilization P fertilization influences P form and potential bioavailability to pine in the subsequent rotation. *For. Ecol. Manage.* 169:203-211.
- Condon, L., Frossard, E., Tiessen, H., Newman, R., Stewart, J. (1990). Chemical nature of organic phosphorus in cultivated and uncultivated soils under different environmental conditions. *J. Soil Sci.* 41, 41-50.
- Condon, L., Davis, M., Newman, R., Conforth, I. (1996). Influence of conifers on the forms of phosphorus in selected New Zealand grassland. *Biol. Fertil. Soils* 21:37-42.
- Cross, A., Schlesinger, W. (1995). A literature review and evaluation of the Hedley fractionation: Applications to the biogeochemical cycle of soil phosphorus in natural ecosystems. *Geoderma* 64:197-214.
- Cross, A., Schlesinger, W. (2001). Biological and geochemical controls on phosphorus fractions in semiarid soils. *Biogeochemistry* 52:155-172.
- Cummins, T., Farrell, E. (2002). Biogeochemical impacts of clearfelling and reforestation on blanket peatland streams I. phosphorus. *For. Ecol. Manage.* 180:545-555.

- Dai, K., David, M., Vance, G., Krzyszowska, A. (1996). Characterization of Phosphorus in a Spruce-Fir spodosol by phosphorus-31 Nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60: 1943-1950.
- Dalal, R. (1998). Soil microbial biomass- what do the numbers really mean?. *Austr. J. Exp. Agric.* 38:649-645.
- Daroub, S., Pierce, F., Ellis, B. (2000). Phosphorus fractions and fate of phosphorus-33 in soils under plowing and no-tillage. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:170-176.
- Daroub, S., Ellis, B., Robertson, G. (2001). Effect of cropping and low- chemical input systems on soil phosphorus fractions. *Soil Sci.* 4:281-291.
- De Brouwere, K., Thijs, A., Maarten, H., Merckx, R. (2003). Forms and availability of soil phosphorus in temperate forests in southern Chile and Flanders. *Gayana Bot. (Chile)* 60:17-23.
- Decker, K., Boerner, R. (2006). Mass loss and nutrient release from decomposing evergreen and deciduous *Nothofagus* litters from the Chilean Andes. *Austral Ecology* 31: 1005-1015.
- Derpsch, R., Florentin, M., Moriya, K. (2000). Importancia de la siembra directa para alcanzar la sustentabilidad agrícola. Proyecto de Conservación de Suelos, San Lorenzo, Paraguay.
- Dick, W.A., Tabatabai, M.A. (1977). Determination of orthophosphate in aqueous solutions containing labile organic and inorganic phosphorus compounds. *J. Environ. Qual.* 6:82-85.
- Donoso, C. (1981). Investigación y Desarrollo Forestal: tipos forestales de los bosques nativos de Chile. Corporación Nacional Forestal. Organización de las Naciones Unidas. Documento de trabajo n° 38. 70p.
- Donoso, C., Hernández, M., Navarro, C. (1993). Valores de producción de semillas y hojarasca de diferentes especies del tipo forestal siempre- verde de la Cordillera de la Costa de Valdivia obtenidos durante un período de 10 años. *Bosque* 14:65-84.
- Donoso, C., Ramírez, C. (2000). Arbustos nativos de Chile. Marisa Cuneo Ediciones. Valdivia, Chile, 119 p.
- Duiker, S.W., Beegle, D.B. (2006). Soil fertility distributions in long- term no- till, chisel/ disk and moldboard plow/ disk systems. *Soil Till. Res.* 88:30-41.
- Echeverría, C., Coomesa, D., Salas, J., Rey-Benayas, J., Lara, A., Newton, A. (2006). Rapid deforestation and fragmentation of Chilean Temperate Forests. *Biol. Cons.* 130: 481-494.
- Escudey, M., Galindo, G., Förster, J.E., Salazar, I., Page, A.L., Chang, A. (1997). Influence of particle size on P-31-NMR analysis of extracts from volcanic ash derived soils in Chile. *Commun. Soil Sci. Plant Anal* 28:727-737.
- Escudey, M., Galindo, G., Förster, J., Briceño, M., Díaz, P., Chang, A. (2001). Chemical forms of phosphorus of volcanic ash-derived soils in Chile. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 32:601-616.
- Escudey, M., Galindo, G., Briceño, M., Chang, A. (2004a). Influence of particle size on ³¹P-NMR analysis of extracts from volcanic ash-derived soils in Chile. *J. Chil. Chem. Soc.* 49:5-9.
- Escudey, M., Galindo, G., Avendaño, K., Borchardt, D., Chang, A., Briceño, M. (2004b). Distribution of P forms in Chilean soils and sewage sludge by chemical fractionation and ³¹P-NMR. *J. Chil. Chem. Soc.* 49:219-222.
- Essington, M., Howard, D. (2000). Phosphorus availability and speciation in long-term no-till and disk-till soil. *Soil Sci.* 165:144-152.

- Firsching, B., Claassen, N. (1996). Root phosphatase activity and soil organic phosphorus utilization by Norway Spruce (*Picea abies* (L.) Karst.). *Soil Biol. Biochem.* 28:1417-1424.
- Friesen, D., Rao, I., Thomas, R., Oberson, A., Sanz, J. (1997). Phosphorus acquisition and cycling in crop pasture systems in low fertility tropical soils. *Plant Soil* 196:289-294.
- Frossard, E., Brossard, M., Hedley, M. and Metherell, A. (1996). Reactions controlling the cycling of P in soils. En: *Phosphorus in the Global Environment- Transfers, Cycles and Management*. Tiessen, H. (ed). Scientific Committee on Problems of the Environment (SCOPE) pp. 107-138.
- Frossard, E., Condon, L., Oberson, A., Sinaj, S., Fardeau, J. (2000). Processes governing phosphorus availability in temperate soils. *J. Environ. Qual.*, 29:15-23.
- Gale, P., Mullen, M., Cieslik, C., Tyler, D., Duck, B., Kirchner, M., McClure, J. (2000). Phosphorus distribution and availability in response to dairy manure applications. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 31: 533-565.
- García-Montiel, D., Neill, C., Mellido, J., Thomas, S., Steudler, P. and Cerric, C. (2000). Soil phosphorus transformations following forest clearing for pasture in the Brazilian Amazon. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64: 1792-1804.
- Gatiboni L.C., Rheinheimer D.D., Flores, A. (2005). Phosphorus forms and availability assessed by P-31-NMR in successively cropped soil. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 36: 2625-2640.
- Giardina, C.P., Sanford, R.L., Dockersmith, I.C. (2000). Changes in soil phosphorus and nitrogen during slash and burn clearing of a dry tropical forest. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:399-405.
- Godoy, R., Ramírez, C., Figueroa, H. y Hauenstein, E. (1981). Estudios ecosociológicos en pteridófitos de ecosistemas boscosos valdivianos, Chile. *Bosque* 4:12-24.
- Grant, C., Peterson, A., Campbell, C. (2002). Nutrient Considerations for Diversified Cropping Systems in the Northern Great Plains. *Agron. J.* 94:186-198.
- Guerra, J., Fonseca, M., Almeida, D., Polli, H., Fernandes, M. (1995). Phosphorus content in the microbial biomass under *Bacharia decumbens* Stapf. *Pesq. Agropec. Bras.* 30:543-551.
- Guggenberger, G., Christensen, B., Rubaek, G., Zech, W. (1996). Land-use and fertilization effects on P forms in two European soils: resin extraction and ³¹P-NMR analysis. *Eur. J. Soil Sci.* 47:605-614.
- Guo F., Yost, R. (1998). Partitioning soil phosphorus into three discrete pools of different availability. *Soil Sci.* 163:822-833.
- Guo, F., Yost, R., Hue, N., Evensen, C., Silva, J. (2000). Changes in phosphorus fractions in soils under intensive plant growth. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 64:1681-1689.
- He, Z., Zhu, J. (1998). Microbial utilization and transformation of phosphate adsorbed by variable charge minerals. *Soil Biol. Biochem.* 30:917-923.
- Hedley, H., Steward, J. (1982). Method to measure microbial biomass phosphorus in soils. *Soil Biol. Biochem.* 14: 377- 385.
- Hedley, H., Steward, J., Chauhuan, B. (1982). Changes in organic and inorganic soil phosphorus fractions induced by cultivation practices and by laboratory incubations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 46:970-976.
- Hedley, M., Kirk, G., Santos, M. (1994). Phosphorus efficiency and the forms of soil-phosphorus utilized by upland rice cultivars. *Plant Soil* 158:53-62.

- Helmke, P., Boerth, T., He, X. (2000). Bioavailability of organically- bound soil phosphorus. Proceedings of the 2000 Wisconsin Fertilizer, Agrilime & Pest Management. 18- 20 January 2000, Wisconsin, USA.
- Hirata, H., Watanabe, K., Fukushima, K., Aoki, M., Imamura, R., Takahashi, M. (1999). Effect of continuous application of farmyard manure and inorganic fertilizer for 9 years on changes in phosphorus compounds in plow layer of an upland Andosol. *Soil Sci. Plant Nutr.* 45:577-590.
- Horst, W., Kamh, M., Jibrin, J. and Chude, V. (2001). Agronomic measures for increasing P availability to crops. *Plant Soil* 237:11-223.
- Huffman, S., Cole, C., Scott, N. (1996). Soil texture and residue addition effects on soil phosphorus transformations. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60:1095-1101.
- Huygens, D., Boeckx, P., Van Cleveunput, O., Godoy, R., Oyarzún, C. (2005). Aggregate structure and stability linked to carbon dynamics in a south Chilean Andisol. *Biogeosciences Discussions.* 2:203- 238.
- Ilstedt, U., Giesler, R., Nordgren, A., Malmer, A. (2003). Changes in soil chemical and microbial properties after a wildfire in a tropical rainforest in Sabah, Malaysia. *Soil Biol. Biochem.* 35:1071-1078.
- Iyamuremye, F., Dick, R. P., Baham, J. (1996). Organic amendments and phosphorus dynamics: II. Distribution of soil phosphorus fractions. *Soil Sci.* 161:436-443.
- Jenkinson, D. (1988). The determination of microbial biomass carbon and nitrogen in the soil. In: Wilson, J. (ed). *Advances in nitrogen cycling in agricultural ecosystems.* CAB International. Wallingford, pp. 368-386.
- Jiang, B., Gu, Y. (1989). A suggested fraction scheme of inorganic phosphorus in calcareous soils. *Sci. Agric. Sinica* 22:58-66.
- Joergensen, R., Castillo, X. (2001). Interrelationships between microbial and soil properties in young volcanic ash soils in Nicaragua. *Soil Biol. Biochem.* 33:1581-1589.
- Johnson, A., Frizano, J., Vann, D. (2003). Biogeochemical implications of labile phosphorus in forest soils determined by the Hedley fractionation procedure. *Oecologia* 135: 485-499.
- Kramer, S., Green, D. (1999). Phosphorus pools in tree intercanopy microsites of a Juniper-grass ecosystem. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1901-1905.
- Kuczak, K., Fernandes, E., Lehmann, J., Rondon, M., Luizao, F. (2006). Inorganic and organic phosphorus pools in earthworm casts (*Glossocolecidae*) and a Brazilian rainforest Oxisol. *Soil Biol. Biochem.* 38:553-560
- Kuo, S., Jellum, E.J., Pan, W.L. (1988). Influence of phosphate sorption parameters of soils on the desorption of phosphate by various extractants. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 52:974-979.
- Kuo, S., Huang, B., Bembenek, R. (2005). Effects of long-term phosphorus fertilization and winter cover cropping on soil phosphorus transformations in less weathered soil. *Biol. Fertil. Soils* 41:116-123.
- Kwabiah, A., Palm, C., Stoskopf, N., Voroney, R. (2003a) Response of soil microbial biomass dynamics to quality of plant materials with emphasis on P availability. *Soil Biol. Biochem.* 35:207-216.
- Kwabiah, A., Stoskopf, N., Palm, C., Voroney, R., Rao, M., Gacheru, E. (2003b). Phosphorus availability and maize response to organic and inorganic fertilizer inputs in a short term study in western Kenya. *Agric. Ecosys. Environ.* 95:49-59.

- Kwabiah, A., Stoskopf N., Palm, C., Voroney, R. (2003c). Soil P availability as affected by the chemical composition of plant materials: implications for P-limiting agriculture in tropical Africa. *Agric. Ecosys. Environ.* 100:53-61.
- Lara, A., Altamirano, A., Thiers, O., Tacon, A. (2002). Plan de manejo CIPMA-FNAM, unidad demostrativa piloto predio San Pablo de Tregua. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Forestales, 67 p.
- Lehmann, J., Cravo, M., Macedo, J., Moreira A., Schroth G. (2001). Phosphorus management for perennial crops in central Amazonian Upland soils. *Plant Soil* 237:309-319.
- Leiva, J., Godoy, R. (2001). Production and decomposition of litterfall in *Nothofagus* forest in Southern Chile. In: De Schrijver A., Kint, V., Lust N.(eds). Comparison of ecosystems functioning and biogeochemical cycles in temperate forest in southern Chile and Flanders. Gent Academic Press, pp. 103-106.
- Li, Y., Wu, L., Lu, X., Zhao, L., Fan, Q, Zhang, F. (2006). Soil microbial biomass as affected by non-flooded plastic mulching cultivation in rice. *Biol. Fertil. Soils.* 43:107-111.
- Lilienfein, L., Wilcke, W., Ayarza, M.A., Vilela, L., Lima, S., Zech, W. (2000). Chemical fractionation of phosphorus, sulphur and molybdenum in Brazilian savanna Oxisols under different land use. *Geoderma* 96:31-46.
- Linquist, B., Singleton, P., Yost, R., Cassman., K. (1997). Aggregate size effects on the sorption and release of phosphorus in an Ultisol. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 61:160-166.
- Litaor, M., Seastedt, T., Walker, M., Carbone, M., Townsend, A. (2005). The geochemistry of phosphorus across an alpine topographic/snow gradient. *Geoderma* 124:49-61.
- Liu, Q., Loganathan, P., Hedley, M.J., Skinner, M.F. (2004). The mobilization and fate of soil and rock phosphate in the rhizosphere of ectomycorrhizal *Pinus radiata* seedlings in an Allophanic soil. *Plant Soil* 264:219-229.
- Lopez-Gutierrez, J., Toro, M., López-Hernández. (2004). Seasonality of organic phosphorus mineralization in the rhizosphere of the native savanna grass, *Trachypogon plumosus*. *Soil Biol. Biochem.* 36:1674-1684.
- Lukito, H., Kouno, K., Ando, T. (1998). Phosphorus requirements of microbial biomass in a Regosol and a Andosol. *Soil Biol. Biochem.* 30: 865-872.
- Mahieu, N., Olk, C., Randall, E. (2000). Analysis of phosphorus in two humic acid fractions of intensively cropped lowland rice soils by ³¹P-NMR. *Eur. J. Soil Sci.* 51: 391-402.
- Makarov, M., Haumaier, L., Zech, W. (2002). The nature and origins of diester phosphates in soil: a ³¹P-NMR study. *Biol. Fertil. Soils* 35:136-146.
- Makarov, M., Haumaier, L., Zech, W., Marfenina, O., Lysak, L. (2005). Can ³¹P NMR spectroscopy be used to indicate the origins of soil organic phosphates?. *Soil Biol. Biochem* 31: 15-25.
- Markewitz, D., Davidson, E., Moutinho, P., Nepstad, C. (2004). Nutrient loss and redistribution after forest clearing on a highly weathered soil in Amazonia. *Ecol. Appl.* 14:177-199.
- Maroko, J., Buresh, R., Smithson, P. (1999). Soil phosphorus fractions in unfertilized fallow-maize systems on two tropical soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63: 320-326.
- Matus, F., Amigo, X., Kristiansen, S. (2006). Aluminum stabilization controls organic carbon levels in Chilean volcanic soils. *Geoderma* 132:158-168.

- McDowell, R.W., Condron, L., Mahieu, N., Brookes, P., Poulton, P., Sharpley, A. (2002). Analysis of potentially mobile phosphorus in arable soils using solid state nuclear magnetic resonance. *J. Environ. Qual.* 31: 450-456.
- McDowell, R.W., Stewart, I. (2006). The phosphorus composition of contrasting soils in pastoral, native and forest management in Otago, New Zealand: sequential extraction and ^{31}P NMR. *Geoderma* 130:176-189.
- McDowell, R.W., Scott, J.T. Stewart, I., Condron, L.M. (2007). Influence of aggregate size on phosphorus changes in a soil cultivated intermittently: analysis by ^{31}P nuclear magnetic resonance. *Biol. Fertil. Soils* 43:409-415.
- McGonigle, T., Chambers, M., White, G. (2005). Enrichment over time of organic carbon and available phosphorus in semiarid soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 69:1617-1626.
- McLaughlin, M., Alston, A., Martin, J. (1986). Measurement of phosphorus in the soil microbial biomass: a modified procedure for field soils. *Soil Biol. Biochem.* 18:437-443.
- McGrath D., Comerford N., Duryea, M. (2000). Litter dynamics and monthly fluctuations in soil phosphorus availability in an amazonan agroforest. *For. Ecol. Manage.* 131:167-181.
- Miller, A., Schuur, E., Chadwick, O. (2001). Redox control of phosphorus pools in Hawaiian montane forest soils. *Geoderma* 102:219-237.
- Morel, C., Tiessen, H., Stewart, W. (1996). Correction for P sorption in the measurement of soil microbial biomass P by CHCl_3 fumigation. *Soil Biol. Biochem.* 28:1699- 706.
- Motavalli, P., Miles, R. (2002). Soil phosphorus fractions after 111 years of animal manure and fertilizer applications. *Biol. Fertil. Soils* 36:35-42.
- Murphy, J., Riley, J.P. (1962). A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta.* 27:31-36.
- Myers, R., Thien, S., Pierzynski G., (1999). Using an Ion Sink to Extract Microbial Phosphorus from Soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 63:1229-1237.
- Neufeldt, H., Da Silva, J., Ayarza, M., Zech, W. (2000). Land-use effects on phosphorus fractions in cerrado oxisols. *Biol. Fertil. Soils* 31:30-37.
- Neumann, G., Römheld, V. (1999). Root excretion of carboxylic acids and protons in phosphorus-deficient plants. *Plant Soil* 211:121-130.
- Neumann, G., Massonneau, A., Langlade, N., Dinkelaker, B., Hengeler, C., Römheld, V., Martinoia E. (2000). Physiological aspects of cluster root function and development in phosphorus-deficient white lupin (*Lupinus albus* L.). *Ann. Bot.* 85:909-919.
- Newman, R., Tate, K. (1980). Soil characterization by ^{31}P nuclear magnetic resonance. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 11: 835-842.
- Nuruzzaman, M., Lambers, H., Bolland, M., Veneklaas, E. (2005). Phosphorus benefits of different legume crops to subsequent wheat grown in different soils in Western Australia. *Plant Soil* 271:175-187.
- Nwoke, O.C., Vanlauwe, B., Diels, J., Sanginga, N., Osonubi, O., Merckx, R. (2003). Assessment for labile phosphorus fractions and adsorption characteristics in relation to soil properties of West African savanna soils. *Agric. Ecosys. Environ.* 100:285-294.

- Nziguheba, G., Palm, C., Buresh, R., Smithson, P. (1998). Soil phosphorus fractions and adsorption as affected by organic and inorganic sources. *Plant Soil* 198:159-168.
- Nziguheba, G., Merckx, G., Palm, C. (2002). Soil phosphorus dynamics and maize response to different rates of phosphorus fertilizer applied to an Acrisol in western Kenya. *Plant Soil* 243:1-10.
- Oberson, A., Besson, J.-M., Maire, N., Sticher, H. (1996). Microbiological processes in soil organic phosphorus transformations in conventional and biological cropping systems. *Biol. Fertil. Soils* 21:138-148.
- Oberson A, Friesen DK, Morel, C., Tiessen, H. (1997). Determination of phosphorus release by chloroform fumigation from microbial biomass in high P sorbing tropical soils. *Soil Biol. Biochem.* 29:1579-1583.
- Oberson A., Friesen D.K., Rao I.M., Buchler, S., Frossard, E. (2001). Phosphorus transformations in an Oxisol under contrasting land-use systems: The role of the soil microbial biomass. *Plant Soil* 237:197-210.
- Olsen, S.R., Sommers, L.E. (1982). Phosphorus. In: Page, A. L. Miller R.H., Deeney D.R. (eds.) *Methods of Soil Analysis. Part 2.* ASA, Madison, Wisconsin, USA, pp. 403-430.
- Oltremari, J., Thielen, K. (1999). Manual para la formulación de planes de manejo en áreas silvestres protegidas privada. Informe final. Tomo II. 137 p.
- Otabbong, E., Persson, J., Iakimenko, O., Sadovnikova, L. (1997). The Ultuna long- term soil organic matter experiment. II. Phosphorus status and distribution in soils. *Plant Soil* 195:17-23.
- Paoli, G., Curran, L., Zak, D. 2005. Phosphorus efficiency of Bornean rain forest productivity: evidence against the unimodal efficiency hypothesis. *Ecology* 86: 1548-1561.
- Peltovuori, T., Uusitalo, R., Kauppila, T. (2002). Phosphorus reserves and apparent phosphorus saturation in tour weakly Developer cultivated pedons. *Geoderma* 110:35-47.
- Peña, A., Duran, E., Merino, R., Vargas, R. (1999). Funciones y usos de los bosques. *Bosque Nativo* 23: 8-11.
- Perry, D. (1994). *Forest Ecosystems.* The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London.
- Pezzarossa, B., Barbaferri, M., Benetti, A., Petruzzelli, G., Mazzoncini, M., Bonari, E., Pagliai., M. (1995). Effects of conventional and alternative management systems on soil phosphorus content, soil structure, and corn yield. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 261:2869-2885.
- Pheav, S., Bell, R., White, P.F., Kirk, G. (2003). Fate of applied fertilizer phosphorus in a highly weathered sandy soil under lowland rice cropping, and its residual effect. *Field Crops Res.* 81:1-16.
- Pheav, S., Bell, R., Kirk, G., White, P.F. (2005). Phosphorus cycling in rainfed lowland rice ecosystems on sandy soils. *Plant Soil* 269:89-98.
- Phiri, S., Amezcua, E., Rao, I.M., Singh, B.R. (2001). Disc harrowing intensity and its impact on soil properties and plant growth of agropastoral systems in the Llanos of Colombia. *Soil Till. Res.* 62: 131-143.
- Pinochet, D., Epple, G., Mac Donald, R. (2001). Fracciones de fósforo orgánico e inorgánico en un transecto de suelos de origen volcánico y metamórfico. *Rev. Cs. Suelo Nutr. Veg. (Chile)* 1:58-69.
- Potter, R.,L., Jordan, C.F., Guedes, R.M., Batmanian, G.J., Han, X.G. (1991). Assessment of a phosphorus fraction method for soil: Problems for further investigation. *Agric. Ecosyst. Environ.*34:453-463.
- Pypers, P., Verstraete, S., Thi, C.P, Merckx, R. (2005). Changes in mineral nitrogen, phosphorus availability and salt-extractable aluminium following the application of green manure residues in two weathered soils of South Vietnam. *Soil Biol. Biochem.* 37: 163-172.

- Raghothama, K. (1999). Phosphate acquisition. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 50:665-693.
- Reddy, D., Rao, A.S., Singh, M. (2001). Crop residue addition effects on myriad forms and sorption of phosphorus in a Vertisol. *Bioresource Technol.* 80:93-99.
- Rheinheimer, D.S., Anghinoni, I., Flores, A.F. (2002). Organic and inorganic phosphorus as characterized by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance in subtropical soils under management systems. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 33:1853-1871.
- Rheinheimer, D.D., Anghinoni, I. (2003). Accumulation of soil organic phosphorus by soil tillage and cropping systems under subtropical conditions. *Commun. Soil Sci. Plant Anal.* 34:2339-2354.
- Riquelme, J. (1992). Manejo conservacionista del recurso suelo. *IPA Quilamapu* 51:29-34.
- Redel, Y., Rubio, R., Rouanet, J., Borie, F. (2007). Phosphorus bioavailability affected by tillage and crop rotation on a Chilean volcanic derived Ultisol. *Geoderma* 139: 388-396.
- Ross, D., Tate, K., Scott, N., Feltham, C. (1999). Land-use change: effects on soil carbon, nitrogen and phosphorus pools and fluxes in three adjacent ecosystems. *Soil Biol. Biochem.* 31:803-813.
- Rubaek, G., Guggenberger, G, Zech, W., Christensen, B. (1999). Organic phosphorus in soil size separates characterized by phosphorus-31 nuclear magnetic resonance and resin extraction. *Soil Sci. Am. J.* 63: 1123-1132.
- Rubio, R., Moraga, E., Borie, F. (1990). Acid phosphatase activity and vesicular-arbuscular infection associated with roots of four wheat cultivars. *J. Plant Nutr.* 13:585-598.
- Rubio, R., Borie, F., Schalchli, C., Castillo, C., Azcon, R. (2002). Plant growth responses in natural acidic soil as affected by arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphorus sources *J. Plant Nutr.* 25: 1389-1405.
- Saá, A., Trasar-Cepeda, M.C., Carballas, T. (1998). Soil P status and phosphomonoesterase activity of recently burnt and unburnt soil following laboratory incubation. *Soil Biol. Biochem.* 30:419-428.
- Saggar, S., Hedley, M.J., White, R.E. (1990). A simplified resin membrane technique for extracting phosphorus from soils. *Fert. Res.* 24:173-80.
- Santruckova, H., Vrba, J., Picek, T., Kopacek, J. (2004). Soil biochemical activity and phosphorus transformations and losses from acidified forest soil. *Soil Biol. Biochem.* 36:1569-1576.
- SAS Institut (1990). *SAS/ STAT users guide: statistics, version 6, 4 th edn.* SAS Institut, Cary, N.C.
- Satti, P., Mazzarino M.J., Roselli, L., Crego, P. (2007). Factors affecting soil P dynamics in temperate Volcanic soils of southern Argentina. *Geoderma* 139:229-240.
- Saunders W., Williams E. (1955). Observations on the determination of total organic phosphorus in soil. *J. Soil Sci.* 6:254-267.
- Schlesinger, W., Bruijnzeel, L., Bush, M., Klein, E., Mace, K., Raikes, J., Whittaker, R. (1998). The biogeochemistry of phosphorus after the first century of soil development on Rakata Island, Krakatau, Indonesia. *Biogeochem.* 40:37-55.
- Schmidt, J.P., Buol, S.W., Kamprath, E.J. (1996). Soil phosphorus dynamics during seventeen years of continuous cultivation: Fractionation analysis. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 60:1168-1172.

- Schneider K., Turrión, M., Grierson, P., Gallardo, J. (2001). Phosphatase activity, microbial phosphorus, and fine root growth in forest soils in the Sierra de Gata, western central Spain. *Biol. Fertil. Soils* 34:151-155.
- Scott, J., Condon, L. (2003). Dynamics and availability of phosphorus in the rhizosphere of a temperate silvopastoral system. *Biol Fertil. Soils* 39:65-73.
- Selles, F., Campbell, C.A., Zentner, R.P. (1995). Effect of cropping and fertilization on plant and soil phosphorus. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 59:140-144.
- Shen, J., Li, R., Zhang, F., Fan, J., Tang, C., Rengel, Z. (2004). Crop yields, soil fertility and phosphorus fractions in response to long term fertilization under the rice monoculture system on a calcareous soil. *Field Crop Res.* 86: 225-238.
- Sierra, C. (1990). Fertilidad de los suelos en cero labranza. En: 1° Jornadas Binacionales de Cero Labranza. Concepción, Chile. pp. 169-209.
- Sinaj, S., Buerkert, A., El-Hajj, G., Bationo, A., Traoré, H., Frossard, E. (2001). Effects of fertility management strategies on phosphorus bioavailability in four West African soils. *Plant Soil* 233:71-83.
- Solomon, D., Lehman, J. (2000). Loss of phosphorus from soil in semi-arid northern Tanzania as a result of cropping: evidence from sequential extraction and ³¹P-NMR spectroscopy. *Eur. J. Soil Sci.* 51:699-708.
- Solomon, D., Lehmann, J., Mamo, T., Fritzsche, F., Zech, W. (2002). Phosphorus forms and dynamics as influenced by land use in the subhumid Ethiopian highlands. *Geoderma* 105:21-48.
- Spears, J., Lajtha, K., Caldwell, B., Pennington, S., Vanderbilt, K. (2001). Species effects of *Ceanothus velutinus* versus *Pseudotsuga menziesii*, Douglas-fir, on soil phosphorus and nitrogen properties in the Oregon cascades. *For. Ecol. Manage.* 149:205-216.
- Srivastava, S.C., Singh, J.S. (1988). Carbon and phosphorus in the soil biomass of some tropical soils of India. *Soil Biol. Biochem.* 20: 743-747.
- Staelens, J., Godoy, R., Oyarzún, C., Thibo, K., Veheyen, K. (2006). Aboveground nitrogen input by throughfall and litterfall in two *Nothofagus* forests in southern Chile. *Gayana Bot. (Chile)* 62:63-71.
- Steward, J., Oades, J. (1972). The determination of organic phosphorus in soils. *J. Soil Sci.* 23:38-49.
- Suarez, E., Pelletier, D., Fahey, T., Groffman, P., Bohlen, P., Fisk, M. (2003). Effects of exotic earthworms on soil phosphorus cycling in two broadleaf temperate forests. *Ecosystems* 7:28-44.
- Sumann, M., Amelung, W., Haumaier, L., Zech, W. (1998). Climatic effects on soil organic phosphorus in the North American Great Plains identified by Phosphorus 31 nuclear magnetic resonance. *Soil Sci. Am. J.* 62: 1580- 1586.
- Suñer, L., Galantini, J., Rosell, R., Chamadoira, M. (2000). Cambios en el contenido de las formas de fósforo en suelos de la región semiárida pampeana cultivados con trigo (*Triticum aestivum*). *Rev. Fac. Agron., La Plata* 104: 113-119.
- Tabatabai, M., Bremner, Y. (1969). Use of p-nitrophenyl phosphate for assay of soil phosphatase activity. *Soil Biol. Biochem.* 1:301- 315.
- Tan, K. (1998). Principles of soil chemistry. 3^{ed}. Marcel Dekker Inc., New York.

- Taranto, M.T., Adams, M.A., Polglase, P.J. (2000). Sequential fractionation and characterization (^{31}P -NMR) of phosphorus-amended soils in *Banksia integrifolia* (L.F.) woodland and adjacent pasture. *Soil Biol. Biochem.* 32:169-177.
- Tate, K., Newman, R. (1982). Phosphorus fractions of a climosequence of soils in New Zealand tussock grassland. *Soil Biol. Biochem.* 14: 191-196.
- Thomas, S., Johnson, A., Frizano, J., Vann, D., Zarin, D., Joshi, A. (1999). Phosphorus fractions in montane forest soils of the Cordillera de Pichué, Chile: biogeochemical implications. *Plant Soil* 211: 139-148.
- Tiessen, H., Moir, J.O. (1993). Characterization of available P by sequential extraction. In: Carter, M.R. (Ed.). *Soil Sampling and Methods of Analysis*. Lewis publishers, Boca Raton, FL, USA, pp. 75-86.
- Tiessen, H., Stewart, J., Cole, C.V. (1984). Pathways of phosphorus transformations in soils of differing pedogenesis. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 48:853-858.
- Tiessen, H., Salcedo, I., Sampaio, E. (1992). Nutrient and soil organic-matter dynamics under shifting cultivation in semiarid northeastern Brazil. *Agric. Ecosyst. Environ.* 38:139-151.
- Townsend, A., Asner, G., Cleveland, C., Lefer, M., Bustamante, M. (2002). Unexpected changes in soil phosphorus dynamics along pasture chronosequences in the humid tropics. *J. Geophys. Res.* 107:1029-1038.
- Turner, B., Haygarth, P. (2003). Changes in bicarbonate-extractable inorganic and organic phosphorus by drying pasture soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67:344-350.
- Turner, B., Mahieu, N., Condron, L. (2003a). Phosphorus- 31 nuclear magnetic resonance spectral assignments of phosphorus compounds in soil NaOH- EDTA extracts. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 67: 497-510.
- Turner, B., Cade-Menun, B., Westermann, D. (2003b). Organic phosphorus composition and potential bioavailability in semiarid arable soils of the western United States. *Soil Sci. Am. J.* 67: 1168- 1179
- Turrión, M., Gallardo, J., González, M. (2000a). Distribution of P in natural and fertilized forest soils of the central western Spain: plant response to superphosphate fertilization. *Arid Soil Res. Rehabilit.* 14:159-173.
- Turrión, M.B., Glaser, B., Solomon, D., Ni, A., Zech, W. (2000b). Effects of deforestation on Phosphorus pools in Mountain Soils of the Alay Range, Khyrgyzia. *Biol. Fertil. Soils* 31:134-142.
- Turrión, M.B., Gallardo, J., Haumaier, L., González, M., Zech, W. (2001). ^{31}P -NMR characterization of phosphorus fractions in natural and fertilized forest soils. *Ann. For. Sci.* 58: 89- 98.
- Vann, D., Joshi, A., Pérez, C., Johnson, J., Frizano, D., Zarin, D., Armesto, J. (2002). Distribution and cycling of C, N, Ca, Mg, K and P in three pristine, old-growth forests in the Cordillera of Pichué, Chile. *Biogeochem.* 60:25-47.
- Veblen, T., Donoso, C., Kitzberger, T., Robertus, A. (1996). Ecology of southern Chilean and Argentinean *Nothofagus* forests. In: Veblen T, Hill R, Read J (eds.). *The ecology and biogeography of Nothofagus forests*, Yale University Press, Yale, pp 293-353.
- Venegas, C. (1990). Labranza conservacionista. *IPA Carillanca* 9: 3-10.
- Van der Eijk D, Janssen BH, Oenema O. (2006). Initial and residual effects of fertilizer phosphorus on soil phosphorus and maize yields on phosphorus fixing soils- A case study in south-west Kenya. *Agric. Ecosys. Environ.* 116 : 104-120.

- Vitousek, P.M. (1983). The effects of deforestation on air, soil and water. *The Major Biochemical Cycles and Their Interactions*, SCOPE 21, Editors: Bolin, B., Cook, R.B. Wiley, Chichester. 1-40.
- Vitousek, P. (2006). Ecosystem science and human-environment interactions in the Hawaiian archipelago. *J. Ecol.* 94: 510-521.
- Walker, T., Adams, A. (1958). Studies on soil organic matter. I. Influence on phosphorus content of parent materials on accumulation of carbon, nitrogen, sulfur and organic phosphorus in grassland soils. *Soil Sci* 85:307-318.
- Walker T, Syers, J. (1976). The fate of phosphorus during pedogenesis. *Geoderma* 1:1-19.
- Walkley, A., Black, I. (1934). An examination of the degtjareff method for determining soil organic matter and the proposed modification of the chromatic acid titration method. *Soil Sci.* 37:29-38.
- Wallbrink, P., Martin, C., Wilson, C. (2003). Quantifying the contributions of sediment, sediment- P and fertilizer- P from forested, cultivated and pasture areas at the landuse and catchment scale using fallout radionuclides and geochemistry. *Soil Till. Res.* 69: 53-68.
- Wardle, D., Walter, L., Bardgett, R. (2004). Ecosystem properties and forest decline in contrasting long- term chronosequences. *Science* 305:509-513.
- Wassen, M., Venterink, H., Lapshina, E., Tanneberger, F. (2005). Endangered plants persist under phosphorus limitation. *Nature* 437:547-550.
- Whitelaw, M.A. (2000). Growth promotion of plants inoculated with phosphate-solubilizing fungi. *Adv. Agron.* 67: 99-152.
- Wright, C., Coleman, D. (1999). The effects of disturbance events on labile phosphorus fractions and total organic phosphorus in the southern appalachians. *Soil Sci.* 164:391-402.
- Wright, C., Coleman, D. (2000). Cross- site comparison of soil microbial biomass, soil nutrient status, and nematode trophic groups. *Pedobiologia* 44:2-23.
- Zhang, T.Q., MacKenzie, A.F., Sauriol, F. (1999). Nature of soil organic phosphorus as affected by long-term fertilization under continuous corn (*Zea mays* L.): A P-31 NMR study. *Soil Sci.* 164: 662-670.
- Zheng, Z.R., Simard, R., Lafond, J., Parent, L.E. (2002). Pathways of soil phosphorus transformations after 8 years of cultivation under contrasting cropping practices. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 66:999-1007.
- Zheng, Z., MacLeod, J.A., Lafond, J. (2004). Phosphorus status of a Humic Cryaquept profile in a frigid continental climate as influenced by cropping practices. *Biol. Fertil. Soils* 39:467-473.
- Zibilske, L.M., Bradford, J.M. (2003). Tillage effects on phosphorus mineralization and microbial activity. *Soil Sci.* 168:677-685.