

## Actividad biológica y agregados estables al agua en dos tipos de formaciones vegetales de un bosque templado del Centro-Sur de Chile con perturbación antrópica

MARYSOL ALVEAR ✉, FRANCISCO REYES, ALFREDO MORALES, CÉSAR ARRIAGADA & MAURICIO REYES

Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile.

**RESUMEN.** La demanda creciente de productos maderables y no maderables, provenientes de bosques naturales, ha aumentado la tasa de degradación de estos sistemas. Este proceso resulta en la necesidad de conocer cuáles son las variables dinámicas que intervienen en su regulación. En este trabajo determinamos algunos parámetros biológicos del suelo, tales como la hidrólisis de la fluoresceína diacetato (FDA); carbono, nitrógeno y ergosterol de la biomasa microbiana y la actividad de algunas enzimas involucradas en el ciclo del carbono (C) ( $\beta$ -glucosidasa y manganeso peroxidasa), en el ciclo del nitrógeno (N) (ureasa) y en el ciclo del fósforo (fosfatasa ácida). Estudiamos un suelo rizosférico con características de Andisol en dos tipos de bosque (bosque secundario de *Nothofagus obliqua* y bosque maduro de *Aextoxicon punctatum*). Determinamos, además, el porcentaje de agregados estables al agua. Todos los parámetros estudiados resultaron significativamente mayores en el bosque secundario que en el bosque maduro. Nuestros resultados sugieren que la mayor acumulación de materia orgánica en el sitio dominado por las especies caducifolias, principalmente *Nothofagus obliqua*, se traduce en condiciones más favorables para la actividad de los microorganismos, principalmente de la biomasa fúngica, asociadas a una mayor humedad del suelo.

[Palabras clave: ecosistemas forestales, biomasa microbiana, actividades enzimáticas, agregados estables al agua]

**ABSTRACT. Biological activities and water-stable aggregates in two forest types of temperate forest of Central-Southern of Chile with antropic disturbed:** The increasing demand of timber-yielding and not timber-yielding products, from natural forests has increased the rate of degradation. This process makes necessary the understanding of the variables responsible for its regulation. We quantified and compared a number of biological and physical parameters in rhizospheric soil (Andisol) under two forest types (secondary and mature forest). The biological variables evaluated were the fluorescein diacetate hydrolysis (FDA), microbial biomass carbon and nitrogen, ergosterol and the activity of two enzymes involved in the carbon cycle (C) ( $\beta$ -glucosidase and managanese peroxidase), one involved in the nitrogen cycle (N) (urease) and one involved in the phosphorus cycle (P) (acid phosphatase). Additionally we quantified the percentage of water stable aggregates. The entire set of parameters exhibited greater values in secondary forest than those of the mature one. Our results suggest that the greater soil moisture, litter and organic matter accumulation in the secondary forest are responsible for the greater biological activity documented in this system.

[Keywords: forest ecosystems, microbial biomass, enzymatic activities, water stable aggregates]

---

✉ Universidad de La Frontera, Casilla 54-D, Temuco, Chile. Telephone number: 56-45-325438. Fax number: 56-45-325440. [alvear.marysol@gmail.com](mailto:alvear.marysol@gmail.com)

Recibido: 29 de julio de 2005; Fin de arbitraje: 10 de mayo de 2006; Revisión recibida: 2 de octubre de 2006; Segunda revisión recibida: 28 de marzo de 2007; Aceptado: 28 de marzo de 2007.  
Este trabajo fue aceptado durante el proceso editorial de Marcelo Cassini.

## INTRODUCCIÓN

Los bosques templados lluviosos del centro-sur de Chile son ecosistemas que albergan una amplia variación de formaciones vegetales. En ellos es posible observar variaciones en los estados sucesionales, desde bosques jóvenes de segundo crecimiento hasta escasos remanentes de bosques antiguos, con bajo nivel de perturbación. La alta heterogeneidad de ambientes en los que se desarrollan estos bosques es producida por fuertes variaciones latitudinales y altitudinales y perturbaciones ambientales tales como vulcanismo, glaciaciones y deslizamientos de tierra, que contribuyen a elevar la riqueza biológica de estos bosques (Gajardo 1994). El bosque templado lluvioso del sur de Chile esta compuesto por 443 especies de plantas vasculares, con 160 especies leñosas (44 especies de árboles correspondientes a 32 géneros y 20 familias) y 283 especies herbáceas (Salas 2001). Entre los 36° y 39° L S predominan ampliamente las especies latifoliadas caducifolias y en áreas cercanas al límite altitudinal de la vegetación de Los Andes y a partir del paralelo 39, las siempreverdes (Arroyo 1996). La zona de estudio se encuentra en el ecotono entre estos dos tipos de bosques, presentando mayor biodiversidad.

Estos bosques se desarrollan en suelos que se caracterizan por un contenido de C en el horizonte A de alrededor de 3% y un porcentaje de sumatoria de bases entre 30 y 40%. Estos suelos son del tipo Andisol y derivan de cenizas volcánicas (Bürgmann 1998). Son suelos profundos, con una alta capacidad de retención hídrica, una gran capacidad de retención de fosfato altamente mineralizable, muy baja densidad aparente, alto nivel de materia orgánica y alta capacidad de intercambio catiónico, lo que permite el desarrollo de una gran variedad de asociaciones vegetales sobre ellos (CIREN-CORFO 1989). Bajo estas asociaciones, el suelo es capaz de desarrollar una alta proliferación, diversidad y actividad de los microorganismos en los horizontes superficiales del suelo siendo afectados por el manto de las plantas y la rizodeposición, así como también por las propiedades físico-químicas (CIREN-CORFO 1989; Bürgmann 1998). A su vez, los árboles liberan exudados a través de las raíces que sostienen el crecimiento y la

actividad de la biomasa microbiana (Bending et al. 2000).

Los microorganismos juegan un papel fundamental en la sustentabilidad de los diferentes ecosistemas, desarrollando funciones esenciales como el ciclado de nutrientes para el crecimiento de las plantas, formación de humus del suelo, mejora de las propiedades físicas del suelo y el mantenimiento de la biodiversidad de los ecosistemas (Campbell et al. 1997). Existe una serie de parámetros biológicos que son considerados como excelentes bioindicadores de la calidad del suelo (Kennedy & Papendick 1995; Pankhurst et al. 1995; Alvear et al. 2005; Alvear et al. 2006), debiendo ponerse énfasis en el estudio de éstos. Nannipieri y colaboradores (1995), dada la gran cantidad de parámetros biológicos que se describen en la literatura, los agrupan en: parámetros generales y específicos. Los parámetros generales incluyen a todas las variables directamente relacionadas con las actividades microbianas, tales como la biomasa global medida a través de la hidrólisis de la fluoresceína diacetato, el carbono biomásico (CBM), el nitrógeno biomásico (NBM), el contenido de ergosterol, entre otras. Los parámetros específicos son aquellos que incluyen una serie de actividades enzimáticas hidrolíticas extracelulares involucradas en los ciclos del C, N y P, como por ejemplo la  $\beta$ -glucosidasa, la manganeso peroxidasa, la ureasa y la fosfatasa ácida. A su vez, las propiedades físicas del suelo tales como la porosidad, aireación, permeabilidad, capacidad de retención de agua y erosionabilidad, resultan severamente afectadas por la perturbación antrópica. Aravena y colaboradores (2007) señalan que el porcentaje de los agregados estables al agua, una medida de la fuerza de unión entre las partículas elementales de los agregados, resulta un excelente indicador de la calidad del suelo (Cerdà 1998). Los indicadores biológicos y físicos del suelo deberían ser capaces de permitir: (a) analizar la situación actual e identificar los puntos críticos con respecto al desarrollo sostenible; (b) analizar el posible impacto antes de una intervención; (c) monitorear el impacto de las intervenciones antrópicas; y (d) ayudar a determinar si el uso del recurso es sostenible (Hünemeyer et al. 1997).

En el llano central del centro-sur de Chile es posible encontrar relictos de vegetación nativa,

los que corresponden a bosques maduros originales con pequeños bosques secundarios que permanecen esparcidos hacia el interior de estos; corresponden al tipo de bosques densos deciduos (*Lapagerio-Aextoxiconetum*), aún presentes en forma más o menos intacta. En estos relictos dominan especies siempreverde, especialmente *Aextoxicon punctatum*, la cual es la especie dominante y de alto valor ecológico. Esta especie ha sido afectada por la extracción de leña, frutos silvestres, plantas medicinales y hojarasca del piso del bosque; además, constituye rodales puros sólo en sitios que han sido disturbados ya sea por ingreso de ganado bovino y/o la acción del fuego (Veblen & Donoso 1987). Por lo tanto, en ellos es posible encontrar diversos estados de perturbación dependiendo de la intensidad de uso y nivel de extracción de productos forestales no maderables, lo que ocasionaría en ambas formaciones vegetales una disminución de la actividad de los microorganismos asociado a un menor aporte de material vegetal y orgánico. Los parámetros biológicos deberían ser altamente sensibles a estos cambios. El objetivo de estudio fue determinar y comparar algunos parámetros biológicos y los agregados estables al agua en dos formaciones vegetales de un bosque templado del centro-sur de Chile, donde se ha observado un incremento en el grado de perturbación.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Antecedentes generales del área de estudio.

El área de estudio corresponde al predio Ruca-manque, situado en los 38°39' L S y 72°35' L O en la comuna de Temuco, Novena Región de la Araucanía, Chile. Posee una superficie de 435 ha, la altitud media del predio es de 376 msnm y un 62% de su superficie se encuentra entre los 201 y 400 msnm. A grandes rasgos es posible distinguir dos tipos de suelos dependiendo de la altitud: Andisol y suelos de transición entre Andisol y Ultisol. Entre los 400-500 msnm se encuentra el Andisol y en altitudes menores, los de transición, caracterizados por la existencia de ceniza volcánica y presencia de arcilla en los horizontes inferiores (Salas 2001).

**Recolección de las muestras de suelo.** Las muestras de suelo rizosférico se recolectaron en un bosque secundario monoespecífico de

*Nothofagus obliqua* (Mirb) Oerst de 2.4 ha de superficie (65 años) y un bosque maduro de *Aextoxicon punctatum* R. et P de 10 ha de superficie (árboles de la canopia dominante y codominante sobre los 300 años) en diciembre de 2002. En cada bosque se recolectaron cinco muestras de suelo rizosférico, previo despeje del material vegetal superficial, entre los 430 a 490 msnm. Las muestras fueron pasadas por un tamiz de 2 mm de abertura de malla, guardadas en bolsas de plástico isotérmicas y conservadas a 4°C hasta su posterior análisis. Todos los resultados fueron calculados en peso seco (105 °C).

**Determinación de la fluoresceína diacetato (FDA).** Se realizó de acuerdo al método descrito por Schnürer & Roswall (1982), el cual consiste en agregar a 1.5 g de suelo una solución tampón de fosfato sódico  $H_2PO_4Na$  60 mM en presencia de FDA. Para cada suelo se realizó un blanco, que correspondió a la muestra de suelo sin sustrato, mezclando 1.5 g de suelo y 10 mL de la solución tampón. Se incubaron las muestras y los blancos a 25° C durante 60 min. Una vez cumplido el tiempo de incubación se añadieron 10 mL de acetona a todos los tubos. Posteriormente, se filtró y midió en el espectrofotómetro a 490 nm. Los resultados se expresaron como  $\mu g$  de fluoresceína  $g s^{-1}$ .

**Determinación del carbono y nitrógeno biomásico.** Se utilizó el procedimiento general de fumigación-extracción de Vance y colaboradores (1987); la fumigación con cloroformo del suelo se realizó a 25°C durante 24 horas. El testigo correspondió al suelo no fumigado al que también se le practicó el mismo procedimiento. Posteriormente, se realizó una extracción con  $K_2SO_4$  0.5M, a las muestras fumigadas y no fumigadas, que se agitaron durante una hora y se filtraron. El flujo de N asociado a la biomasa se determinó de forma general a partir del N reactivo a ninhidrina, siguiendo la técnica colorimétrica de Joergensen & Brookes (1990). A una alícuota de los extractos fumigados y no fumigados se le incorporó 5 ml de ninhidrina recién preparada y se calentó durante 20 min a temperatura de ebullición y se realizó la lectura contra un blanco reactivo a 570 nm. Las lecturas se compararon con una recta patrón preparada en idénticas condiciones (Joergensen 1996) y los resultados se expresan como  $mg$  de N  $Kg s^{-1}$ . El C en los extractos

fumigados y no fumigados se determinó mediante oxidación con dicromato. Los resultados obtenidos correspondieron a la diferencia entre los suelos fumigados y no fumigados, y se expresaron como mg de C kg s<sup>-1</sup>.

#### **Determinación del contenido de ergosterol.**

Se utilizó el procedimiento descrito por Montgomery y colaboradores (2000). Muestras de suelo de 0.25 mg se colocaron dentro de un tubo de ensayo tratado con 2 ml de metanol y 0.5 ml de NaOH 2 M, sellado herméticamente. Las muestras se calentaron durante 18 seg. y, luego de enfriarse durante 15 min, se irradiaron por otros 17 seg. El contenido de los tubos se neutralizó con HCl 1 M, se trató con 2 ml de metanol, se agitó y extrajo con hexano, que luego se evaporó con N<sub>2</sub>. Los residuos fueron suspendidos en 200 µL de metanol grado HPLC, se inyectaron en columna RP-18 y se efectuaron las determinaciones a 270 nm.

**Determinación de la actividad β-glucosidasa.** Se utilizó el método descrito por Alvear y colaboradores (2005). Se mezclaron 1.5 g de suelo con una solución tampón MUB, 1 ml de paranitrofenil β-D-glucopiranosido 25 mM y se incubó durante 1 hora a 37° C. Posteriormente se enfrió, se agregó CaCl<sub>2</sub> 2 M, luego se filtró sobre la solución extractante THAM-NaOH 0.1 M. El p-nitrofenol (PNF) liberado se determinó espectrofotométricamente a 400 nm. Para cada muestra se realizó un blanco, que es la muestra de suelo a la que se le añade el sustrato después del periodo de incubación, que se refiere a la hidrólisis inespecífica del p-nitrofenil fosfato (PNFF). La actividad de la enzima β-glucosidasa se expresó en µmoles de PNF g s<sup>-1</sup>.

**Determinación de la actividad manganeso peroxidasa.** Se procedió según la metodología descrita Diez y colaboradores (2006). Se mezcló 1 g de suelo en solución tampón de tartrato de sodio 0.1 M pH 5.0; H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 0.1 mM y 0.1 mM MnSO<sub>4</sub> y se midió la oxidación del Mn (II) a Mn (III) a una longitud de onda de 238 nm. La actividad Mn-peroxidasa se expresó en µmol Mn<sup>+3</sup> g s<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>. Se utilizó el coeficiente de extinción molar de 6.5 mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> (Paszczynski et al. 1988).

**Determinación de la actividad ureasa.** Se determinó mediante el procedimiento descrito

por Gil-Sotres et al. (1992). Se mezclaron 1 g de suelo con solución tampón fosfato de H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> pH 8 y urea 6.4%, se incubó en baño de agua a 37° C durante 2 horas. Posteriormente, se agregó KCl 2 M y se agitó. El amonio liberado se midió en ElectrodoIÓN Selectivo. Cada muestra se comparó con un blanco que se preparó como la muestra, a la cual se le añadió agua destilada en vez de urea. La actividad de la enzima ureasa se expresó en µmoles de NH<sub>3</sub> g s<sup>-1</sup> h<sup>-1</sup>.

**Determinación de la actividad fosfatasa ácida.** Se procedió de acuerdo al método descrito por Alvear y colaboradores (2005). Se mezcló 1 g de suelo con una solución tampón MUB pH 5.5 y p-nitrofenil fosfato (PNFF) 0.18 M. Posteriormente, se procedió a incubar el testigo y las muestras por espacio de 1 hora a 20° C. A continuación se añadió CaCl<sub>2</sub> 0.5 M, se agitó y filtró. El filtrado se recibió sobre NaOH 0.5 M, se homogeneizó y centrifugó a 2800 rpm durante 5 minutos. El PNF liberado se determinó espectrofotométricamente a 400 nm. La actividad de la enzima fosfatasa se expresó como µmoles de PNF g s<sup>-1</sup>.

**Determinación de los agregados estables al agua.** Se utilizó la técnica descrita por Kamper & Rossenau (1986) y Wright & Upadhyaya (1998). Las muestras de suelo, tamizadas a 2 mm de malla, se pasaron por un tamiz de 1 mm de malla; las partículas del suelo que quedaron sobre el tamiz, se pesaron y depositaron 4 g sobre otro tamiz con malla de 0.25 mm. Luego, se simuló una llovizna con agua destilada y se dejó reposar por 20 minutos. Posteriormente, se sumergió en agua el tamiz con la muestra de suelo en un recipiente mayor, 37 veces por minuto, por espacio de 7 minutos. Las partículas de suelo que permanecieron sobre el tamiz fueron arrastradas y trasladadas con agua destilada a un recipiente de menor volumen; estas partículas corresponden a los agregados estables al agua. Posteriormente, ambas muestras se llevaron a estufa durante 24 horas a 105° C. Para determinar el porcentaje de agregados estables al agua se procedió según la ecuación utilizada por Kamper & Rossenau (1986).

**Diseño experimental y análisis estadístico.** El diseño del muestreo fue completamente al azar, en cada uno de los dos tipos de bosque (bosque secundario y bosque maduro) y las

variables corresponden a los análisis realizados. Cada muestra se analizó por triplicado. Las variables se analizaron con pruebas no paramétrica de Kolmogorov-Smirnov (K-S) para verificar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas. A aquellas variables que presentaron tales supuestos se les realizó un análisis de la varianza, con un nivel de significancia de 95% ( $P < 0.05$ ). A los datos que no cumplieron con tales supuestos se les aplicó la prueba de dos muestras de Kolmogorov-Smirnov (K-S) para determinar diferencias significativas con un nivel de significancia de 95% ( $P < 0.05$ ).

## RESULTADOS

Los suelos de ambos tipos de bosque no mostraron diferencias en los parámetros químicos analizados (Tabla 1). Los valores de pH ( $H_2O$ ) mostraron que ambos sistemas poseen suelos ácidos a moderadamente ácidos, con una alta capacidad de intercambio catiónico. El contenido de materia orgánica (MO) fue elevado en ambos tipos de bosque y la presencia de metales pesados, tales como aluminio y cobre, mostraron niveles bajos (Tabla 1).

Los parámetros biológicos evaluados fueron mayores en el bosque secundario que en el maduro (Tabla 2). La hidrólisis de la FDA del bosque secundario aproximadamente duplicó a la del bosque maduro ( $F_4 = 228.6$ ;  $P < 0.000$ ). El NBM presentó valores promedios significativamente mayores (Test no paramétrico K-S;  $P < 0.037$ ) en el bosque secundario. Los valores promedio obtenidos para el contenido de ergosterol fueron significativamente más altos ( $F_8 = 261.5$ ;  $P < 0.000$ ) en el bosque secundario.

La humedad del suelo, la acumulación de material vegetal fresco, especie y tipo de asociación simbiótica y el pH del suelo, también resultaron mayores en el bosque secundario que en el maduro (Tabla 3). Ambos bosques presentaron un buen nivel de agregación del suelo (Tabla 4). No obstante, los valores promedios obtenidos para el porcentaje de agregados estables al agua fueron significativamente mayores en el bosque secundario ( $F_8 = 100.5$ ;  $P < 0.000$ ). Los niveles de correlación obtenidos entre los parámetros biológicos y el parámetro físico fueron significativos ( $R > 0.80$ ;  $P < 0.05$ ) (Tabla 5).

**Tabla 1.** Análisis de propiedades químicas en un Andisol bajo dos tipos de bosque. Entre paréntesis se indica el error estándar ( $n=5$ )

**Table 1.** Chemical analyses in an Andisol under two forest types. Standard error indicated in parentheses ( $n=5$ ).

Parámetros químicos	Bosque secundario	Bosque maduro
N (mg/kg)	22 (0.6)	26 (0.5)
P (mg/kg)	8 (0.20)	11 (0.25)
K (mg/kg)	321 (16.1)	414 (16.5)
pH (agua)	5.0 (0.21)	5.4 (0.16)
Materia orgánica (%)	33 (0.66)	31 (0.93)
K (cmol+/kg)	0.8 (0.03)	1.1 (0.02)
Na (cmol+/kg)	0.2 (0.008)	0.1 (0.003)
Ca (cmol+/kg)	31.5 (1.57)	32.2 (1.61)
Mg (cmol+/kg)	5.6 (0.11)	6.2 (0.18)
Al (cmol+/kg)	0.02 (0.001)	0.03 (0.001)
Saturación de Al (%)	0.05 (0.001)	0.08 (0.002)
CICE (cmol+/kg)	38.1 (1.14)	39.9 (1.59)
S. Bases (cmol+/kg)	38.1 (1.04)	39.8 (0.99)
Cu (mg/kg)	0.1 (0.004)	0.5 (0.015)
Humedad del Suelo (%)	56.1 (2.24)	48 (2.40)

## DISCUSIÓN

La mayor actividad microbiana y fúngica en el bosque secundario apareció asociada a la mayor humedad del suelo, condición que favorece el desarrollo y proliferación de la biomasa microbiana y que aumenta la tasa de descomposición, liberación, movilización y toma de nutrientes por los árboles y los microorganismos, especialmente rizosféricos (Jones 1998). La menor disponibilidad de agua en el bosque maduro afecta la población de microorganismos y hongos, disminuyendo su actividad e incluso redistribuyéndose en el suelo (García-Alvarez & Ibáñez 1994). Si bien en este estudio no establecimos la presencia o abundancia de hongos micorrízicos, *Nothofagus obliqua* es una especie capaz de establecer simbiosis mutualista con hongos ectomicorrízicos con lo que aumenta la superficie de absorción y de exudado de nutrientes resultando en una mayor capacidad interna del ciclo de nutrientes

**Tabla 2.** Valores medios de la biomasa microbiana en un andisol bajo dos tipos de bosque. Entre paréntesis se indica el error estándar (n=5).

**Table 2.** Mean values of microbial biomass in an Andisol under two forest types. Standard error indicated in parentheses (n=5).

Tipo de bosque	FDA (mg F g s <sup>-1</sup> )	CBM (mg C kg s <sup>-1</sup> )	NBM (mg N g s <sup>-1</sup> )	Ergosterol (mg g s <sup>-1</sup> )
Bosque secundario	45.06 (0.57)	876.6 (15.9)	73.48 (0.89)	3 (0.05)
Bosque maduro	22.48 (0.58)	668.8 (14.35)	66 (1.55)	2.28 (0.03)

**Tabla 3.** Valores medios de las actividades enzimáticas en un andisol bajo dos tipos de bosque. Entre paréntesis se indica el error estándar (n=5).

**Table 3.** Mean values of enzymatic activities in an Andisol under two forest types. Standard error indicated in parentheses (n=5).

Tipo de bosque	β-glucosidasa (μmol PNF g s <sup>-1</sup> )	Mn-peroxidasa (μmol Mn <sup>+3</sup> g <sup>-1</sup> min <sup>-1</sup> )	Ureasa (μmol NH <sub>3</sub> g s <sup>-1</sup> )	Fosfatasa ácida (μmol PNF g s <sup>-1</sup> )
Bosque secundario	2.22 (0.02)	604.8 (5.37)	9.22 (0.12)	179.34 (4.64)
Bosque maduro	1.84 (0.05)	426.8 (8.46)	7.94 (0.08)	115.1 (2.16)

(Maxwell & Coleman 1995). Esta simbiosis tiende a incrementar la tasa de C, ya que las raíces secretan compuestos orgánicos, lo que generaría mayor cantidad de sustratos carbonados (Leyval & Berthelin 1993). Este excedente en C usualmente incrementa la biomasa microbiana en la rizósfera. En el bosque maduro en tanto, el menor contenido de C en la biomasa microbiana se asociaría a la menor incorporación de residuos vegetales. *Aextoxicon punctatum*, es una especie que desarrolla simbiosis endomicorrícica y la superficie rizosférica es menor lo que limita la tasa de transferencia e inmovilización de nutrientes. Esto concuerda con lo señalado por Rad y colaboradores (2004) en cuanto a que las actividades de los microorganismos dependen de las características del suelo afectado por las especies arbóreas, principalmente a nivel de rizósfera y de los horizontes superficiales del suelo.

La mayor cantidad de N en la biomasa microbiana en el bosque secundario, además de depender de los factores discutidos más arriba, para la actividad microbiana, aumentaría con la mineralización del N durante el periodo en que el crecimiento y desarrollo de las plantas es más rápido, bajo condiciones medioambientales favorables (Singh et al. 1989). Sin embargo, en concordancia con lo señalado por Janssen (1996), el hecho que exista un mayor

aporte de residuos orgánicos frescos en el bosque secundario no indica necesariamente que haya una mayor liberación de compuestos nitrogenados sino que podría ocurrir una mineralización de sustratos con bajo contenido de N, y que pequeñas cantidades de este elemento mineralizado pueden ser liberados al suelo, satisfaciendo mayormente las necesidades de los microorganismos.

La mayor biomasa fúngica, determinada por el contenido de ergosterol, en el bosque secundario estaría dada por la condición de acidez y la capacidad de intercambio catiónico del suelo, ya que el ergosterol tiende a aumentar a medida que decrece el pH del suelo. Es decir que, a medida que el pH del suelo se torna más ácido tiende a prevalecer la biomasa fúngica sobre la bacteriana y viceversa. El mayor contenido de ergosterol en el bosque secundario, se debería en parte a que los elementos minerales que circulan con facilidad hacia la rizósfera y en la solución del suelo pueden ser captados por las hifas de los hongos ectomicorrícicos que se asocian a la especie *Nothofagus oblicua*, en cambio, la menor biomasa fúngica en el bosque maduro (*Aextoxicon punctatum*), basado en la observación de hifas, probablemente refleje la asociación endomicorrícica (Sthal & Parkin 1996). El nivel de correlación entre el CBM y el contenido de ergosterol in-

**Tabla 4.** Valores medios de los agregados estables al agua en un andisol bajo dos tipos de bosque. Entre paréntesis se indica el error estándar (n=5).

**Table 4.** Mean values of water stable aggregates in an Andisol under two forest types. Standard error indicated in parentheses (n=5).

Tipo de Bosque	Agregados estables al agua (%)
Bosque Secundario	90.68 (0.20)
Bosque Maduro	86.68 (0.24)

dica que los hongos utilizan compuestos carbonados liberados por las raíces, específicamente en el bosque secundario.

La mayor humedad del suelo y acumulación de MO fresca en el bosque secundario tendería a incrementar la actividades enzimática, ya que el producto de la degradación del material vegetal facilita la entrada de C y N al sistema, que sirve como fuente de energía, sobre todo para aquellas enzimas relacionadas con los ciclos del C y N (García-Gil et al. 2004). La  $\beta$ -glucosidasa incrementa su actividad al haber mayor acumulación de MO y contenido de C en el suelo, participando en la mineralización de compuestos carbonados celobiósicos. Algunos autores (Deng & Tabatabai 1996), señalan que una mayor proliferación de biomasa fúngica estimulan el exudado de las raíces, y estas, a su vez, la actividad de la enzima, ya que la fuente primaria de la enzima  $\beta$ -glucosidasa viene dada por la mayor proliferación de hongos, situación que se ve reflejada en la alta correlación de la enzima y el contenido de ergosterol y también con otras enzimas que son secretadas por hongos como la Mn-peroxidasa y fosfatasa ácida. El pH también habría incidido en la actividad de la  $\beta$ -glucosidasa. Eivazi & Tabatabai (1990) postulan que el rango de pH óptimo para la actividad de ésta enzima es de 4 a 5. Por su parte, la Mn-peroxidasa, estaría relacionada con los hongos responsables de la podredumbre blanca documentada en el bosque secundario (Hofrichter 2002). Se ha demostrado que la Mn-peroxidasa es capaz de mineralizar la lignina y compuestos a base de lignina en cantidades considerables (Hofrichter et al. 1998). La acción de los hongos descomponedores de lignina y celulosa presentes en las ramas y ramillas, que forman

parte del material vegetal acumulado en la superficie del suelo, estimularían la secreción de la Mn-peroxidasa, al incorporar sustratos de fácil asimilación para la enzima y otros microorganismos. La relación que se establece entre la enzima exudada por los hongos queda claramente estipulada en la alta correlación entre la Mn-peroxidasa y el contenido de ergosterol.

La mayor actividad ureasa en el bosque secundario estaría dada por la mayor acumulación de material vegetal y contenido de MO y biomasa microbiana. Al respecto, Deng & Tabatabai (1996) señalan que la distribución de esta enzima en el suelo es reflejo de la distribución de la MO y de una mayor actividad de la biomasa microbiana. La actividad de la biomasa microbiana facilita los procesos de descomposición y mineralización del material orgánico depositado en la superficie del suelo, cuando existen las condiciones de humedad para ello, lo cual genera mayor cantidad de sustratos y compuestos nitrogenados que favorecen el accionar de la ureasa y de otras enzimas capaces de hidrolizar  $\text{NH}_3$  (Contreras et al. 1995). El mayor pH del suelo en bosque maduro (Tabla 1) se asocia a un aumento de la biomasa bacteriana la que participa en el proceso de amonificación, responsables en gran parte de la secreción de la enzima; además, los valores más bajos para ureasa quizás reflejan una menor tasa de mineralización del N (Swensen & Bakken 1998). Los mayores valores encontrados en el bosque secundario podrían ser el resultado de un efecto combinado de la actividad ureasa, mayor contenido de CBM, asumiendo igual nivel de C orgánico, y de pH, ya que todos estos factores favorecen el proceso de mineralización del N del suelo.

La actividad fosfatasa ácida está relacionada con la variación de la MO y en la población microbiana inducida por las plantas. El alto número de raíces finas en el bosque secundario, producto de la simbiosis con hongos ectomicorrízicos, desarrolla zonas de contacto entre éstas y la solución del suelo en donde los microorganismos y las raíces son capaces de exudar una cierta cantidad de la enzima fosfatasa; exudado que disminuye en el bosque maduro, al haber menor superficie de contacto. Al existir mayores niveles de P disponible, como consecuencia de una mayor tasa de des-

**Tabla 5.** Correlación de los parámetros biológicos y de los agregados estables al agua en un Andisol bajo dos tipos de bosque. Correlación de Pearson con un nivel de significancia de 95% ( $P < 0.05$ ).

**Table 5.** Correlations among some biochemical parameters and water stable aggregates in an Andisol under two forest types. Pearson correlation, significance level 95% ( $P < 0.05$ ).

	FDA	CBM	Ergosterol	$\beta$ -glucosidasa	Mn peroxidasa	Fosfatasa ácida	AEA
FDA	1	0.89	0.98	0.88	0.97	0.88	0.95
CBM		1	0.92	0.83	0.88	0.83	0.91
Ergosterol			1	0.87	0.93	0.81	0.9
$\beta$ -glucosidasa				1	0.81	0.85	0.94
Mn peroxidasa					1	0.85	0.97
Fosfatasa ácida						1	0.94
AEA							1

composición de la MO y humedad del suelo en el bosque maduro, se genera una disminución en la actividad enzimática, lo cual concuerda con otros autores (Olander & Vitousek 2000), ya que el producto final de la reacción enzimática genera una retroalimentación o retroinhibición. La relación entre el pH del suelo y la enzima, en ambos tipos de bosque, sugiere que su actividad varía con la condición de acidez o alcalinidad del suelo, ya que los hongos, que son los microorganismos que exudan en gran parte la enzima, modifican su población y actividad de acuerdo al pH del suelo; a medida que el pH tiende a la alcalinidad (bosque maduro) comienzan a proliferar bacterias por sobre los hongos; la relación establecida entre la actividad fosfatasa y los hongos micorrízicos, principalmente, determinados a través del contenido de ergosterol, junto con el CBM, queda demostrada con la alta correlación obtenida entre cada parámetro (Tarafdar & Marschner 1994; Aguilera et al. 1997).

El mayor contenido de humedad edáfica que existe en el bosque secundario, traería como consecuencia una mayor disponibilidad de agua para los árboles, que favorecería la estabilización de agregados de agua. Además, una mayor retención de humedad junto a buenas condiciones de aireación favorece un ambiente más apropiado para el desarrollo de las poblaciones microbianas. La mayor estabilidad de agregados en el bosque secundario también estaría dada por la mayor acumulación de MO, la cual actúa como principal agente estabiliza-

dor de la estructura del suelo (Gerzabek et al. 1995); esto está relacionado con las propiedades hidromórficas de algunos constituyentes orgánicos y la estructura del suelo, favoreciendo posiblemente la cantidad de aire encapsulado dentro de los materiales del suelo durante la absorción, disminuyendo la entrada de agua a los agregados (Sullivan 1990). De esta manera, en suelos estabilizados por la MO, la estabilidad depende del material orgánico del suelo y la actividad y proliferación de la BM. A su vez, la mayor acumulación de la MO en el bosque secundario incide en un aumento en la cantidad y transferencia de C orgánico a inorgánico considerado por varios autores (Pritchett 1991) como un factor relevante por ser fuente primaria de energía para los microorganismos, lo que se aprecia en la significativa correlación que encontramos entre los agregados estables y el C de la biomasa microbiana.

La biomasa fúngica y la biomasa microbiana, existentes tanto en bosque secundario como bosque maduro, desarrollan un importante rol en el mantenimiento de la estabilidad de los agregados asociada a la simbiosis mutualística entre los árboles y hongos micorrízicos, Borie y colaboradores (2000) y Arriagada y colaboradores (2004) sugieren que las hifas de hongos ectomicorrízicos, estabilizan los agregados en diversos suelos forestales demostrado por la alta correlación entre éste parámetro y la biomasa fúngica. Murer & Kandeler (1993) sugieren que las hifas de los hongos al ir desarrollándose se unen a otras partículas del



suelo y generan zonas de contacto, sobre todo a nivel de rizósfera, donde se secretan polisacáridos extracelulares que son los que finalmente se asocian en diferentes puntos de las partículas del suelo.

## AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por el proyecto DIDUFRO N° 120316 de la Universidad de La Frontera.

## BIBLIOGRAFÍA

- AGUILERA, S; G BORIE; P PEIRANO & G GALINDO. 1997. Organic matter in volcanic soils in Chile: Chemical and Biochemical characterization. *Communications in Soil Science Plant Analysis*, **28**:899-912.
- ALVEAR, M; A ROSAS; JL ROUANET & F BORIE. 2005. Effects of three soil tillage systems on some biological activities in Ultisol from Southern Chile. *Soil Tillage Research*, **82**: 195-202.
- ALVEAR, M; M PINO; C CASTILLO; C TRASAR-CEPEDA & F GIL-SOTRES. 2006. Efecto de la cero labranza sobre algunas actividades biológicas en un alfisol del sur de Chile. *Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, **6** (2): 38-53.
- ARAVENA, C; MC DIEZ; F GALLARDO; ML MORA & C VALENTÍN. 2007. Utilización de lodo de la industria de celulosa y su efecto sobre las propiedades físico-químicas en suelos volcánicos degradados. *Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*. In Press.
- ARRIAGADA, C; M HERRERA; I GARCÍA-ROMERA & J OCAMPO. 2004. Tolerance to Cd of soybean (*Glycine max*) and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) inoculated with arbuscular mycorrhizal and saprobe fungi. *Symbiosis*, **36**: 285-299.
- ARROYO, MTK; L CAVIERES; A PEÑALOZA; M RIVEROS & A FAGGI. 1996. Relaciones fitogeográficas y patrones regionales de riqueza de especies en la flora del bosque lluvioso templado de Sudamérica. Pp. 71-99 in: *Ecología de los bosques nativos de Chile*. J. Armesto, C. Villagrán, M.K. Arroyo, eds. Editorial Universitaria. Santiago, Chile.
- BENDING, GD; C PUTLAND & F RAYNS. 2000. Changes in microbial community metabolism and labile organic matter fractions as early indicators of the impact of management on soil biological quality. *Biology and Fertility of Soils*, **31**:78-84.
- BORIE, F; R RUBIO; A MORALES & C CASTILLO. 2000. Relación entre la densidad de hifas de hongos micorrizógenos arbusculares y producción de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza. *Revista Chilena de Historia Natural*, **73**:749-756.
- BÜRGMANN, H. 1998. *Soil quality changes under Pinus radiata plantations in the IX th region of Chile; applicability of soil microbial activity and nutrient analysis for the evaluation of sustainability*. Diplomarbeit, Universität Bayreuth. Bayreuth, Alemania. 128 p.
- CAMPBELL, C; S GRAYSTON & D HIRST. 1997. Use of rhizosphere carbon sources in sole carbon source tests to discriminate soil microbial communities. *Journal of Microbiological Methods*, **30**:33-41.
- CERDA, A. 1998. Soil aggregate stability under different Mediterranean vegetation types. *Catena*, **32**:73-86.
- CIREN-CORFO. 1989. Descripción de suelos y materiales y símbolos. Estudio agroecológico de la provincia de Cautín, IX Región. *Publicación Ciren*, N° 77.
- CONTRERAS, F; C RIVERO & J PAOLINI. 1995. Efecto de la Incorporación de Residuos Orgánicos y dos Tipos de Labranza sobre la Actividad de la Ureasa en un Alfisol. *Venesuelos*, **3**:2-6.
- DENG, SP & MA TABATABAI. 1996. Effect of tillage and residue management on enzyme activities in soils. II Glycosidases. *Biology and Fertility of Soils*, **22**: 208-213.
- DIEZ, MC; F GALLARDO; G SAAVEDRA; M CEA; L GIANFREDA; M ALVEAR. 2006. Effect of pentachlorophenol on selected soil enzyme activities in a Chilean andisol. *Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal*, **6**:40-51.
- EIVAZI, F & MA TABATABAI. 1990. Factors affecting glucosidase and galactosidase activities in soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **22**:891-897.
- GAJARDO, R. *La vegetación natural de Chile*. 1994. *Clasificación y distribución geográfica*. Editorial Universitaria. Santiago, Chile.
- GARCÍA-ALVAREZ, A & JJ IBÁÑEZ. 1994. Seasonal fluctuations and crop influence on microbiota and enzyme activity in fully developed soils of Central Spain. *Arid Soil Research and Rehabilitation*, **8**: 161-178.
- GARCÍA-GIL, J; C PLAZA; N SENESI; G BRUNETTI & A POLO. 2004. Effects of sewage sludge amendment of humic acids and microbiological properties of a semiarid Mediterranean soil. *Biology and Fertility of Soils*, **39**:320-328.
- GERZABEK, M; H KIRCHMANN & F PICHLMAYER. 1995. Response of soil aggregate stability to manure amendments in Ultima long-term organic matter experiment. *Zeitschrift für Pflanzenernährung und Bodenkunde*, **158**:257-560.
- GIL-SOTRES, F; M TRASAR-CEPEDA; C CIARDI; B CECCANTTI & M LEIROS. 1992. Biochemical characterization of biological activity in very young

- mine soils. *Biology and Fertility of Soils*, **13**:25-30.
- HOFRICHTER, M. 2002. Review: lignin conversion by manganese peroxidase. *Enzyme and Microbial Technology*, **30**:454-466.
- HOFRICHTER, M; K SCHEIBNER; I SCHNEEGASS & W FRITSCH. 1998. Enzymatic combustion of aromatic and aliphatic compounds by manganese peroxidase from *Nematoloma frowardii*. *Applications Environment Microbiology*, **64**:399-404.
- HÜNNEMEYER, JA; R DE CAMINO & S MÜLLER. 1997. *Análisis del desarrollo sostenible en centroamérica: Indicadores para la agricultura y los recursos naturales*. IICA/GTZ. San José, Costa Rica.
- JANSSEN, BH. 1996. Nitrogen mineralization in relation to C:N ratio and decomposability of organic material. *Plant and Soil*, **181**:39-45.
- JOERGENSEN, R & P BROOKES. 1990. Ninhydrin-reactive measurements of microbial biomass in 0.5 M K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> soil extracts. *Soil Biology and Biochemistry*, **22**:1023-1028.
- JOERGENSEN, R. 1996. Quantification of microbial biomass by determining ninhydrin-reactive N. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**:301-306.
- JONES, D. 1998. Organics acids in the rhizosphere a critical review. *Plant and Soil*, **205**:25-44.
- KAMPER, WD & RC ROSSENAU. 1986. Aggregate stability and size distribution. pp. 427-442 in: *Methods of Soil Analysis, part I. Physical and Mineralogical Methods-Agronomy*. Monograph N° 9 (2nd edition).
- KENNEDY, AC & RI PAPENDICK. 1995. Microbial characteristics of soil quality. *Journal of Soil and Water Conservation*, **6**:243-248.
- LEYVAL, C & J BERTHELIN. 1993. Rhizodeposition and net release of soluble organic compounds by pine and beech seedlings inoculated with rhizobacteria and ectomycorrhizal fungi. *Biology and Fertility of Soils*, **15**:259-267.
- MAXWELL, RA & DC COLEMAN. 1995. Seasonal dynamics of nematode and microbial biomass in soils of riparian - zone forests of the southern Appalachians. *Soil Biology and Biochemistry*, **27**: 79-84.
- MONTGOMERY, HJ; CM MONREAL; JC YOUNG & KA SEIFERT. 2000. Determination of soil fungal biomass from soil ergosterol analysis. *Soil Biology and Biochemistry*, **32**:1207-1217.
- MURER, E & E KANDELER. 1993. Aggregate stability and soil microbial processes in a soil with different cultivation. *Geoderma*, **56**:503-513.
- NANNIPIERI, P; L LANZI & J BADALUCCO. 1995. La capacità metabolica a la qualità del suolo. *Agronomia*, **29**:312-316.
- OLANDER, LP & PM VITOUSEK. 2000. Regulation of soil phosphatase and chitinase activity by N and P availability. *Biogeochemistry*, **49**:175-190.
- PANKHURST, CE; BG HAWKE; HJ McDONALD; CA KIRKBY; JC BUCKERFIELD ET AL. 1995. Evaluation of soil biological properties as potential bioindicators of soil health. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, **35**:1015-1028.
- PASZCZYNSKI, A; R CRAWFORD & V-B HUYNH. 1988. Manganese peroxidase of *Phanerochaete chrysosporium*: purification. *Methods in Enzymology*, **161**:264-270.
- PRITCHETT, WL. 1991. *Suelos Forestales*. Editorial Limusa. Ciudad de México, México. 634 pp.
- RAD, C; J ARROYO; D PÉREZ-ALONSO; D RODRÍGUEZ-UNAMUNO; S GONZÁLEZ-CARCEDO & J ITURRONDORBEITIA. 2004. *The role of organic matter in supporting the biological activity and the mesofaunal diversity in the upper horizon of soils with different levels of disturbance*. www.bodenkunde.uni-freiburg.de/eurosoil.
- SALAS, C. 2001. Caracterización básica del relicto de biodiversidad Rucamanque. Bosque Nativo, **29**:3-9.
- SCHNÜRER, J & T ROSSWALL. 1982. Fluorescein diacetate hydrolysis as a measure of total microbial activity in soil and litter. *Applied environment microbiology*, **43**:1256-1261.
- SINGH, J; A RAGHUBANSHI; R SINGH & S SRIVASTAVA. 1989. Microbial biomass acts as a source of plants nutrients in dry tropical forest and savanna. *Nature*, **338**:499-500.
- STHAL, PD & TB PARKIN. 1996. Relationship of soil ergosterol concentration and fungal biomass. *Soil Biology and Biochemistry*, **28**:847-855.
- SULLIVAN, L. 1990. Soil organic matter, air encapsulation and water stable aggregation. *Soil Science*, **41**:529-534.
- SWENSEN, B & L BAKKEN. 1998. Nitrification potential and urease activity in a mineral subsoil. *Soil Biology and Biochemistry*, **30**:1333-1341.
- TARAFDAR, JC & H MARSCHNER. 1994. Phosphatase activity in the rhizosphere and hiphosphera of VA micorrhizal wheat supplied with organic and inorganic phosphorus. *Soil Biology and Biochemistry*, **26**:387-395.
- VANCE, F; P BROOKES & D JENKINSON. 1987. Microbial biomass measurements in forest soils: The use of the cloroform fumigation-incubation method in strongly acid soils. *Soil Biology and Biochemistry*, **19**:697-702.
- VEBLEN, TT & C DONOSO. 1987. Alteración Natural y Dinámica Regenerativa de las Especies Chilenas de *Nothofagus* de la Región de los Lagos. *Bosque*, **8**: 133-142.
- WRIGHT, S & A UPADHYAYA. 1998. A survey of soils foe aggregate stability and glomalin, a glyco-protein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. *Plant and Soil*, **198**:97-107.