

DISTRIBUCION DEL AZOTOBACTER EN PROFUNDIDAD EN SUELOS DE TUCUMAN ¹

Por ANTONIO J. GARBOSKY ²

Debido a que el *Azotobacter* es considerado bacteria aerobia obligatoria, se admite que en los suelos agrícolas, encuentra condiciones adecuadas para su actividad biológica, solamente en la capa arable superficial (0-20 cm), donde existe mucha aereación, y no en capas más profundas (1-1,50-2,00 m).

Sin embargo, en 1952, Tschapek y Garbosky (10), (11), (13), utilizando una cámara especial, bajo microscopio, de material plástico transparente (Plexiglas o Lucite) (Fig. 1) han demostrado que estas consideraciones no corresponden a la realidad. La profundidad y distribución del desarrollo del *Azotobacter*, en el perfil de la solución nutritiva, depende de dos factores: *a*), concentración de la sustancia energética (manita); y *b*), concentración del oxígeno atmosférico disuelto en la misma (presión parcial de oxígeno).

En condiciones ambientales normales, es decir, con presión parcial de oxígeno 20 %, el *Azotobacter* desarrolla en la superficie de la solución nutritiva, únicamente, si la concentración de la sustancia energética es superior a 0,5 g por litro; pero, si la concentración energética es inferior, se forma una capa de bacterias móviles a distintas

¹ Trabajo realizado en el Instituto de Suelos y Agrotecnia del Ministerio de Agricultura y Ganadería de la Nación y publicado en inglés en el VI Congreso Internacional de la Ciencia del Suelo (París, 28 de agosto — 8 de setiembre de 1956).

² Ingeniero agrónomo, Jefe del Laboratorio de Microbiología de Suelo del instituto mencionado y Jefe de Trabajos Prácticos de la Cátedra de Climatología y Fenología Agrícolas de la Facultad de Agronomía de La Plata.

profundidades, cuya ubicación está en relación inversa a dicha concentración de sustancia energética.

Manteniendo constante la concentración de material energético, pero variando la presión parcial del O_2 , también se modificará la ubicación y profundidad del desarrollo de la película bacteriana móvil, en relación directa a dicha presión de O_2 .

Como el *Azotobacter* no desarrolla, según se ha observado hasta el presente, en la superficie de los extractos acuosos de suelos de la

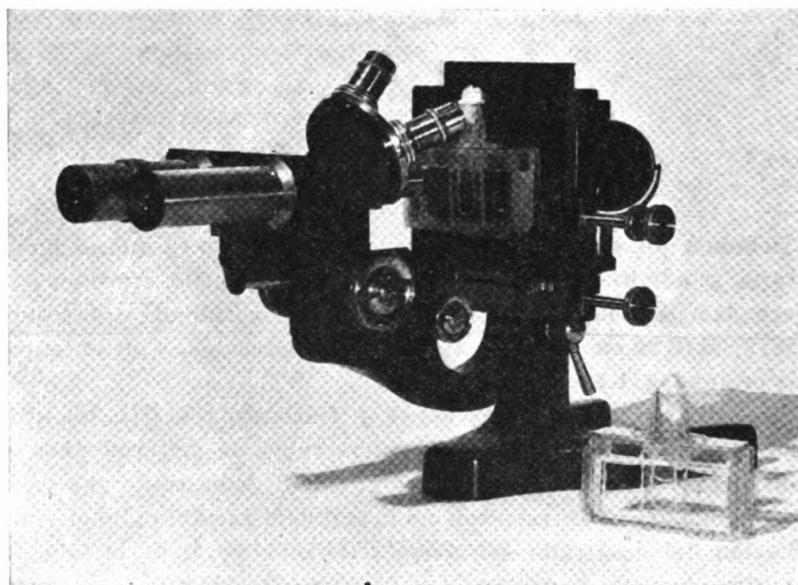


Fig. 1. — Cámara especial de observación directa (Tschapek y Garbosky, 1952)

capa arable (0-20 cm), se puede afirmar que la concentración de material energético, existente hasta esa profundidad en el suelo, factible de ser utilizada por dicha bacteria, es inferior a 0,5 g por litro.

En estas condiciones, la presión del O_2 del aire, en la capa arable del suelo, es inhibitoria para la actividad del *Azotobacter*, obligándolo a encontrar condiciones más apropiadas, ya sea en profundidad, o en zonas del suelo que contenga suficiente cantidad de agua (aireación mínima). Que la presión del O_2 del aire (0,21 atm.) es inhibitoria para el metabolismo del *Azotobacter*, ya fué establecido antes (6), (2) y posteriormente corroborado (7).

Por lo tanto, las mejores condiciones exigidas por el *Azotobacter*

para su actividad biológica, se encontrarían en lugares anegados, frecuentemente irrigados, húmedos en general, de la capa arable del suelo (0-0,20 m), o en horizontes más profundos (0,50-1,00-1,50-2,00 m).

Por lo general, salvo algunos casos particulares, en agricultura, la capa de suelo arable (0-0,20 m), no ofrece medio adecuado para que el *Azotobacter* pueda desarrollarse (alta humedad y baja aireación).

Estas consideraciones han sido confirmadas (12) demostrándose la abundancia del *Azotobacter*, frecuentemente en estado de mucha pureza, en el subsuelo de las calles y plazas pavimentadas de la ciudad de Buenos Aires (1,50-2,00 m), en suelos agrícolas tipo «loess» (2,00 m) y en suelos inundables y pantanosos, con típico horizonte de «gleiss», donde predominan los procesos de reducción, por ausencia del O₂ del aire (1,20 m).

Por otra parte, los resultados adversos de las experiencias efectuadas con esta bacteria, en varios países, a fin de enriquecer el suelo con N₂ (1); (3); (4); (8); (9) indicarían que, aún, no están bien determinadas las necesidades que dicho organismo requiere.

Otro tanto se puede afirmar sobre la estimación del balance del nitrógeno en el suelo, por actividad de las bacterias fijadoras libres (5); (14). Las cantidades de N₂ fijado pueden variar, según los investigadores, de unos pocos a más de 50 kg por año y por ha pero, no especifican, claramente, hasta qué profundidad del suelo agrícola es necesario considerar.

En el presente trabajo, se estudiaron 4 suelos de Tucumán (Argentina) no abonados, con más de 30 años de cultivos con caña de azúcar, citrus, maíz y hortalizas. Es zona de clima templado-cálido, con más de 1000 mm anuales de lluvia.

Se consideró a distintas profundidades de los mismos (0-0,50 ; 0,50-

TABLA I

Relación entre la profundidad de desarrollo del *Azotobacter* en la cámara y la capacidad potencial de fijación de N₂ de un suelo

| Profundidad de formación de la película bacteriana (mm). | Concentración de sustancia energética (manita) equivalente gr litro. | Cantidad de N ₂ , capaz de ser fijada, por cada ha de suelo, de 50 cm de espesor kg ha. |
|--|--|--|
| 0-1 | 0,5 | 41,250 |
| 3-4 | 0,1 | 8,250 |
| 7-8 | 0,05 | 4,125 |
| 13-14 | 0,01 | 0,825 |
| 17-19 | 0,005 | 0,412 |

1,00; 1,00-1,50; 1,50-2,00 m): a) la presencia y abundancia del *Azotobacter*; b) la concentración de material energético disponible para su metabolismo; c) capacidad de fijación de N_2 ; d) relación del material energético del suelo con la cantidad de materia orgánica de los mismos.

De cada una de las profundidades antes citadas, se extrajeron muestras de suelos con materiales esterilizados.

En todos los casos el pH fué de 7,1-7,8, salvo dos con pH 6,7 (subsuelo del suelo IV).

a) Utilizando métodos habituales, se comprobó la presencia del *Azotobacter* en todos los suelos considerados, excepto en el IV, a profundidad de 1,00-1,50 y 1,50-2,00 m.

En la profundidad de 0-0,50 m el desarrollo del mismo fué lento y escaso. En la profundidad de 0,50 1,00 m de todos los suelos, fué donde mejor y más rápidamente desarrolló el *Azotobacter*, lo que indicaría que en esas profundidades las condiciones son más propicias para dicha bacteria; a 2,00 m, se obtuvo un cultivo de *Azotobacter* casi puro.

b) La propiedad antes citada del *Azotobacter*, de desarrollar en profundidad, en soluciones nutritivas diluídas, permite proponer un método para dosar la concentración de las sustancias energéticas existentes en el suelo y accesibles al mismo. El procedimiento es el siguiente: se colocan en varias cámaras soluciones nutritivas completas, con concentraciones crecientes de sustancia energética (manita) 0,5; 0,1; 0,05; 0,01 y 0,005 gramos por litro, obteniéndose así una escala standard.

Simultáneamente, en otra serie de cámaras, se colocan los extractos acuosos (1:1) de las distintas profundidades del suelo a investigar.

Se inoculan con una suspensión concentrada de *Azotobacter* jóvenes, lavada varias veces por centrifugación, y se incuba a 30° unas 24 horas, a veces 36.

Confrontando la profundidad de formación de la película bacteriana del extracto acuoso, de cada profundidad del suelo considerado, con las soluciones standard, es posible estimar por interpolación la cantidad de materia orgánica útil a la bacteria existente en las mismas.

Los suelos estudiados muestran una cantidad de material energético que, según puede verse en la tabla II, oscila entre cantidades equivalentes a 0,01 y 0,1 g/l de manita.

c) Considerando que el *Azotobacter* fija unos 10-11 mg. de N_2 por gramo de manita utilizada, se puede establecer fácilmente por cálculos, la cantidad de nitrógeno por ha que es capaz de fijar dicho microorganismo en el suelo, hasta una profundidad determinada.

En base a las consideraciones anteriores, una sencilla tabla, nos permite deducir a simple vista, por la ubicación de la profundidad de la película del *Azotobacter* en la cámara, la cantidad de N_2 que puede fijar en un determinado suelo.

Tomemos por ejemplo, un extracto acuoso (1 : 1), del suelo III entre 0 y 50 cm de profundidad.

Por la profundidad de formación de la película en la cámara, 8 mm,

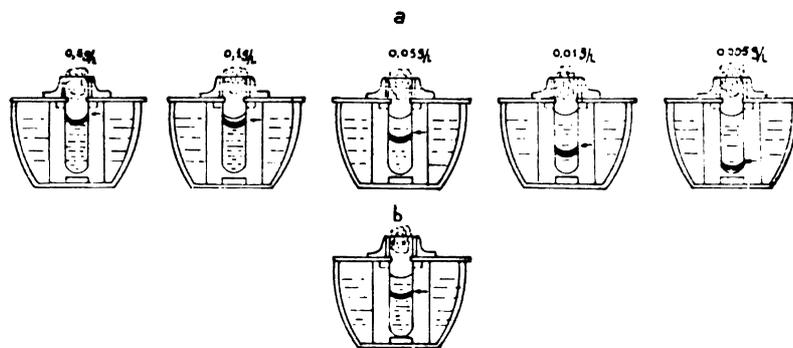


Fig. 2. — Determinación del material energético, aprovechable por el *Azotobacter*. a, profundidad de formación de la película de *Azotobacter* de acuerdo a la concentración de sustancia energética (manita). Escala Standard; b, extracto acuoso del suelo 1 : 1.

se establece que la sustancia energética de la misma es equivalente a 0,05 g de manita por litro; ello significa (ver tabla I) que la cantidad de N_2 posible de ser fijada en el suelo y en esa profundidad, es de 4,125 kg por ha. Procediendo análogamente con las restantes profundidades del suelo considerado (0,50-1,00; 1,00-1,50; 1,50-2,00 m), la suma nos indicaría la cantidad total de N_2 que es capaz de fijar el suelo por la acción del *Azotobacter*, hasta 2 metros de profundidad.

d) Es interesante destacar, de acuerdo a los datos obtenidos en el presente trabajo, que no se encontró relación entre la cantidad de materia orgánica total determinada químicamente, y la concentración de material energético útil para el *Azotobacter*, en dichos suelos.

También llama la atención, debido probablemente a algún factor inhibitorio, que dos muestras del subsuelo del suelo IV, no hayan acusado presencia de *Azotobacter*, dado que al ser inoculados sus

TABLA II
Determinaciones realizadas en suelos de Tucumán

| Suelos (Tucumán) | Profundidad (m) | pH | Azotobacter | Materia orgánica % | Profundidad de formación de la película bacteriana en extracto acuoso (1:1) del suelo (mm) | Equivalente a sust. energética (muni) g/l. | Capacidad potencial de fijación de N ₂ kg/ha. |
|-----------------------------------|-----------------|-----|-------------|--------------------|--|--|--|
| I Estación Experimental | 0-0,50 | 7,1 | ++ | 2,96 | 12 | > 0,01 | 1,00 |
| | 0,50-1,00 | 7,3 | ++++ | 1,64 | 8 | = 0,05 | 4,00 |
| | 1,00-1,50 | 7,3 | +++ | 0,79 | 8 | = 0,05 | 4,00 |
| | 1,50-2,00 | 7,1 | +++ | 0,72 | 6 | > 0,05 | 6,00 |
| | | | | | | | T. 15,00 kg. |
| II Leales | 0-0,50 | 7,4 | ++ | 0,96 | 10 | > 0,01 | 2,00 |
| | 0,50-1,00 | 7,6 | +++ | 1,56 | 8 | = 0,05 | 4,00 |
| | 1,00-1,50 | 7,7 | ++ | 1,15 | 9 | > 0,01 | 2,50 |
| | | | | | | | T. 8,50 kg. |
| III San Alberto | 0-0,50 | 7,2 | ++ | 1,86 | 8 | = 0,05 | 4,00 |
| | 0,50-1,00 | 7,3 | ++++ | 1,06 | 3 | = 0,1 | 8,00 |
| | 1,00-1,50 | 7,1 | +++ | 0,71 | 6 | > 0,05 | 6,00 |
| | 1,50-2,00 | 7,3 | +++ | 1,46 | 11 | > 0,01 | 1,50 |
| | | | | | | | T. 19,50 kg. |
| IV Los Aguirres | 0-0,50 | 7,8 | +++ | 1,67 | 9 | > 0,01 | 2,50 |
| | 0,50-1,00 | 7,9 | +++ | 1,52 | 10 | > 0,01 | 2,00 |
| | 1,00-1,50 | 6,7 | — | 0,01 | 11 | > 0,01 | 1,50 |
| | 1,50-2,00 | 6,7 | — | 0,01 | 14 | = 0,01 | 0,80 * |
| | | | | | | | T. 6,80 kg. |

* Ver parágrafo d).

extractos acuosos en las cámaras, con el mismo germen, se observó una capa de bacterias a 11 y 14 mm de profundidad.

Los resultados del presente trabajo quedan resumidos en la Tabla N° II.

SUMARIO

Se estudiaron cuatro suelos agrícolas de Tucumán (República Argentina) sin abonar, con más de 30 años de cultivo, a distintas profundidades (0-0,50; 0,50-1,00; 1,00-1,50; 1,50-2,00 m). En ellos:

a) Se comprobó la presencia del *Azotobacter* en todos los suelos y en todas las profundidades consideradas, excepto en dos (subsuelo del suelo IV, completamente arenoso, pH 6,7).

b) Se determinó utilizando una serie de cámaras especiales, cuya descripción fué hecha en 1952, la concentración de material energético, aprovechable por el *Azotobacter*, en todos los suelos estudiados. Dicha concentración oscila entre 0,01 y 0,1 g/l, equivalente a manita.

c) En base a dichas determinaciones, se calculó la cantidad de N₂ capaz de fijar cada suelo por acción del *Azotobacter*, en un momento dado, hasta los dos metros de profundidad: el suelo I es capaz de fijar hasta 15 kg/ha; el II hasta 8,5 kg/ha (se consideró hasta 1,50 m de profundidad); el III unos 20 kg/ha y el IV apenas unos 7 kg/ha.

d) Es interesante destacar, de acuerdo a los datos obtenidos en el presente trabajo, que no se encontró ninguna relación entre la cantidad de materia orgánica existente en los suelos y la concentración de sustancia energética asimilable por el *Azotobacter*.

Summary. — Four non-manured agricultural soils from Tucumán (Argentina) having had more than 30 years of cultivation, were studied at different depths (0-0,50; 0,50-1,00; 1,00-1,50 and 1,50-2,00 m). In them it was possible to:

a) Observe the presence of *Azotobacter* in all and at every depth considered, with only two exceptions (subsoil from soil IV, completely sandy and with pH 6,7).

b) Determine, by means of a series of special chambers which were described in 1952, the concentration of energetic material that is available to *Azotobacter*. Such a concentration was determined for all the soils and found to be between 0,01 and 0,1 g/l mannite equivalent.

c) Calculate, upon the basis of such determinations, the amount of nitrogen that each soil is able to « fix » through the action of *Azotobacter*, at a given time, up to a depth of 2 m. Soil I is able to « fix » up to 15 kg ha;

soil II up to 8,5 kg ha (only depths of up to 1,50 m were considered) ; soil III about 20 kg ha, and soil IV about 7 kg ha.

d) Point out that, according to data obtained herein, no relationship was found between the amount of organic material that exists in the soils, and the concentration of energetic substance that may be assimilated by *Azotobacter*.

BIBLIOGRAFIA

1. ALLISON, F., *Soil Sci.*, 64, 413 (1947).
2. BURK, D. J., *Phys. Chem.*, 34, 1174 (1930).
3. GAYNEY, P., *Jour. Agr. Res.*, 78, 409 (1949).
4. GRAVES, J. E. y JONES, L. W., *Soil Sci.*, 53, 229 (1942).
5. JENSEN, H. L., *Trans. IV Inter. Cong. Soil Sci. Amsterdam*, I, 165 (1950).
6. MEYERHOF, O. y BURK, D. J., *Ztschr. Phys. f. Chem.*, 139, 117 (1928).
7. PARKER, C. A., *Nat.*, 173, 780 (1954).
8. POCHON, J. y CHALAUST, R., *C. R. Agr. France*, 34, 791 (1948).
9. TIMONIN, M. I., *Proc. Soil. Sci. Amer.*, 13 (1948) ; 246 (1949).
10. TSCHAPEK, M. y GARBOSKY, A., *Inst. Suelos y Agrotec. Public. 22, Argentina* (1952).
11. — *I. D. I. A.*, *Min. Agr. y Gan.*, n.º 57, Argentina (1952).
12. — *I. D. I. A.*, *Min. Agr. y Gan.*, n.º 61, Argentina (1953).
13. — *V Inter. Cong. of Microb.*, 3, 896, Roma (1953).
14. VIRTANEN, A., *Angew. Chem.*, 65, 1 (1953).