



Universidad Austral de Chile
Facultad de Ciencias Agrarias
Escuela de Agronomía

Retención del aminoácido leucina por las arcillas del suelo

Memoria presentada como parte de los
requisitos para optar al título de
Ingeniero Agrónomo

John Christopher Clunes Muñoz

Valdivia – Chile

2009

PROFESOR PATROCINANTE:

Dante Pinochet T.
Ing. Agr. M. Sc, Ph. D.
Instituto de Ingeniería Agraria y Suelo

PROFESORES INFORMANTES:

Dries Huygens
Dr. Ir.
Instituto de Ingeniería Agraria y Suelo

Eduardo Valenzuela F.
Lic. Cs., M. Sc. Dr. Cs.
Instituto de Microbiología

“Caminante no hay camino, se hace camino al andar”

(Antonio Machado)

Quiero agradecer la paciencia, persistencia y apoyo de la profesora Lorena, y de todo el personal del laboratorio y administrativo del instituto de Ingeniería Agraria y Suelo que estuvieron a mi lado durante toda mi tesis y que soportaron la impaciencia, ansiedad, y constantes preguntas de mi parte.

Agradecer a mis profesores de la mención de suelo que forjaron el camino de este alumno y su tesis con sus enseñanzas, exigencias, críticas constructivas, disponibilidad y lo presente que siempre estuvieron frente alguna duda, en especial al profesor Roberto Mac Donald que aclaro muchas de mis dudas reiterativas con una paciencia invaluable, me enseñó que las ideas son desafíos que probar y agradecerle por mostrarme y encaminar mi creciente interés por las arcillas.

Agradecer a mi profesor patrocinante, Dante Pinochet, por sus constantes críticas, consejos y conversaciones, por estimular mi gusto por seguir estudiando, apoyarme y no dejar que renuncie, ya que más que un profesor terminé por ser un mentor en la historia de mi vida.

Esta tesis se la dedico y agradezco a mi familia por su apoyo, en especial a mi hermano Alejandro que siempre estuvo a mi lado como un roble inamovible y creyó en mí sobre todas las cosas; a la familia Cárdenas - Nauto que me apoyaron, cuidaron y jamás han dejado que este solo; a mi mentor por ayudarme a crecer como persona y a todos mis amigos más cercanos e incondicionales por estar presentes todo el tiempo y no abandonarme por más que las cosas cambien su color.

Gracias porque sin ustedes no hubiera tocado el cielo....

INDICE DE MATERIAS

Capítulo		Página
	RESUMEN	1
	SUMMARY	2
1	INTRODUCCION	3
2	REVISION BIBLIOGRAFICA	6
2.1	La necesidad de secuestrar carbono	6
2.2	La estabilización por propiedades físicas del suelo: la agregación del suelo	8
2.2.1	Efectos de la materia orgánica sobre los agregados y su estabilidad.	9
2.2.2	El rol de POM en la estabilización de los agregados	10
2.3	La estabilización por propiedades químicas del suelo	10
2.3.1	Precipitación de compuestos orgánicos	10
2.3.2	Adsorción específica	11
2.3.2.1	Características de la adsorción en los suelos	12
2.3.2.2	Isotermas de adsorción	12
2.3.3	Adsorción no específica	13
2.4	Adsorción de aminoácidos en diferentes superficies	14
2.4.1	La leucina y la adsorción en diferentes superficies	14

2.4.2	Crecimiento microbial relacionado con la leucina	15
2.4.3	Relación enzima-arcilla en distintos ecosistemas	16
2.5	Los suelos de Chile y sus arcillas dominantes	18
3	MATERIAL Y METODOS	19
3.1	Descripción del estudio	19
3.1.1	Caracterización de los suelos y materiales arcillosos	20
3.1.1.2	Separación de la fracción arcilla por métodos físicos	20
3.1.2	Procedimiento de incubación	20
3.1.3	Método de determinación colorimétrico para amino ácidos-nitrogenados	21
3.2	Diseño experimental y análisis estadístico	22
4	PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS	24
4.1	Adsorción o retención de leucina por la fracción arcillosa de cada suelo	24
4.1.1	Adsorción o retención de leucina en arena de cuarzo	24
4.1.2	Adsorción o retención de leucina en materiales arcillosos de los suelos	27
4.2	Relación entre parámetros del suelo y la adsorción de leucina	31
4.2.1	Relación entre parámetros del material arcilloso y la adsorción de leucina	38
5	CONCLUSIONES	43
6	BIBLIOGRAFIA	44

INDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1	Gran grupo de suelo, serie de suelo, clasificación USDA y arcillas dominantes de los materiales evaluados	19
2	Parámetros del análisis regresión lineal entre la cantidad de leucina aplicada y la cantidad de leucina recuperada por los distintos materiales arcillosos evaluados	29
3	Parámetros medidos para caracterizar los suelos y evaluar la reactividad de sus materiales arcillosos	34
4	Parámetros del análisis, regresión lineal entre las pendientes de recuperación de leucina de cada material y los parámetros de caracterización de los suelos mayor reactividad de sus materiales	36
5	Contenido de carbono orgánico y aluminio extractable de cada serie de suelo	38

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Esquema del procedimiento usado para determinar la retención de leucina por los materiales arcillosos de cada suelo	22
2	Relación entre las dosis aplicadas de leucina (mg/kg) y las concentraciones recuperadas por el material arena de cuarzo	24
3	Inmovilización de nitrógeno por los microorganismos presentes durante el período de incubación versus dosis de leucina agregada	26
4	Relación entre la dosis aplicada y la leucina recuperada por cada material arcilloso de los suelos versus Arena de cuarzo. Todos presentan diferencias estadísticas, con un $P < 0.0001$, para cada tratamiento $n=18$	30
5	Relación entre los contenidos de aluminio extractable medidos de los suelos y los niveles de pH en NaF	35
6	Relación entre los parámetros que determinan reactividad en los suelos medidos y las pendientes de retención de leucina de cada material arcilloso	37
7	Relación porcentual entre los dos parámetros principales que determinan la retención de un aminoácido según las características de cada material arcilloso de los suelos medidos	40
8	Relación entre los parámetros de los materiales arcillosos medidos y las pendientes de adsorción de leucina de cada material arcilloso	40

9	Relación lineal entre los parámetros que dictan la adsorción de los suelos y las pendientes de retención de leucina de los suelos	41
---	---	----

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo		Página
1	Concentración de leucina recuperada, medida en la arena de cuarzo	47
2	Concentración de leucina recuperada, medida en los materiales arcillosos	48

RESUMEN

La preocupación mundial que genera el calentamiento global, producto de los gases de efecto invernadero, origina la búsqueda de medidas para disminuir el aumento de las concentraciones de estos gases en la atmósfera, en especial el dióxido de carbono. El suelo es uno de los reservorios más importantes, el cual presenta tiempos medios de residencia que van desde 50 a 2000 años, esto debido principalmente a la estabilización de la materia orgánica del suelo (MOS) por la fracción coloidal del suelo. El objetivo de este estudio fue determinar las diferencias en retención de un compuesto orgánico soluble, el aminoácido leucina, de materiales arcillosos de distintas capacidad de adsorción específica dada por la mineralogía de su arcilla dominante. Se midió la retención del aminoácido leucina y la reactividad en los materiales arcillosos de cinco suelos; Lo Vásquez (caolinita), Colina (esmectita), Crucero (haloisita), Antillanca (alofán-vidrio), Puyehue (alofán). Los resultados muestran que existe una relación positiva y creciente entre la capacidad de retener aminoácidos, en especial leucina, y la reactividad de cada material arcilloso. Los materiales que presentan una mayor reactividad, dada por su arcilla dominante como son los materiales de gran grupo de suelo trumao y un contenido significativo de MOS residual, expresan una mayor adsorción de aminoácido, es decir, una mayor capacidad de retener el compuesto y no dejarlo disponible para los microorganismos. De esta manera, un suelo independiente de su arcilla dominante, puede adsorber específicamente un compuesto carbonado que sea soluble y retenerlo por miles de años.

SUMMARY

The world-wide preoccupation that generates by global warming, resulting from greenhouse gases, originates the search of measures to reduce the increased concentrations of these gases in the atmosphere, especially carbon dioxide. Soil is one of the largest reservoirs, which presents mean residence time ranging from 50 to 2000 years, this mainly due to the stabilization of matter organic of soil (SOM) by soil colloidal fraction. The aim of this study was to determine differences in retention of a soluble organic compound, the amino acid leucine, clay materials of different specific adsorption capacity given by the dominant mineralogy of the clay. We measured the retention of the amino acid leucine and reactivity in the materials of five clay soils; Lo Vásquez (kaolinite), Colina (smectite), Crucero (haloisita) Antillanca (alofán-glass), Puyehue (alofán). The results show that there is a positive and increasing relationship between the ability to retain amino acids, particularly leucine, and the reactivity of each clay. The materials having a higher reactivity due to its dominant clay materials such as large group of soil and a significant content trumao MOS residual express a greater adsorption of amino acid, ie, a greater ability to retain the compound and not leave available for microorganisms. In this way, a soil independent of his dominant clay, can adsorb specifically a carbon compound that is soluble and retain it for thousands of years.

1 INTRODUCCION

La preocupación mundial que genera el calentamiento global del planeta, producto de los gases de efecto invernadero, origina la búsqueda de medidas para disminuir el aumento de las concentraciones de estos gases en la atmósfera. Dentro de los gases de mayor contribución y rápido crecimiento está el dióxido de carbono (CO_2).

Para disminuir la concentración de CO_2 se propone secuestrar el Carbono de este reservorio, para ser incluido en otros reservorios, que presenten mayor tiempo medio de residencia. Estas medidas se han denominado en su conjunto “secuestro de C”.

De los reservorios existentes en los ecosistemas terrestres, uno de los de mayor relevancia parece ser el reservorio de C orgánico en los suelos, el cual presenta tiempos medios de residencia que van desde 50 a 2000 años, dependiendo del grado de estabilización que se produzca en la materia orgánica del suelo (MOS).

Por ello, el estudio de la estabilización de la MOS ha adquirido en las últimas décadas, un alto interés en todas partes del mundo. A pesar del vasto estudio de la MOS, todavía no se ha comprendido completamente su funcionamiento, particularmente qué produce su degradación, tanto como su estabilización en el suelo.

Dos vías principales han sido propuestas para la estabilización de la MOS. A través de procesos físicos y a través de procesos químicos o físico-químicos. La estabilización física se refiere mayoritariamente a MOS que queda “atrapada” producto de la agregación del suelo, para conformar la estructura del suelo y que principalmente no sería degradable debido a la inaccesibilidad física de los microorganismos a ella. Esta sería constituyente de fracciones que son semejantes a los residuos ingresados y que se denominan en “fracción liviana” de la MOS. Por su parte, la estabilización química corresponde a mecanismos físico químicos, de superficies, que se caracterizan en las reacciones entre un adsorbato y un adsorbente. En ella, se propone diversos mecanismos de adsorción no específica y específica, tanto como mecanismos a través de enlaces catiónicos y de puentes de hidrógeno. Sin embargo, cualquiera sea el

mecanismo preciso de adsorción, la reacción de la MOS con los coloides del suelo, tanto arcillas, óxidos y la misma MOS, cambiaría la “degradabilidad” de los compuestos orgánicos, a través de cambios en la resonancia electrónica de los enlaces, haciendo que las enzimas de los microorganismos no sean capaces de descomponer compuestos orgánicos adsorbidos en una superficie, particularmente en las arcillas del suelo.

La adsorción es un fenómeno, que para que ocurra en cantidades significativas, requiere que el adsorbato esté en solución para poder ser adsorbido por el adsorbente. Esto es un punto muy relevante, ya que implica que sólo se adsorbe materia orgánica soluble que acceda al punto de adsorción. Los componentes solubles de la materia orgánica son principalmente componentes metabólicos de residuos vegetales y microbiales. A diferencia de los componentes estructurales que no son solubles. Siempre se ha señalado y demostrado que los componentes metabólicos son de rápida degradación microbial, disminuyendo completamente después de algunas horas desde su adición. Sin embargo, cuando estos reaccionan con el suelo, a través de sus coloides, cambian su degradabilidad de tal forma que ésta puede disminuir en más de 100 a 1000 veces, su valor original. Desde el punto de vista de formación de MOS del suelo, esto daría la posibilidad para que por sobre una adsorción inicial arcilla-compuesto orgánico metabólico se vaya formando materia orgánica estabilizada en los suelos, la cual en conjunto con otros mecanismos la van volviendo cada vez más recalcitrante y menos accesible al ataque microbial.

De esta forma, la hipótesis de esta tesis es la siguiente: *“La distinta capacidad de adsorción específica de las arcillas de un suelo afecta la capacidad de retener aminoácidos solubles en el suelo”*

Para evaluar esta hipótesis se plantea como objetivo general, determinar las diferencias en retención de un compuesto orgánico soluble, en materiales arcillosos de distinta capacidad de adsorción específica.

Por otro lado como objetivos específicos se plantea:

- Determinar la reactividad de materiales arcillosos de distintos orígenes de acuerdo a grandes grupos de suelos de Chile

- Establecer la cantidad del aminoácido leucina que queda en el material arcilloso, después de un período de tiempo de reacción arcilla-leucina
- Relacionar la reactividad de los materiales arcillosos con la capacidad de retención de aminoácidos

2 REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 La necesidad de secuestrar carbono

En el pasado, el desarrollo de la agricultura fue la principal causa del incremento de la concentración de dióxido de carbono (CO₂) en la atmósfera, pero hoy día, los mayores contribuyentes a un incremento de ritmo constante, son la combustión de los combustibles fósiles por parte de la industria y el transporte sumado a la deforestación de zonas tropicales (Food and Agriculture Organization, 2002).

Desde el comienzo de la revolución industrial, la concentración de CO₂ en la atmósfera ha ido aumentando alarmantemente. Antes de la revolución industrial la concentración de CO₂ fue alrededor de 270 ppm, pero hoy está alrededor de 372 ppm (Sage, 1995 citado por KUMAR *et al.*, 2006). Si el ritmo de incremento de la concentración de carbono sigue siendo constante y no se realizan esfuerzos para reducirlo, la concentración de carbono en la atmósfera alcanzaría valores entre 800-1000 ppm al cambiar el actual siglo (Whipps, 1996 citado por KUMAR *et al.*, 2006).

La realidad de este crecimiento es innegable, este aumento de gases invernadero (CO₂, metano, CFC, entre otros) provocan el fenómeno denominado “efecto invernadero”. Este cambio climático se genera por que los gases invernaderos en conjunto con la atmosfera de la tierra, son semi trasportados por la energía solar, esto permiten que casi la mitad de la luz del sol penetre la atmósfera y llegue a la superficie terrestre. La superficie absorbe el calor, el cual aumenta y/o evapora el agua líquida en vapor de agua, y también genera re-emisiones de energía ascendente como radiación infrarroja. Naturalmente que en gases y partículas “nubladas” se absorbe más radiación infrarroja. La energía infrarroja que es absorbida en la atmósfera es re-emitida, hacia el espacio y también de vuelta hacia la superficie de la tierra (LANE y SCHNEIDER, 2006).

Los canales de energía hacia la tierra son la causa que la superficie se caliente más y emita radiación infrarroja con una mayor proporción, evitando que la radiación escape y manteniendo un continuo calentamiento en la superficie terrestre.

Las causas del incremento de las concentraciones de CO₂ en la atmósfera están bien identificadas. Estas son, el uso industrial y doméstico de combustibles que contienen carbono (petróleo, carbón, gas natural y leña), la deforestación, que provoca la descomposición orgánica, y la quema de biomasa vegetal.

Los suelos son grandes reservorios de carbono del ciclo de este elemento. Los suelos (1500 Pg de C a 1 m de profundidad y 2500 Pg de C a 2 m; 1 Pg = 1 x 10¹⁵ g) contienen cerca de tres veces más C que lo contenido en la vegetación (650 Pg de C) y el doble de carbono que la atmósfera (750 Pg de C) (USEPA, 1995 citado por KUMAR *et al.*, 2006). Se estima que cada tonelada de materia orgánica del suelo libera 3.667 toneladas de CO₂, que se pierde en la atmósfera. Similarmente, la acumulación de cada tonelada de materia orgánica del suelo remueve 3.667 toneladas de CO₂ de la atmósfera (Bowen, 1999 citado por KUMAR *et al.*, 2006). La conversión de hábitats naturales a tierras de cultivo y praderas, y las prácticas insostenibles sobre la tierra como es la excesiva labranza libera carbono de la materia orgánica a la atmósfera como CO₂. Los suelos pueden recuperar las pérdidas de carbono por reabsorción desde la atmósfera (KUMAR *et al.*, 2006).

La cantidad de C orgánico contenido en la materia orgánica del suelo terrestre es de tres a cuatro veces el C contenido en la atmósfera y cinco a seis veces la biomasa de la tierra. En contraste, la cantidad contenida en los sedimentos es de un orden de magnitud superior. La entrada anual de C en el suelo es sobre 15% del CO₂ atmosférico. Sin embargo, una cantidad equivalente de C es retornado a la atmósfera por degradación. Por otro lado, una pequeña cantidad de C encuentra su camino hacia el mar, y una porción de esta es depositada en sedimentos (COLE y STEVENSON, 1999).

AMTHOR *et al.* (1999), señala que el carbono orgánico del suelo es asignado con el tiempo a diferentes "pools" como una consecuencia del crecimiento de las raíces y siguiente descomposición, residuos caídos y descompuestos, degradación microbial y síntesis, humedad y temperatura cíclicas. Los pools pueden ser varios definidos según

su capacidad recalcitrante relativa que, a su vez, regula la residencia del carbono orgánico y sus entradas y salidas. Eswaran *et al.* (1995) citado por AMTHOR *et al.* (1999), resume cuatro pools basados en la dinámica del carbono:

- *Pool lábil o activo* de fácil oxidación de compuestos. Los factores que controlan la formación y la dinámica de este grupo incluyen la entrada de residuos de planta y el clima. También las prácticas de manejo agronómico afecta el tamaño de este pool.
- *Pool lentamente oxidado* asociado con los macroagregados del suelo. Los factores que controlan este pool son propiedades físicas del suelo, incluye mineralogía y agregación. Las prácticas agronómicas también afectan el tamaño de este pool.
- *Pool muy lentamente oxidado* asociado con los microagregados de suelo. El factor de control es el agua en la estabilidad de los agregados. Las prácticas agronómicas tienen pequeños efectos sobre este pool.
- *Pool recalcitrante o pasivo* la mineralogía de la arcilla es el factor que controla este pool. Las prácticas agronómicas no afectan este pool.

Los tiempos de residencia del carbono van desde días para el pool lábil a décadas y siglos para el pool muy lentamente oxidado y el pool recalcitrante (AMTHOR *et al.*, 1999).

2.2 La estabilización por propiedades físicas del suelo: la agregación del suelo

Según BALDOCK y NELSON (1999), la importancia de la materia orgánica es considerada en la mantención de la estabilidad estructural de un amplio rango de tipos de suelos incluyendo Molisoles, Alfisoles, Ultisoles e Inceptisoles. Esta importancia tiende a ser menor en Oxisoles y Andisoles, donde hidróxidos juegan un importante rol en la estabilización. En suelos donde la materia orgánica es un importante agente-ligado junto con las partículas minerales, existe un orden jerárquico de los agregados del suelo en el cual los agregados se rompen bajo un modelo donde la magnitud de la fuerza destructora aplicada aumenta (Tisdale y Oades, 1982; Oades y Waters, 1991; Oades, 1993; todos citados por BALDOCK y NELSON, 1999). Golchin *et al.* (1998)

citado por BALDOCK y NELSON (1999) han propuesto la existencia de tres niveles de agregación:

1. El enlace de las láminas de arcilla dentro de paquetes $< 20 \mu\text{m}$.
2. El enlace de los paquetes de arcilla dentro de los microagregados estables ($20\text{-}250 \mu\text{m}$).
3. El enlace de los microagregados estables dentro de los macroagregados ($> 250 \mu\text{m}$).

La importancia y naturaleza de los materiales orgánicos asociados con cada uno de los niveles de agregación varía. En la escala de paquetes de arcillas, la agregación es dictada por la mineralogía del suelo y las propiedades químicas. El enlace de los paquetes de arcilla que forma microagregados ocurre vía rangos de mecanismos. El mecanismo dominante propone envolver polisacáridos, basado en mucilagos producidos por raíces de plantas y microorganismo del suelo (Ladd *et al.*, 1996 citado BALDOCK y NELSON, 1999). Macroagregados $> 2,000 \mu\text{m}$ son estabilizados por las raíces presentes, hifas de hongos y largos fragmentos de residuos de plantas, los cuales interconectan los agregados del suelo vía enlace en la superficie de los agregados, penetración dentro o a través de los agregados, y/o atrapamiento físico (Tisdale y Oades, 1982; Churchman y Foster, 1994; Foster, 1994; todos citados BALDOCK y NELSON, 1999).

2.2.1 Efectos de la materia orgánica sobre los agregados y su estabilidad. La MOS sobre los agregados del suelo influye en la dinámica de descomposición (incluyendo la transformación de diferentes formas de carbono orgánico, su localización espacial y su grado de asociación con el material mineral), y la influencia de carbono orgánico sobre la característica de los poros y grietas (por esto estabilidad de agregados). La materia orgánica y las varias fracciones descritas anteriormente pueden contribuir a la formación y estabilidad de agregados del suelo, pero bajo algunas circunstancias, las fracciones específicas de materia orgánica pueden también desestabilizar agregados e incrementar la dispersión de arcilla y sedimento dispuesto según el tamaño de los materiales (ANGERS y KAY, 1999).

Cambios en estabilidad de agregados han sido, por esto, atribuidos a cambios en la cantidad de varias fracciones orgánicas como es POM (materia orgánica que incluye

raíces finas e hifas de hongos), polisacáridos y lípidos. Estos materiales son considerados lábiles y representan sólo una fracción del contenido del carbono total. Su cantidad en el suelo está determinada por la tasa de input del carbono de planta, la mineralización de este carbono y los productos microbiales. Esto es en la fracción macroagregados (>250 μm) la cual en su mayor parte está influenciada por la fracción lábil de MOS (Elliott, 1986; Puget *et al.*, 1995; todos citados por ANGERS y KAY, 1999).

2.2.2 El rol de POM en la estabilización de los agregados. Tisdale y Oades (1982) citado por ANGERS y KAY (1999), sugieren que las hifas de hongos y raíces finas pueden directamente ligar partículas de suelo. Por otro lado, POM sirve como sustrato para la actividad microbiana la cual puede producir material de enlace microbiano (Golchin *et al.*, 1994; Cambardella y Elliott, 1993; Jastrow, 1996; Besnard *et al.*, 1996; todos citados por ANGERS y KAY, 1999). La POM que entra al suelo es rápidamente colonizada por microorganismos, dando como resultado subproductos que tienen fuertes propiedades de adhesión, causando que las partículas minerales se adhieran a ellos.

2.3 La estabilización por propiedades químicas del suelo

Los suelos tienen una notable habilidad para remover iones y moléculas de agua por reacciones de sorción. Sorción, puede ser definido ampliamente, como la transferencia de iones y moléculas en solución (fase en solución) a iones y moléculas en la fase sólida. Esta definición es a *ex profeso* vaga y no implica un mecanismo físico-químico específico. Por ejemplo, cationes en solución son retenidos en el suelo como cationes intercambiables por las arcillas y humus. También algunos cationes y aniones en solución pueden ser removidos por precipitación química. Los elementos en forma aniónica en solución, son comúnmente más móviles que cationes-metal. Sin embargo, ellos pueden ser retenidos en los suelos, primariamente por lo selectivo de los procesos enlazados por carga variable de las superficies minerales (quimiosorción) y los bordes de las partículas silicatadas. Estos tipos de cationes y aniones adsorbidos son referidos como adsorción específica diferenciándose de los iones intercambiables (McBRIDE, 1999).

2.3.1 Precipitación de compuestos orgánicos. Para muchos de los más abundantes elementos en los suelos, como son Al, Fe, Si, Mn, Ca, Mg, la precipitación en forma

mineral es común y puede controlar su solubilidad. Sólo cuando los suelos son fuertemente contaminados la solubilidad de los metales de baja concentración en el suelo alcanza un nivel que soporta precipitación de fases minerales pura (MCBRIDE, 1999).

Como las concentraciones de un ion en una solución son incrementadas, la precipitación de la nueva fase sólida no ha ocurrido hasta que el producto de solubilidad haya sido saturado. Esto es, que algunos grados de súper saturación son requeridos porque el núcleo del cristal puede ser formado sólo después de que la barrera de energía haya sido superada. Por otro lado, los resultados con la mínima saturación en la formación de núcleos son excesivamente lentos (MCBRIDE, 1999).

En la solución del suelo, la heterogeneidad es mucho más probable que núcleos homogéneos porque la superficie mineral y orgánica están presentes pudiendo catalizar la formación de núcleos durante la cristalización. Al formar núcleos la barrera de energía son reducidos o removidas por estas superficies. Estas reducen la extensión de supersaturación necesaria para iniciar la precipitación. Por ejemplo, las soluciones supersaturadas con respecto a gipsita no siempre forman un precipitado, pero la presencia de esmectita promueve precipitación de gipsita (MCBRIDE, 1999). No obstante, las reacciones de precipitación son frecuentemente más lentas que las reacciones de quimiosorción en los suelos.

2.3.2 Adsorción específica. La adsorción específica por definición química, es un proceso superficial que consiste en la extracción de un compuesto en fase gaseosa o disuelta (adsorbato) que se concentra en la superficie de otra fase sólida (adsorbente). Este fenómeno de adsorción reduce el equilibrio de fuerzas atractivas en la región superficial del sólido, disminuyendo la energía libre del sistema. A su vez las moléculas pasan desde una fase desordenada a otra más ordenada sobre la superficie sólida.

En los suelos el proceso de concentración de materiales en la interfase sólido líquido se llama adsorción. Esta es una de las reacciones atribuidas a la química superficial de los coloides del suelo (TAN, 1998). De esta manera, la adsorción específica se produce cuando el adsorbato, en la solución del suelo y con bordes hidroxilos disponibles, interactúa químicamente (formando un enlace covalente) con la superficie del adsorbente (bordes hidroxilos de las capas de octaedro de aluminio de arcillas), a esto

también se le denomina quimiosorción, siendo un proceso muy poco reversible, debido a que los iones que son adsorbidos en forma específica no son fácilmente reemplazables por otros iones.

La adsorción específica se asocia directamente al pool recalcitrante del suelo, donde la materia orgánica que es adsorbida es estabilizada y presenta un tiempo medio de residencia que va de los 50 a los 2000 años.

2.3.2.1 Características de la adsorción en los suelos. La adsorción es dependiente no sólo de la carga superficial, sino que también del área superficial. La cantidad de material adsorbido es directamente proporcional a la superficie específica. La adsorción es pequeña si el área superficial es pequeña, y aumenta cuando el área superficial aumenta, la capa 1:1 de minerales entrelazados (caolinita) son conocidos por exhibir baja área superficial. Esta baja área superficial, junto con una baja capacidad de catión intercambiable, son las razones para una baja capacidad de adsorción de los minerales de caolinita. Por otro lado, esmectita y vermiculita, con área superficial más grande y alta capacidad de intercambio catiónico, se espera que tengan una alta capacidad de adsorción. La capacidad de adsorción de la illita es intermedia entre los otros dos.

2.3.2.2 Isotermas de adsorción. La adsorción fue definida anteriormente como la concentración de componentes en la superficie coloidal. La curva de las concentraciones relativas de los materiales adsorbida a una temperatura fija se llama Isoterma de adsorción.

Según Bailey y White (1970) citados por TAN (1998), indican que la adsorción de la materia orgánica puede ser descrita mejor con la ecuación de Freundlich, donde, teóricamente, la adsorción incrementa indefinidamente como el incremento de la concentración. Por otro lado, Weber (1970) citado por TAN (1998), ha reportado que la adsorción de materia orgánica sigue la ecuación de Langmuir, que indica que la adsorción de materia orgánica en la superficie de la arcilla tiende a alcanzar un límite máximo. Este último es compatible con el factor que el suelo y la arcilla no tienen una capacidad infinita de adsorber, pero tarde o temprano se satura.

2.3.3 Adsorción no específica. La adsorción no específica corresponde sólo a efectos de carga, usualmente se asocia en el complejo de intercambio catiónico del suelo. En el intercambio catiónico los iones tienen cierto atractivo por la matriz. A mayor carga más atractivo. Cuando las cargas tienden a la igualdad comienza a influir el radio hidratado.

Según SPOSITO (1999), los iones intercambiables pueden ser reemplazados fácilmente por un índice electrólito de la solución de composición prescrita, concentración y valor de pH. A pesar de la naturaleza empírica de este concepto, esto es un acuerdo que los iones son adsorbidos específicamente, pero no han contado entre esos, los iones fácilmente intercambiables en los suelos.

La capacidad de intercambiar un ion de un suelo está dada por el número de moles de la carga del ión adsorbido que puede ser desorbido desde una unidad de masa del suelo, bajo condiciones de temperatura dada, presión, composición de la solución del suelo, y la relación de la masa de solución del suelo. En muchas aplicaciones, un ión con capacidad intercambiable se refiere a la máxima adsorción (excesos de superficie positiva) de iones fácilmente intercambiables que adsorbe sobre la superficie de partículas de suelo únicamente en la compleja esfera-exterior y la capa difusa (SPOSITO, 1999).

Fácilmente iones intercambiables son un índice catión o anión cuyo exceso de superficie está determinada. Para suelos en los cuales los cationes fácilmente intercambiables son monovalentes o bivalentes (Aridosoles) el índice de iones puede ser Ca^{+2} y Cl^- . A menudo NH_4^+ ha sido usado como un "índice" catión. De cualquier modo, este catión forma superficie compleja interior-esfera con capa mineral de arcilla 2:1, y puede aun dejar fuera fácilmente cationes de tiempo primarios de los minerales del suelo (Sumner y Miller, 1996 citado por SPOSITO, 1999). Con respecto a la capacidad de intercambio de aniones, el uso de Cl^- como el índice anión es muy extendido porque esto es característico de la adsorción no específica (Zelazny *et al.*, 1996 citado por SPOSITO, 1999).

En suelos alcalinos, los cationes fácilmente intercambiables son Ca^{+2} , Mg^{+2} , Na^+ y K^+ , en este orden decreciente. En suelos ácidos es Al^{+3} (incluyendo AlOH^{+2} y Al(OH)_2^+) seguido por Ca^{+2} y Mg^+ .

2.4 Adsorción de aminoácidos en diferentes superficies

Existe un total de 20 diferentes aminoácidos formados por un grupo amino (NH_2) y un grupo carboxilo (COOH), que pueden ser expresado con una forma general, $\text{R-CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, donde R representa el lado cadena del aminoácido. Todos estos aminoácidos naturales, excepto glicina, que es aquiral, son L-quirales. La glicina, con sólo un átomo de hidrógeno como lado cadena, es el aminoácido más simple (CHEN *et al.*, 2006).

2.4.1 La leucina y la adsorción en diferentes superficies. La leucina, es uno de los 20 aminoácidos constituyentes de las proteínas, que tiene como cadena lateral una cadena de hidrocarburos ramificada formada por cuatro átomos de carbono. Pertenece al grupo de aminoácidos con cadenas laterales no polares (hidrófobos). Su biosíntesis parte del piruvato, el producto final de la glicolisis. La leucina no puede ser sintetizada por los mamíferos, por lo que es uno de los aminoácidos esenciales. Se encuentra en las proteínas vegetales y animales. Provee ingredientes para la formación de otros compuestos esenciales en la producción de energía y estimulación cerebral. Existen números ensayos donde se explica la utilización de la leucina por microorganismos para su crecimiento microbial, y como parámetro para ejemplificar la adsorción de compuestos orgánicos sobre superficies sólidas.

ALADDINE y NYGREN (1996), investigaron la adsorción de serina y leucina dentro de superficies hidrofílicas e hidrofóbicas usando la técnica del rastro de radio. La energía libre de adsorción de la leucina fue mayor que la serina en superficies hidrofílicas e hidrofóbicas. La leucina muestra una alta afinidad de enlazar en ambas superficies que la serina. Independientes del compuesto las concentraciones son más grandes en superficies hidrofílicas.

Por otro lado CHEN *et al.* (2006), seleccionaron leucina y aspargina para depositar sobre Cu (1 1 1) en ultra-alto vacío (UHV) condiciones investigadas con scanner perforación microscopio (STM). La leucina, $(\text{CH}_3)_2\text{CHCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, es un aminoácido esencial con complejo alifático en el lado cadena. Por otro lado, aspargina, $\text{NH}_2\text{COCH}_2\text{CH}(\text{NH}_2)\text{COOH}$, contiene un grupo amino en el lado cadena. La adsorción de leucina sobre superficie de un metal ha sido estudiada por algunos métodos de superficie sensitiva. CHEN *et al.* (2006), encontraron que la leucina puede formar

superestructuras sobre el Cu. Así, CHEN *et al.* (2006), propone que el eje C-C de leucina fue casi paralela a la superficie de la plata en coloide solución.

2.4.2 Crecimiento microbioal relacionado con la leucina. La producción bacterial es un parámetro clave para el entendimiento del ciclo del carbono en ecosistemas acuáticos, sin embargo, sigue siendo difícil medir en muchos hábitats acuáticos. Mucho del metabolismo del carbono orgánico, en cursos de agua, ocurre sobre o en sedimentos (Naiman *et al.*, 1987; Pusch y Schwoerbel, 1994 citados por FISCHER y PUSH, 1999). La bacteria juega un rol clave en los procesos de carbono orgánico (Edwards *et al.*, 1990; Winterbourn, 1986 citados por FISCHER y PUSH, 1999) e influyen en muchos aspectos de la química y biología de ecosistemas de ríos (Pusch, 1998 citado por FISCHER y PUSH, 1999). Varios métodos han sido sugeridos para la medición de la producción bacterial en sistemas acuáticos (Hagstrom *et al.*, 1979; Jordan *et al.*, 1980; Romanenko, 1963; White *et al.*, 1977 citados por FISCHER y PUSH, 1999). Una de las más utilizadas aproximaciones consiste en la medición de leucina incorporada dentro de proteína bacterial (Kirchman *et al.*, 1985; Azam y Simón, 1989 citados por FISCHER y PUSH, 1999). Esta técnica mide un incremento de la fracción biomasa. La incorporación de la leucina dentro de la bacteria ha sido probada extensivamente en sistemas pelágico (Jurgensen, 1992; Kirchman *et al.*, 1985; Azam y Riemann, 1992; Azam y Simon, 1989; Riemann y Van looij, 1993 citados por FISCHER y PUSCH, 1999) y es ahora comúnmente usado por la medición de la producción bacterial en estos ambientes (Kirchman, 1993 citado por FISCHER y PUSCH, 1999).

Las bacterioplancton son los principales consumidores de materia orgánica disuelta (MOD) en el océano (Azam y Cho, 1987 citado por ARRIETA *et al.*, 1998). Este MOD puede ser tomado sin la previa separación por las bacterias si el peso molecular de la MOD se encuentra por debajo de 600 (Gottschalk, 1986 citado por ARRIETA *et al.*, 1998). Se ha demostrado recientemente que las bacterioplancton pueden utilizar el material de alto peso molecular más rápidamente que la fracción MOD <1kDa. Amon y Benner (1994, 1996) citados por ARRIETA *et al.* (1998), proponen una transformación gradual de las grandes moléculas, a las pequeñas moléculas lábiles, en MOD refractarias. Las bacterioplancton pueden cubrir la mayor parte de la demanda de carbono y nitrógeno, por la utilización de aminoácidos libres disueltos (AADL) liberados por phitoplancton (Jorgensen, 1987; Keil y Kirchman, 1991; Ducklow *et al.*, 1993;

Jorgensen *et al.*, 1993; Kirchman *et al.*, 1993; Middelboe *et al.*, 1995 citados por ARRIETA *et al.*, 1998). Alteraciones abióticas específicas de compuestos de la MOD pueden cambiar la disponibilidad de bacterioplancton, como la radiación, específicamente la radiación ultravioleta (UV) en el rango de 300 a 400 nm (Keil y Kirchman, 1994 citado por ARRIETA *et al.*, 1998). Sin embargo, no sólo la luz altera la disponibilidad de MOD lábil, debido a que también se ha demostrado que la MOD lábil se convierte en refractaria cuando ocurren los procesos de sorción en los sedimentos (Keil *et al.*, 1994; Hedges y Keil, 1995 citados por ARRIETA *et al.*, 1998).

La materia orgánica coloidal disuelta (MOCD) es un eficiente sitio para la sorción cargado de moléculas tales como metales o radionúclidos (Baskaran y Santschi, 1993; Martin *et al.*, 1995; Moran *et al.*, 1996 citados por ARRIETA *et al.*, 1998). Debido a la adsorción de moléculas lábiles en CDOM, esto podría convertirse en un CDOM más atractiva como fuente de nutrientes, conduciendo a una mayor mineralización (ARRIETA *et al.*, 1998).

2.4.3 Relación enzima-arcilla en distintos ecosistemas. La liberación de enzimas extracelulares por microorganismos tiene mayor función en la adquisición de nutrientes y degradación de materia orgánica. Estas enzimas son producidas por una variedad de organismos en respuesta a limitación de nutrientes y para facilitar la adquisición de carbono y energía por los heterótrofos (Sala *et al.*, 2001 citados por TIETJEN y WETZEL, 2003). La interacción carbono orgánico disuelto con arcilla ha sido estudiado como medio para inmovilizar los metales pesados (Celis *et al.*, 2000 citados por TIETJEN y WETZEL, 2003) y contaminantes orgánicos (Matthes y Kahr, 2000 citados por TIETJEN y WETZEL, 2003). La adsorción de enzimas en las superficies de las arcillas es determinada por el punto isoeléctrico (Quiquampoix *et al.*, 1993 citado por TIETJEN y WETZEL, 2003). La adsorción de minerales de arcilla puede actuar para mejorar o mantener la actividad de la enzima siempre que la sorción haya servido para estabilizar la estructura de la enzima. La estructura de las arcillas filosilicatadas tienen el potencial de proporcionar un área superficial mayor a 100 m² por gramo de arcilla, con procesos de adsorción, capaz de incorporar compuestos de alto peso molecular y complejos aromáticos (Namjesnik-Dejanovic *et al.*, 2000 citados por TIETJEN y WETZEL, 2003). Las partículas de arcilla, comúnmente en muchas superficies de agua, pueden modificar la actividad de la enzima. En el estudio de TIETJEN y

WETZEL, (2003) se utilizaron arcillas motmorillonitas y arcillas extraídas de la cuenca del lago Elledge (Tuscaloosa, Alabama), estas fueron combinadas con soluciones de fosfatasa alcalina, glucosidasa, proteasa y xilosidasa para evaluar la adsorción y el efecto de ésta en la actividad enzimática. La adsorción de las arcillas de la cuenca del lago Elledge disminuye la actividad de la fosfatasa alcalina, y la adsorción de motmorillonita fue observada para todas las cuatro enzimas con reducción de actividad enzimática. La adsorción de la arcilla en la superficie del sustrato dio lugar a un efecto de concentración y el aumento de la actividad enzimática asociada con las partículas. Cuando los complejos enzima-arcilla fueron expuestos a la luz solar natural se observó una disminución en la actividad enzimática, pero esta disminución, por lo general, no fue significativamente diferente de un tratamiento midiendo sólo la adsorción. Los resultados indican que la adsorción de las enzimas por partículas de arcilla puede tener efectos en la disponibilidad y la capacidad de hidrólisis, reducción de la reactividad enzimática, almacenamiento adjunto de partículas de arcilla con los cambios en el transporte y la distribución, y la protección de la fotodegradación.

La utilización de plantas transgénicas para la producción de insecticida, ha llevado a que sean resistente a ciertos insectos. Estas plantas liberan las toxinas (proteínas) al suelo vía exudados de raíces (Saxena *et al.*, 1999 citado por CHENU *et al.*, 2003) y residuos de cosecha (Palm *et al.*, 1996 citado por CHENU *et al.*, 2003). En la adsorción de partículas sólidas se ha encontrado la disminución de la biodegradabilidad de un número de moléculas orgánicas (Chenu y Stotzky, 2002 citado por CHENU *et al.*, 2003). Algunos aminoácidos, como el ácido aspártico y cisteína, no fueron biodegradados cuando están ligados a la arcilla (Dashman y Stotzky, 1986 citado por CHENU, 2003; Koskella y Stotzky (1997) citado por CHENU *et al.*, (2003).

CHENU *et al.*, (2003) investigaron la capacidad de las arcillas del suelo para proteger las proteínas de la biodegradabilidad: la proteína insecticida de *Bacillus thuringiensis* subsp. *Tenebrionis* (BTT toxina) y albúmina sérica bovina (BSA). Las dos proteínas adsorbidas en grandes cantidades y de forma irreversible por partículas de arcilla esmectita de un Vertisol. Cuando la arcilla está presente en el medio, el crecimiento microbiano es directamente proporcional a la cantidad de proteínas (es decir, no adsorción). El efecto inhibitorio sobre la utilización de arcillas de la BSA y BTT toxina

fue interpretado como el resultado de la adsorción de las proteínas a la arcilla, el cual hacía que las proteínas quedaran no disponibles para la utilización microbiana.

2.5 Los suelos de Chile y sus arcillas dominantes

Los suelos graníticos de la costa de Chile se presentan desde la V a la IX Región, son del orden Alfisol, donde predominan las arcillas caolinita y haloisita principalmente. Estos suelos, que presentan un buen desarrollo, tienen un horizonte de acumulación de arcilla, alto contenido de bases, bien desarrollados y bajo contenido orgánico. Los suelos aluviales del valle central se presentan desde la V a VIII Región, son del orden inceptisol, presentan alto contenido de bases, contenido medio de materia orgánica y su arcilla dominante es la esmectita principalmente. Los rojos arcillosos se presentan desde la VIII a la X Región, son del orden Ultisol y su arcilla dominante es la haloisita. Los suelos trumaos se presentan desde la VII a la X Región principalmente, son del orden Andisol, su arcilla dominante es el alofán y presentan un alto contenido de materia orgánica (BESOAIN, 1985).

3 MATERIAL Y METODO

3.1 Descripción del estudio

Este estudio se realizó en el Laboratorio del Instituto de Ingeniería Agraria y Suelos, de la Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Austral de Chile. Está dividido en tres fases: (1) caracterización química de los suelos, (2) separación de la fracción arcilla del suelo por métodos físicos y su caracterización y (3) un estudio de incubación de leucina suelo y su recuperación de su adición al material arcilloso, después de 24 horas. Se utilizaron 5 muestras de suelo representativas de grandes grupos de suelos nacionales. Los materiales arcillosos, provenientes de los suelos, corresponden a tres suelos derivados de materiales volcánicos (dos Andisoles y un Ultisol), un suelo de origen granítico (Alfisol) y un suelo de origen de terrazas aluviales de la zona central de Chile (Inceptisol). Las muestras de suelo se presentan en el Cuadro 1.

Cuadro 1 Gran grupo de suelo, serie de suelo, clasificación USDA y arcillas dominantes de los materiales evaluados.

Gran Grupo de Suelos	Serie de Suelo	Clasificación	Arcilla dominante
Granítico	Lo Vásquez	Alfisol	Caolinita
Terraza aluvial media	Colina	Inceptisol	Esmectitas
Rojo Arcillosos	Crucero	Ultisol	Haloisita
Trumao reciente	Antillanca	Andisol	Alofán-Vidrio
Trumao	Puyehue	Andisol	Alofán

3.1.1 Caracterización de los suelos y materiales arcillosos. Las muestras de suelos fueron evaluadas para determinar y caracterizar la reactividad de sus materiales arcillosos. Se determinó el Aluminio extractable en acetato de amonio 1M, pH 4,8 (relación suelo solución 1:10); el Al extractable en oxalato de amonio ácido 0,2 M (relación suelo solución 1: 50); el Aluminio extractable en pirofosfato de sodio 0,1 M (relación suelo solución 1:100). Además, el pH en agua, relación 1:2,5 y el pH en NaF, (relación suelo solución 1:50). Todas estas metodologías están descritas en SADZAWKA (1990). Posteriormente, en el material arcilloso separado físicamente, se evaluó el contenido de C orgánico por el método de digestión húmeda de Walkley y Black y el contenido de Aluminio extractable con acetato de amonio pH 4,8, con las metodologías de suelo descritas en SADZAWKA (1990).

3.1.1.2 Separación de la fracción arcilla por métodos físicos. Muestras de suelo, de aproximadamente 60 g de suelo seco, fueron digeridas con agua oxigenada de 100 volúmenes para eliminar su contenido de materia orgánica a través de una oxidación. El agua oxigenada se aplicó en intervalos diarios hasta que dejó de reaccionar. Posteriormente, se separó físicamente la arena, a través de un tamiz de 63 micrones (FORSYTHE, 1974; MAYER *et al.*, 2002). La suspensión sobrenadante fue sometida a vibraciones ultrasónicas por cinco minutos (Schallfix, ultrasonido de vástago) para dispersar microagregados y separar la fracción arcilla, del resto de material limo.

3.1.2 Procedimiento de Incubación. Se incubó 1g de material arcilloso con dosis crecientes de leucina, por 24 horas, en una cámara de incubación a oscuras a 20 °C. La leucina, proveniente de Merck (p.a. 98% pureza) fue aplicada en dosis de 186, 360, 740, 1120 y 1480 mg/kg. Estas fueron preparadas a través de la adición de 0,0093; 0,018; 0,037; 0,056 y 0,074 g de leucina a 10 mL de ácido clorhídrico en 100 mL de agua destilada. De estas soluciones, se aplicaron 0,5 mL a 1 g de material arcilloso. Todos los tratamientos de adición de leucina se replicaron tres veces.

Se incluyó un control de material inerte para evaluar la degradación de leucina. Este control consistió en 1 g de cuarzo evaluado en incubación con las distintas dosis de leucina.

Posterior a las 24 horas de incubación, todos los tratamientos fueron evaluados a través de la determinación de la leucina remanente, a través de una determinación colorimétrica en base al color violeta en espectrofotómetro UV a 570 nm.

3.1.3 Método de determinación colorimétrico para amino ácidos-nitrogenados.

Este método está adaptado para análisis de aminoácidos adicionados a los suelos en cantidades relativamente grandes. Se basa en la determinación por colorimetría obtenido cuando se realiza la reacción de ninhidrina a pH 5.0. Siendo un método de gran sensibilidad, aplicado para muestras superficiales y subsuperficiales (Steveson y Cheng 1969, 1970 citado por SPARKS *et al.*, 1996). La preparación de la muestras para el análisis colorimétrico fue modificada levemente del método original, siguiendo el método descrito en la revisión de ROTHAMSTED (2005). Esto consistió, en tomar 1 mL de la solución a medir y se mezcló con 2 mL de ácido cítrico y 1 mL de solución combinada, la cual consiste en una mezcla de acetato de sodio buffer, reactivo ninhidrina, agua destilada y cloruro de estaño. Con estas modificaciones se complementó el método y se desarrollara la curva estándar de leucina.

Todo el procedimiento que fue utilizado para obtener el material arcilloso de cada suelo y determinar la cantidad de leucina recuperada (retenida por la arcilla), descrito anteriormente se esquematiza en la Figura 1.

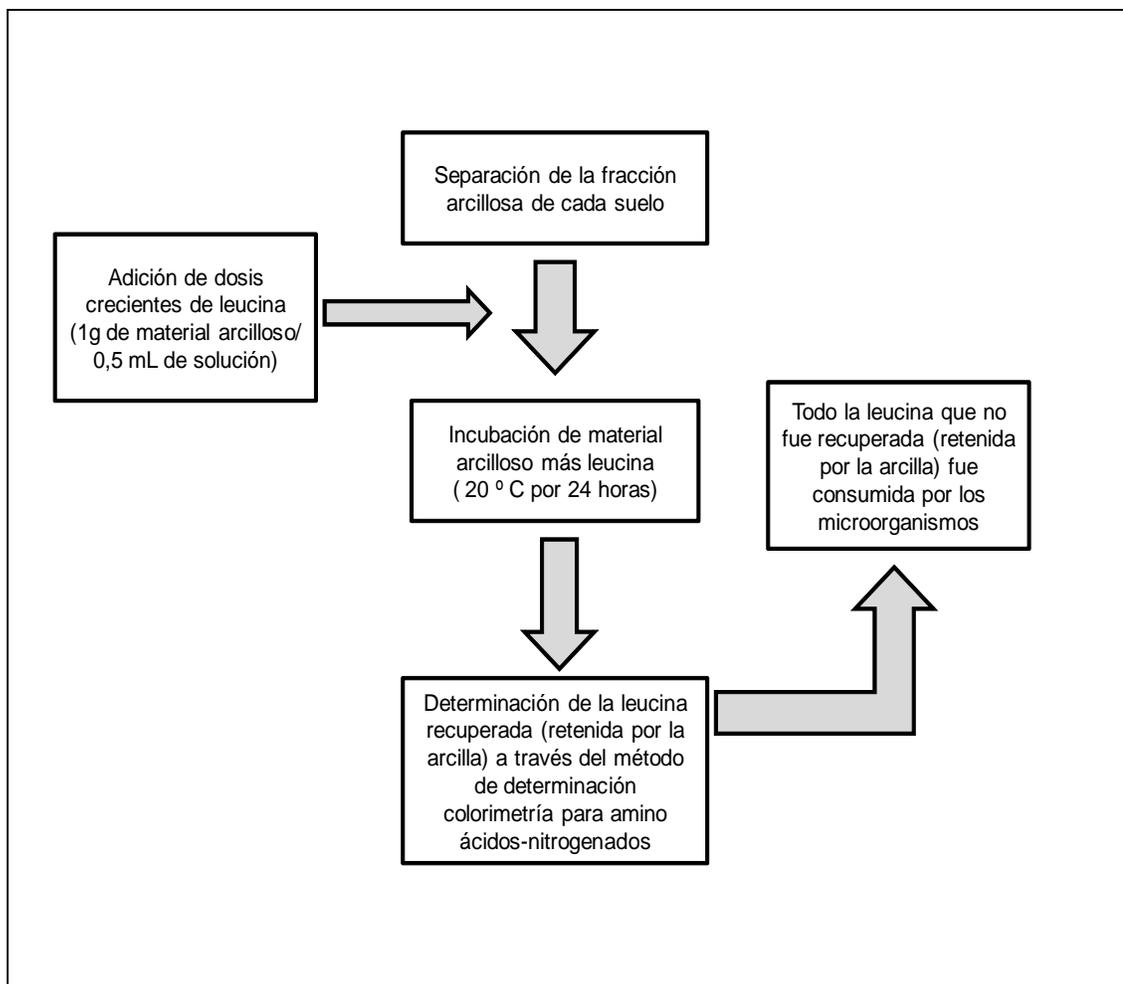


FIGURA 1 Esquema del procedimiento usado para determinar la retención de leucina por los materiales arcillosos de cada suelo.

3.2 Diseño experimental y análisis estadístico

El diseño experimental corresponde a un diseño completamente al azar, dado que no existe un ordenamiento en base a bloquear algún efecto conocido. Como no fue posible incubar todas las muestras necesarias, se incubaron por vez cada dosis de leucina en todos los materiales arcillosos y por repetición en incubaciones separadas. Posteriormente, se realizaron incubaciones para realizar repeticiones de valores que parecieron anómalos en su reproducibilidad. Además, separadamente se incubó el cuarzo con las dosis de leucina y repeticiones en una sola incubación.

Los resultados fueron analizados a través de regresión lineal y no lineal, relacionando la cantidad presente de leucina con la dosis de leucina aplicada. Para el análisis de regresión se utilizó el programa estadístico GraphPad Prism v.4.0

4 PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS

4.1 Adsorción o retención de leucina por la fracción arcillosa de cada suelo

La capacidad de retención de leucina por las fracciones arcillosas de los suelos, se analizará en términos relativos a la degradación de la leucina por un material que no produce una retención significativa de éste aminoácido, que es la arena de cuarzo. Por ello, el primer resultado que se presentará será la adsorción de leucina en cuarzo.

4.1.1 Adsorción o retención de leucina en arena de cuarzo. La arena de cuarzo se utilizó como control o punto de cero de adsorción, debido a que la arena no posee la capacidad de adsorber compuestos orgánicos ya que no tiene carga, por lo que se supuso como material no reactivo. A partir de ello, se asumió que la leucina adicionada fue en su totalidad consumida por los microorganismos presentes durante el período de incubación a 20°C (24 horas), debido a que no existiría algún tipo de “protección” por parte de la arena.

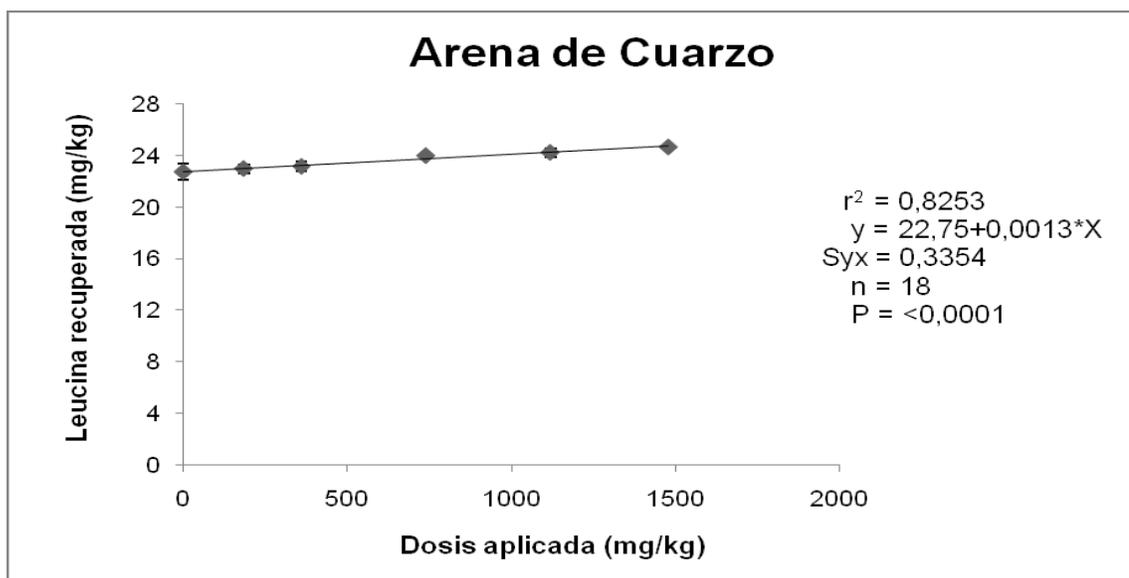


FIGURA 2 Relación entre las dosis aplicadas de leucina (mg/kg) y las concentraciones recuperadas por el material arena de cuarzo.

Los resultados en la Figura 2, muestran que existió un pequeño aumento de la cantidad de leucina recuperada en la medida que se aplicó una mayor dosis de leucina. Este aumento fue representado por una ecuación lineal con una pendiente que indica que existe un aumento de 0,13 mg/kg de leucina por cada 100 mg/kg de leucina aplicada (Figura2). De esta forma, en el rango evaluado (hasta 1480 mg/kg de leucina aplicada) se aumentó la recuperación del control en 1,9 mg/kg de leucina. Aquel valor, se considera en este estudio un pequeño incremento, mostrando que casi todo lo aplicado no pudo ser recuperado, mostrando que no existió “protección” del adsorbente, lo que hace que la leucina sea degradada microbially. Los datos utilizados para el análisis estadístico de la arena de cuarzo se muestran en el Anexo 1.

Arena de cuarzo ha sido utilizada en otras investigaciones como control de un material no adsorbente, aunque principalmente de cationes y aniones tanto orgánicos como minerales. De esta forma, ANSCHUTZ *et al.* (2007) caracterizaron la adsorción de perfluorooctanos sulfonato (PFOS), tensioactivos que son importantes contaminantes ambientales, en cinco materiales; arena estándar de Ottawa, caolinita, geotita sintética, sedimento del lago Michigan y arena con recubrimiento de óxidos de hierro. El incremento en la adsorción se presentó en el siguiente orden: arena estándar de Ottawa < arena recubierta de óxido de Fe < caolinita < geotita. La arena fue considerada como control en este estudio para evidenciar la adsorción por los otros materiales cargados electrostáticamente.

Dado que la adsorción depende de la capacidad del adsorbato de ser retenido y del adsorbente de retenerlo (BOHN *et al.*, 1995) y siendo el material de cuarzo nulo en su capacidad de retención, en este estudio se asumió que cuando se agrega una dosis de leucina en presencia de cuarzo, toda ella queda en solución. De esta forma, los microorganismos fueron capaces de degradar rápidamente leucina en solución, por lo cual después de un período de incubación de 24 horas, no existiría presencia de leucina ya que se habría degradado microbially. Para comparar la protección dada por el material arcilloso y evaluar la degradación microbially, se asumió que la diferencia sobre el control (cuarzo) de leucina recuperada correspondería a protección realizada por este material.

Por lo tanto, se asume que en los cinco materiales usados, toda la leucina agregada que no fue adsorbida por el material arcilloso fue inmovilizada por los microorganismos

presentes durante el periodo de incubación (20°C por 24 horas). Para corroborar esta aseveración se tomaron puntos al azar de dos de los materiales evaluados: muestras del suelo Colina (Inceptisol) y del suelo Puyehue (Andisol) y se determinó la desaparición de N mineral a través del tiempo como indicador de incremento de población microbial a través de la inmovilización de N. De esta forma, se asumió que si el N mineral desaparece después de 24 horas de adición de leucina, esto ocurrió producto de la degradación microbial.

En la Figura 3 se muestra la medición N mineral después de 24 horas de incubación con las distintas dosis de leucina aplicada. Ambos suelos muestran una disminución del nitrógeno inorgánico a medida que va aumentando la dosis de leucina agregada al material, lo que sería indicativo de un crecimiento microbial que se muestra en la inmovilización del aminoácido leucina a través del consumo microbial. Este consumo microbial ha sido señalado en la literatura (FISHER y PUSH, 1999).

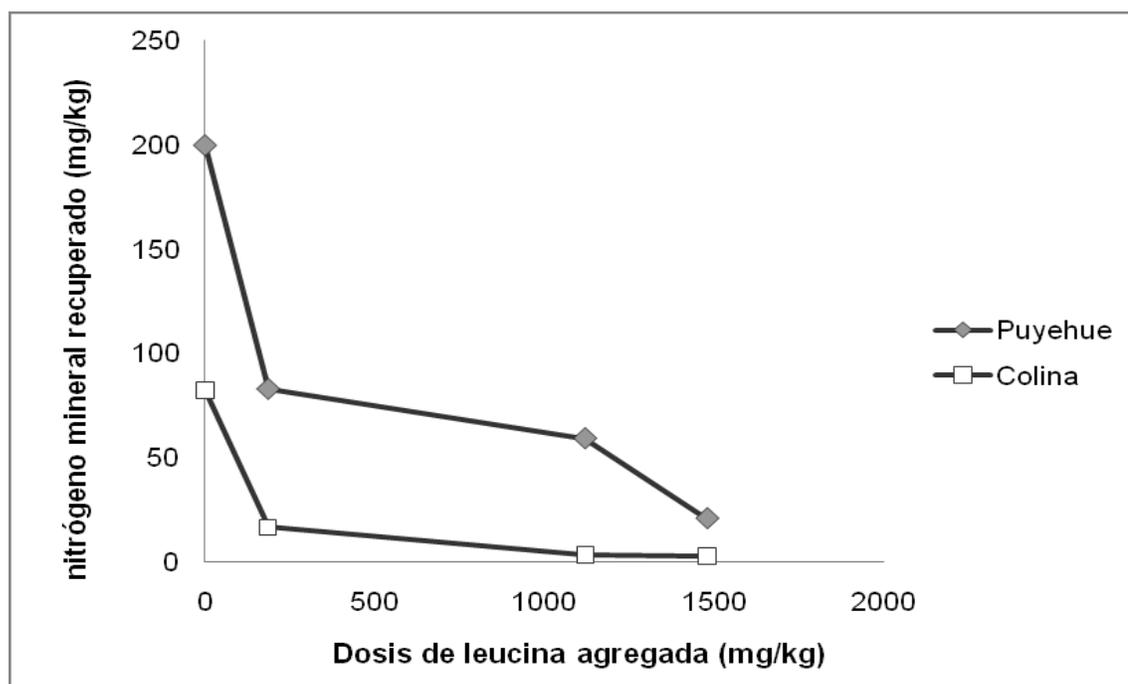


FIGURA 3 Inmovilización de nitrógeno por los microorganismos presentes durante el período de incubación versus dosis de leucina agregada.

El uso de leucina como indicador de crecimiento microbial es común en muchas investigaciones, utilizando como sustrato leucina. FISCHER y PUSH (1999 y citas de esta publicación) midieron el crecimiento microbial en sistemas acuáticos incorporando leucina dentro de la proteína bacterial, para representar el incremento de la biomasa bacterial.

4.1.2 Adsorción o retención de leucina en materiales arcillosos de los suelos. En el caso de los materiales arcillosos, se observa una clara tendencia al aumento de la cantidad de leucina recuperada a medida que fueron aumentando las dosis aplicadas (Figura 4). Cada material arcilloso evaluado presentó distintos niveles de adsorción en base a su capacidad de adsorción dado por la arcilla dominante y su contenido residual de materia orgánica del suelo (MOS).

Para evaluar las distintas capacidades de adsorción de los materiales arcillosos evaluados, se ajustó una ecuación lineal entre la cantidad de leucina aplicada y la cantidad de leucina recuperada (Cuadro 2). En esta relación la pendiente de la ecuación lineal refleja las distintas capacidades de adsorción de los materiales evaluados. Todos los coeficientes de determinación fueron superiores a 0,775 ($n = 18$) mostrando que las ecuaciones presentan un relativo buen ajuste a los datos determinados. Los datos utilizados para realizar el análisis estadístico se muestran en el Anexo 2.

El material arcilloso de la serie de suelo Colina fue el que presentó menor pendiente de adsorción, como muestran los resultados de la Figura 4 y Cuadro 2. La pendiente muestra que existe una recuperación de 2,1 mg/kg de leucina por cada 100 mg/kg de leucina aplicada (Cuadro 2). Este valor de pendiente fue 16 veces superior al valor obtenido con arena de cuarzo utilizada como control, mostrando que las arcillas de este suelo presentan una capacidad de protección a la acción de degradación de la leucina. De esta forma, en el rango evaluado (hasta 1480 mg/kg de leucina aplicada) se alcanzó una recuperación de 31,1 mg/kg de leucina. En el suelo Colina, la arcilla dominante es del tipo de las esmectitas (Cuadro 1), una arcilla cristalina 2:1, la cual corresponde a suelos de terraza aluvial media (Inceptisol) (BESOAIN, 1985).

En un segundo nivel de protección de leucina por el material arcilloso se mostró en las arcillas provenientes del suelo Lo Vásquez. Este correspondió a un horizonte B de la

serie Lo Vásquez, dominado por Caolinita (RODRIGUEZ, 1993). Este material presentó un mayor nivel de adsorción en comparación con la arena de cuarzo (32 veces) y el material arcillosos de la serie Colina (2 veces). La pendiente muestra que existe una recuperación de 4,2 mg/kg de leucina por cada 100 mg/kg de leucina aplicada. De esta forma, en el rango evaluado (hasta 1480 mg/kg de leucina aplicada) alcanzó una recuperación de 63,2 mg/kg de leucina. Su arcilla dominante corresponde al tipo de las caolinitas (Cuadro 1), una arcilla cristalina 1:1, la cual, en su gran mayoría, pertenece a suelos graníticos (Alfisol) (BESOAIN, 1985).

El tercer nivel de protección de leucina se presentó en las arcillas provenientes del suelo Crucero, representativas de arcilla del tipo haloisítico (BESOAIN, 1985). Sus resultados (Figura 4) indican un claro aumento en el nivel de adsorción en comparación con la arena de cuarzo (92 veces) y con respecto a los materiales arcillosos provenientes de las series de suelo Colina (6 veces) y Lo Vásquez (3 veces). Su pendiente muestra que existe un aumento de 12,4 mg/kg de leucina por cada 100 mg/kg de leucina aplicada. De esta forma, en el rango evaluado (hasta 1480 mg/kg de leucina aplicada) se alcanzó una recuperación de 183,5 mg/kg de leucina. El mayor nivel de recuperación estaría asociado a la arcilla dominante, haloisita (Cuadro 1), la cual pertenece a una arcilla paracristalina 1:1, presente en los suelos del tipo rojo arcilloso (Ultisol) (BESOAIN, 1985), la cual presenta una mayor capacidad de retención de aniones como ha sido mostrada para fosfatos.

El cuarto nivel de protección de leucina corresponde a los materiales arcillosos provenientes del suelo Antillanca (Figura 4). El gráfico muestra un nivel de adsorción mayor que la arena de cuarzo (100 veces) y los materiales arcillosos de Colina (7 veces), Lo Vásquez (4 veces) y un similar en comparación con el material arcilloso de Crucero (1,2 veces). Ello es ratificado por la inclinación de la pendiente del material arcilloso de Antillanca. La pendiente muestra que existe un aumento de 12,8 mg/kg de leucina por cada 100 mg/kg de leucina aplicada. De esta forma, en el rango evaluado (hasta 1480 mg/kg de leucina aplicada) se alcanzó una recuperación de 188,9 mg/kg de leucina. Su arcilla dominante es del tipo alofán-vidrio (Cuadro 1), arcilla no cristalina, presente en suelos conocidos como Trumao reciente (Andisol) (BESOAIN, 1985).

Cuadro 2 Parámetros del análisis regresión lineal entre la cantidad de leucina aplicada y la cantidad de leucina recuperada por los distintos materiales arcillosos evaluados.

Parámetros de la regresión lineal				
Materiales arcillosos	a	b	r ²	Sy.x
Arena de cuarzo	22,75	0,0013	0,825	0,34
Colina	12,93	0,0210	0,969	2,09
Lo Vásquez	8,66	0,0427	0,776	16,74
Crucero	24,51	0,1240	0,962	13,74
Antillanca	41,28	0,1277	0,886	25,43
Puyehue	62,43	0,2590	0,861	57,78

Donde (b): pendiente; (r²): coeficiente de determinación; (Sy.x): error estándar y (a): intercepto de la ecuación obtenida en el análisis de regresión lineal.

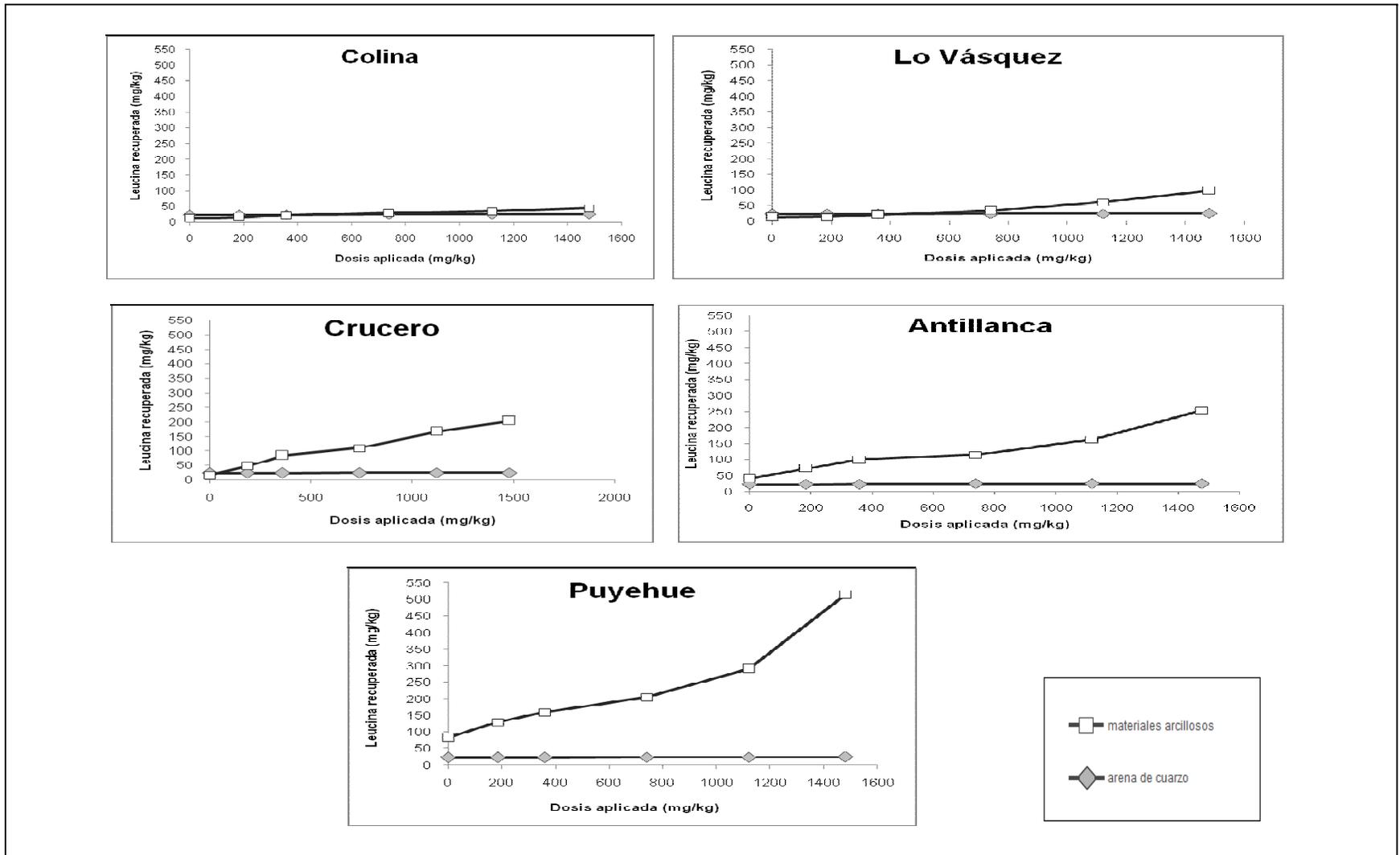


FIGURA 4 Relación entre la dosis aplicada y la leucina recuperada por cada material arcilloso de los suelos versus Arena de cuarzo. Todos presentan diferencias estadísticas, con un $P < 0.0001$, para cada tratamiento $n = 18$.

El quinto y último nivel de protección de leucina medido en los materiales arcillosos elegidos son las arcillas del suelo Puyehue. Los resultados, Figura 4, muestran un nivel de retención notoriamente superior comparado con arena de cuarzo (200 veces), Colina (13 veces), Lo Vásquez (7 veces), Crucero (2 veces) y Antillanca (2 veces). La pendiente muestra que existe un aumento de 25,9 mg/kg de leucina por cada 100 mg/kg de leucina aplicada. De esta forma, en el rango evaluado (hasta 1480 mg/kg de leucina aplicada) se aumentó la recuperación en 383,3 mg/kg de leucina. El mayor nivel de retención se debería a la arcilla dominante, no cristalina del tipo alofán (Cuadro 1), que se encuentran presente en los suelos Trumao (Andisol) (BESOAIN, 1985), la cual presenta mayor retención de fosfatos.

4.2 Relación entre parámetros del suelo y la adsorción de leucina

El principal responsable de la adsorción de aminoácidos por el suelo, en especial de leucina para este estudio, es la fracción coloidal del suelo. Las series de suelos para este estudio fueron escogidas en base a su arcilla dominante y las características de estas. Los resultados obtenidos a partir de los parámetros del suelo que se utilizaron para medir la reactividad de éste se muestran en el Cuadro 3.

Los valores de aluminio extractable en acetato de amonio fueron mayores en el suelo Puyehue seguido por Antillanca y Crucero todos los cuales fueron muy superiores a Lo Vásquez y quedando con menor contenido el suelo Colina (Cuadro 3). Una situación similar se muestra en el aluminio extractable medido en pirofosfato de sodio. Los valores más altos pertenecen a Puyehue, seguido por Crucero, Antillanca, y en un nivel de menor contenido el suelo Colina, dejando en último lugar al suelo Lo Vásquez. Este último ordenamiento fue similar para el aluminio extractable medido en oxalato ácido.

La importancia de extraer el aluminio “reactivo” de un suelo es para reflejar la reactividad del suelo para retener aniones en forma específica (aluminio reactivo a través de sus OH⁻) en su complejo de intercambio (OBURGER *et al.*, 2009). La utilización de Fe, Al y Si a través de los métodos de extracción con pirofosfato extractable, oxalato extractable y ditionita citrato extractable, han sido utilizados por diversos autores. Así, HARRISON y STRAHM (2008) con el fin de relacionar las características pedogenéticas de los suelos con el contenido y composición de las arcillas, la capacidad de intercambio catiónico (CIC) y la capacidad de intercambio

aniónico (CIA), en su estudio, control sobre la sorción, desorción y mineralización de ácidos orgánicos de bajo peso molecular en suelos de carga variable. Del mismo modo, MOCKOVCIÁKOVÁ *et al.* (2007) evaluaron los cambios en dos muestras de caolinitas, KG1 (de buen orden) y KG2 (de orden pobre), a través de la extracción de Fe, Al y Si, después de haber sido sometidas a biolixiviación (lixiviación y remoción biológica) de Fe usando bacterias *Bacillus* spp. En este estudio, se utilizó el método de oxalato ácido para caracterizar la composición química de acuerdo a la capacidad de sustitución de Fe, de las dos muestras de caolinitas usadas.

Dado que el pH de un suelo mide la concentración de iones H^+ en solución, un pH más ácido implica mayor presencia de iones H^+ en solución, lo que afecta la carga variable de las arcillas, produciendo una mayor capacidad de retención de aniones por el suelo. Ordenando los suelos desde los más ácidos a los más básicos, los valores obtenidos fueron, primero Crucero, seguido por Puyehue, Antillanca, Lo Vásquez y Colina (Cuadro 3).

Varios estudios revelan la importancia del pH del suelo sobre los procesos de sorción que ocurren en el suelo. HARRISON y STRAHM (2008), midieron la sorción de dos ácidos carboxílicos medido en tres niveles pH 4, 6 y 8. La mayor sorción se dio en el siguiente orden de $pH\ 4 > 6 > 8$. Este tipo de relación es común, mostrando que la porción de aniones se incrementa como el sistema se vuelve más ácido. Este tipo de relación ha sido observada también para la sorción de la materia orgánica disuelta.

El pH en NaF es un método que mide la capacidad de un suelo de generar OH reactivos asociados con la superficie coloidal, en especial con la adsorción específica de las arcillas y ha sido utilizado para caracterizar materiales arcillosos de distinta reactividad (OBURGER *et al.*, 2009). Con los valores más altos de pH en NaF se presentó primero el suelo Puyehue, Antillanca, Crucero, luego, Colina y Lo Vásquez (Cuadro 3).

La solución de NaF libera grandes cantidades de OH desde los bordes de los materiales arcillosos de los suelos, cuando las arcillas presentan una superficie de hidroxilos dominante hacia la solución. Por lo tanto, la abundancia de estos compuestos se ha estimado en la medición del pH de un extracto de NaF (pH NaF). De esta manera GILKES y HUGHES (1994), determinaron que la capacidad de sorción

de P, para los suelos del Suroccidente de Australia, está dada por los compuestos de Al inorgánicos y orgánicos desordenados que liberan una gran cantidad de OH en una solución de pH NaF, por lo tanto, determinaron que la medición de pH NaF es un indicador de sorción de P en los suelos del suroccidente de Australia.

Además se sabe que el pH NaF es un especial indicador del contenido de minerales no cristalinos basándose en la propiedad de los alofanos de producir una reacción alcalina con fluoruro de sodio. Los valores de pH medido en NaF 1 N, superiores a 9,4 indican la presencia de alofán y de complejos de sustancias orgánicas con aluminio activo (amorfo), como es el caso de los Andisoles, suelos de origen de ceniza volcánica, donde la arcilla dominante es el alofán, presentando valores sobre los 800 ppm de aluminio extractable y un pH NaF superiores a 11,0. Así, GAITAN y LOPEZ (2007 y citas de su publicación) analizaron la gradiente edáfica midiendo pH NaF, pH en agua, Al extractable en oxalato ácido, densidad aparente, carbono orgánico, capacidad hídrica y precipitación media anual, de cinco grupos de suelos de la región Andino-patagónico, obteniendo que los valores de pH NaF fueron más altos hacia el oeste debido a su mayor cercanía a los volcanes de Chile.

CUADRO 3 Parámetros medidos para caracterizar los suelos y evaluar la reactividad de sus materiales arcillosos.

	suelos				
	Lo Vásquez (caolinita)	Colina (esmectita)	Crucero (haloisita)	Antillanca (alofán-vidrio)	Puyehue (alofán)
caracterización de suelo					
Al extractable en acetato de amonio pH 4,8 (mg/kg)	35	13	814	859	2787
Al extractable en oxalato ácido (%)	0,12	0,15	0,85	0,58	3,38
Al extractable en pirofosfato de sodio (%)	0,09	0,47	4,89	1,76	5,96
Fe extractable en oxalato ácido (%)	0,22	0,25	0,95	0,33	1,17
pH NaF	8,63	8,73	10,06	11,02	11,55
pH H ₂ O	7,05	7,43	4,76	5,66	5,53

Si bien, los contenidos de aluminio siguen un orden en los suelos utilizados que se correlaciona con las adsorciones medidas, los suelos clasificados como Andisoles y Ultisol, que presentan arcillas dominantes no cristalinas y paracristalinas respectivamente, tienen los valores más altos de Al extractado en acetato de amonio, oxalato ácido y pirofosfato de sodio correlacionados directamente con los niveles de retención más altos obtenidos.

Además, los suelos muestran una relación entre la capacidad de generar OH reactivos asociados con la superficie coloidal (pH en NaF) y el contenido de aluminio extractado (acetato de amonio, oxalato ácido y pirofosfato de sodio) de cada suelo. La Figura 5 muestra que a medida que aumenta el aluminio extractado aumenta el pH en NaF de los suelos, obteniendo las relaciones más altas los suelos clasificados como Andisoles.

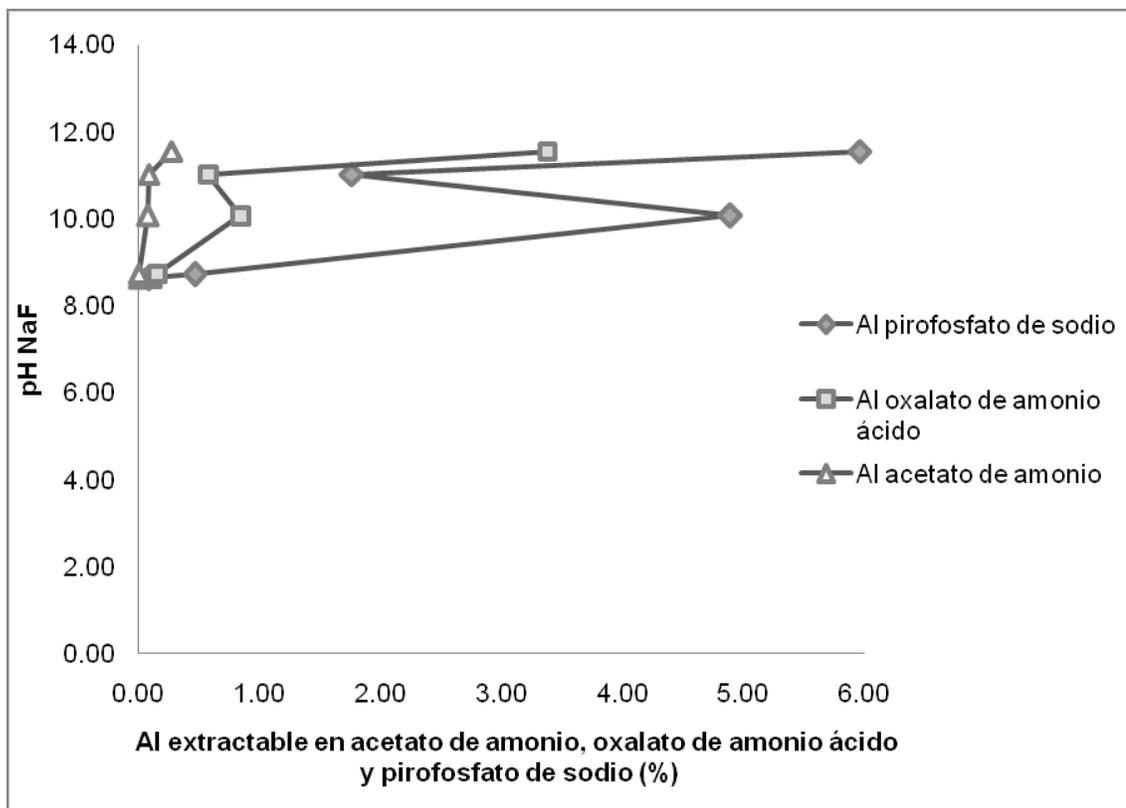


FIGURA 5 Relación entre los contenidos de aluminio extractable medidos de los suelos y los niveles de pH en NaF.

La retención de leucina fue relacionada con los parámetros de reactividad de los suelos medidos. Para evaluar la retención de leucina, se consideró la pendiente de la relación entre leucina aplicada y leucina recuperada (Cuadro 2). Los datos de la relación entre la pendiente de retención de leucina y los parámetros de reactividad de los suelos medidos fueron ajustados a una relación lineal como (Figura 6). Todos los coeficientes de determinación obtenidos para la relación entre los parámetros de Al extractado y las pendientes de retención de leucina fueron superiores a 0,762 ($n = 5$) mostrando que las ecuaciones presentan un relativo buen grado de relación. También, el coeficiente de determinación de pH NaF fue de 0,863 ($n = 5$) mostrando que existe un buen grado de relación entre la generación de OH desde los bordes de los materiales arcillosos de los suelos y la retención de leucina por los materiales arcillosos (Cuadro 4).

CUADRO 4 Parámetros del análisis regresión lineal entre las pendientes de recuperación de leucina de cada material y los parámetros de caracterización de los suelos mayor reactividad de sus materiales.

Parámetros del suelo	Parámetros de la regresión lineal			
	a	b	r ²	Sy.x
Al extractable en acetato de amonio medido en el suelo	0,04	0,00008	0,970	0,02
Al extractable en acetato de amonio medido en el material arcilloso	0,06	0,00001	0,868	0,04
Al extractable en oxalato de amonio ácido	0,05	0,06589	0,889	0,04
Al extractable en pirofosfato de sodio	0,03	0,03124	0,763	0,05
pH NaF	0,55	0,06686	0,863	0,04
Carbono orgánico	0,05	0,02395	0,524	0,08

Donde (b): pendiente; (r²): coeficiente de determinación; (Sy.x): error estándar y (a): intercepto de la ecuación obtenida en el análisis de regresión lineal.

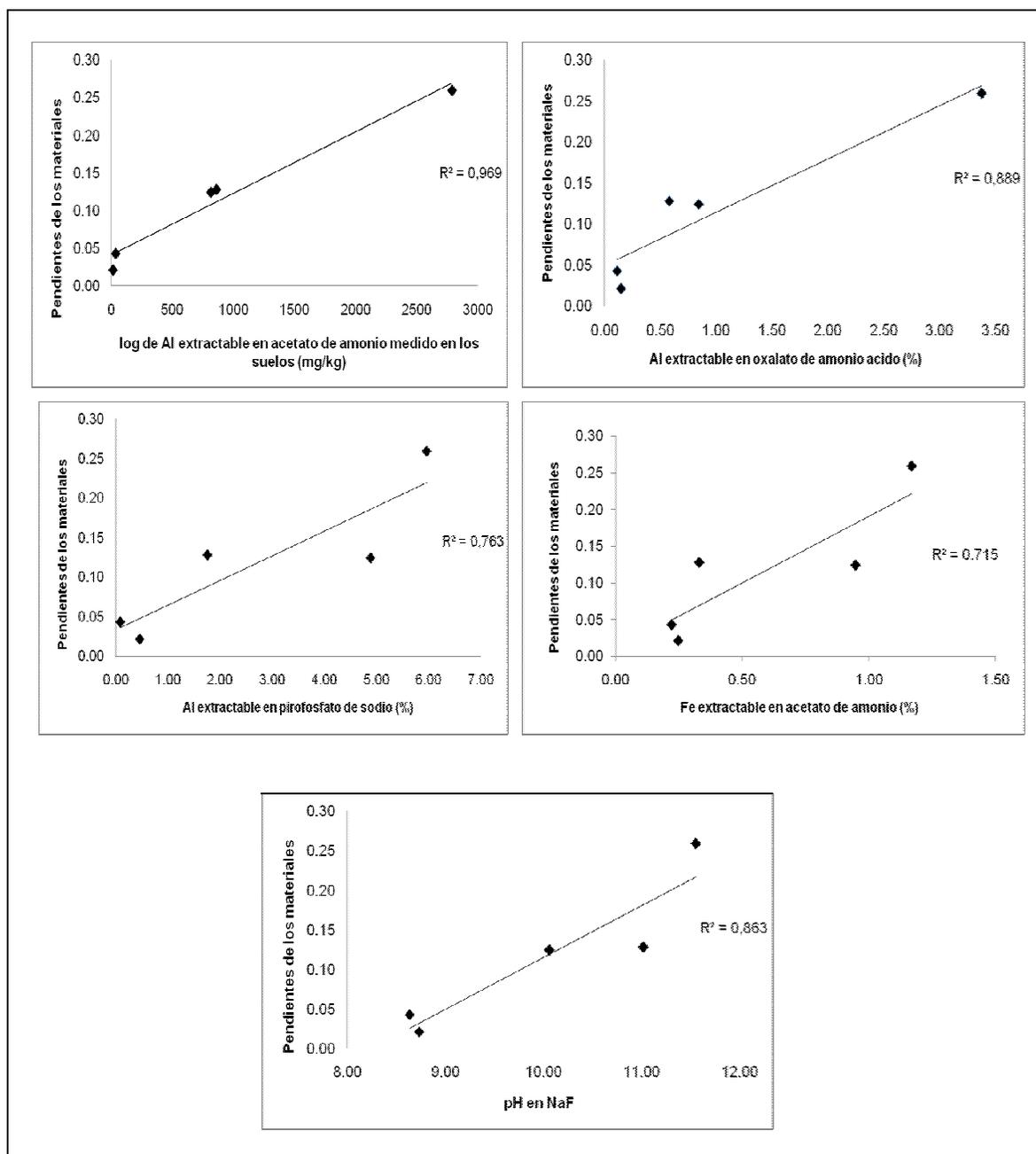


FIGURA 6 Relación entre los parámetros que determinan reactividad en los suelos medidos y las pendientes de retención de leucina de cada material arcilloso.

4.2.1 Relación entre parámetros del material arcilloso y la adsorción de leucina.

La fracción arcillosa exhibe una gran área superficial, están cargadas y son capaces de adsorber iones en su superficie. También el contenido MOS residual varía según el material usado, con esto, los niveles de adsorción presentan distintos puntos de inicio.

En base a esto y para corroborar los distintos niveles de adsorción, se realizaron determinaciones de la reactividad de los suelos elegidos, esta vez, aislando el material arcilloso de cada suelo (Cuadro 5). Los suelos donde su material arcilloso presenta un mayor contenido de MOS residual y asociado a una reactividad más alta fueron los que presentaron mayores niveles de adsorción (Figura 7). Puyehue fue el de mayor extracción de aluminio del material, seguido por Crucero (5 veces), Antillanca (9 veces), Colina (951 veces) y Lo Vásquez (1268 veces). Por otro lado el contenido de MOS es mayor en Antillanca, luego Puyehue (1 vez), Crucero (7 veces), Lo Vásquez (81 veces) y Colina (9 veces).

CUADRO 5 Contenido de carbono orgánico y aluminio extractable de cada serie de suelo.

Serie de Suelo	Contenido de Carbono orgánico residual (g/100g)	Aluminio extractable del material arcilloso (mg/kg)	Aluminio extractable del suelo (mg/kg)
Lo Vásquez	0,70	21	35
Colina	0,08	28	13
Crucero	0,86	5137	814
Antillanca	6,31	2885	859
Puyehue	5,06	26630	2786

La composición mineralógica de las arcillas permite estimar el comportamiento adsorptivo de un compuesto orgánico soluble frente a un material arcilloso determinado. Dentro de las cristalinas están las arcillas 2:1 (esmectitas) que tienen carga permanente alta, mayor área superficial y mayor capacidad de intercambio de cationes,

y las arcillas 1:1 (caolinitas) que tiene carga permanente pequeña y área superficial pequeña, la capacidad de intercambiar iones es muy baja para los suelos que presentan en forma dominantes estas arcillas. En este estudio, la arcilla paracrística elegida fue la haloisita la cual presenta una estructura 1:1, pero difiere de la caolinita en que presenta dos moléculas de agua en su estructura, presentando una alta capacidad de intercambiar iones. Por otro lado, en las arcillas no cristalinas (o de rango corto) se destaca el alofán, el cual presenta una elevada superficie específica, presentando una forma esférica y tiene una alta reactividad (BESOAIN, 1985). Con esto se puede relacionar directamente la capacidad de cada arcilla de adsorber un compuesto orgánico o retener leucina para este estudio según su composición mineralógica.

A pesar de que la arcilla dominante del suelo Lo Vásquez es una caolinita (Cuadro 1), el nivel de adsorción fue mayor que Colina, el cual presenta como arcilla dominante una esmectita. La explicación a esto se debe a los contenidos de MOS residual que presentan. La MOS residual, también se comporta como un coloide, que retiene iones y afecta la capacidad de retención del suelo. En Lo Vásquez el contenido de MOS residual fue 9 veces mayor que en Colina como muestra la Figura 7; esto sugiere que su punto inicial de adsorción o retención parte de un nivel más alto que Colina, por eso su nivel de protección es mayor a pesar de que presenta un arcilla dominante de carga permanente pequeña y área superficial pequeña. De esta misma manera, la pequeña diferencia en los niveles de adsorción entre Antillanca y Crucero se debe al contenido de MOS residual y su arcilla dominante.

Los datos de la relación entre la pendiente de retención de leucina de cada material arcilloso y los parámetros de Al extractable en acetato de amonio y carbono orgánico medidos en los materiales arcillosos fueron ajustados a una relación lineal como muestra La Figura 8.

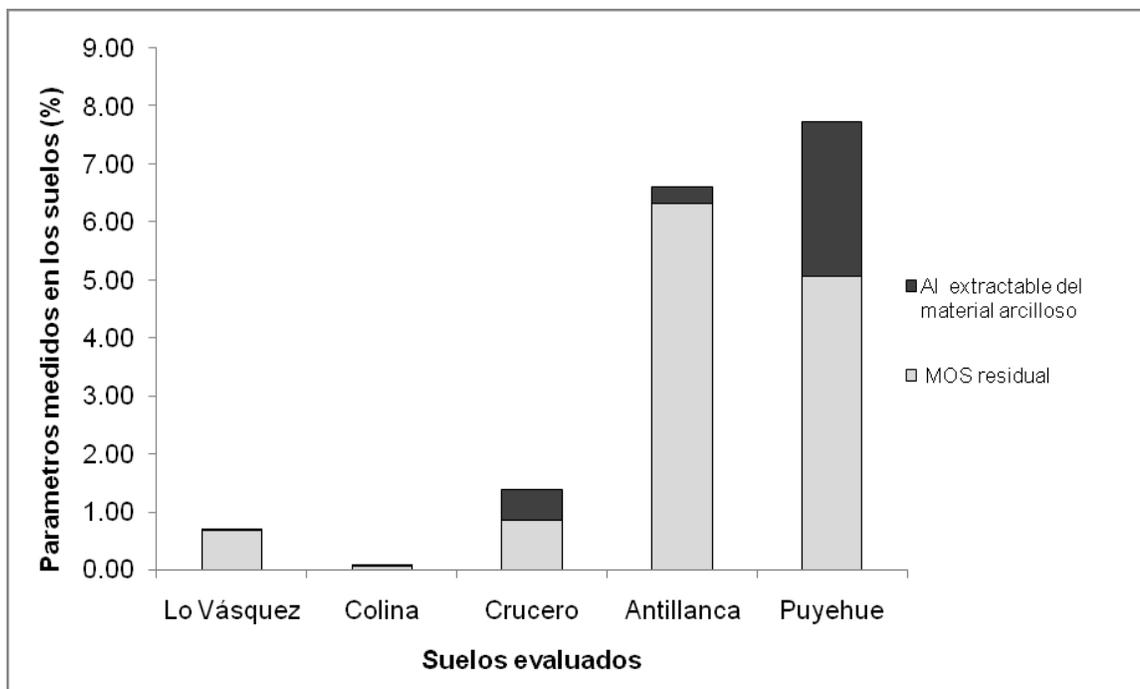


FIGURA 7 Relación porcentual entre los dos parámetros principales que determinan la retención de un aminoácido según las características de cada material arcilloso de los suelos medidos.

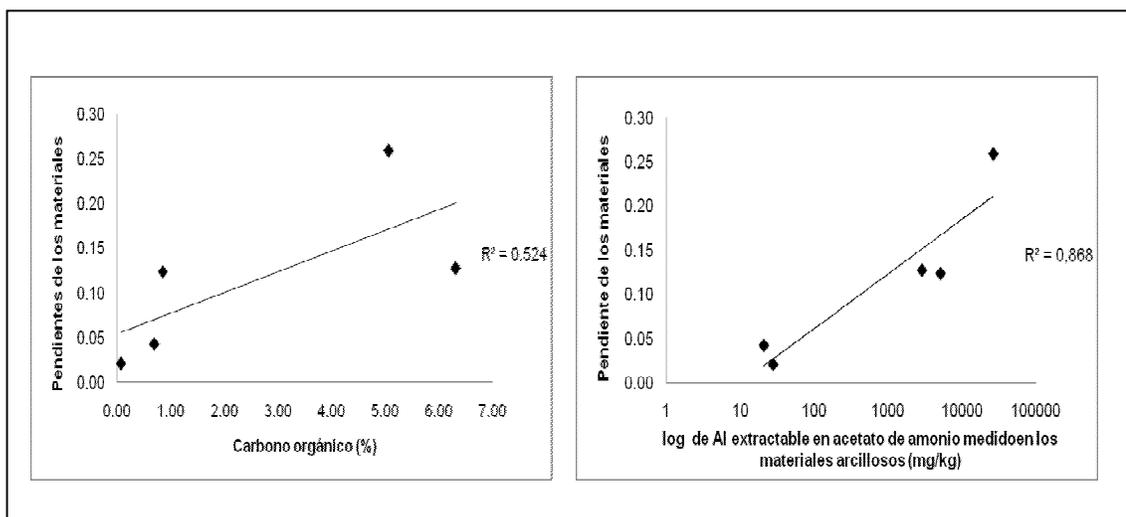


FIGURA 8 Relación entre los parámetros de los materiales arcillosos medidos y las pendientes de adsorción de leucina de cada material arcilloso.

Es importante señalar que los parámetros que dictan la adsorción de un compuesto orgánico o la retención de un aminoácido por el suelo son en mayor grado, responsabilidad del contenido de materiales que presentan la capacidad de adsorberlo (características del adsorbente). Ellos estarían constituidos por la MOS residual que presentan los suelos y por las propiedades de las arcillas que dominan cada suelo, medidos a través de parámetros de reactividad, como muestra la Figura 7. Estos parámetros representan en mayor medida la expresión de reactividad de la superficie coloidal del suelo, donde la suma de los dos principales parámetros versus las pendientes de retención de leucina de los materiales arcillosos, como muestra la Figura 9, demuestran que la MOS residual entrega el punto de partida de la retención (Figura 7) y las propiedades de las arcillas determinan la capacidad de retención de cada material (Figura 4). Así de esta misma forma, se puede indicar que el principal fenómeno de retención de la leucina fue la adsorción específica ya que las relaciones más importantes son presentadas por el pH en NaF (liberación de OH reactivos desde la superficie de las arcillas) y el Al extractable en acetato de amonio tanto del suelo como del material arcilloso versus las pendientes de retención.

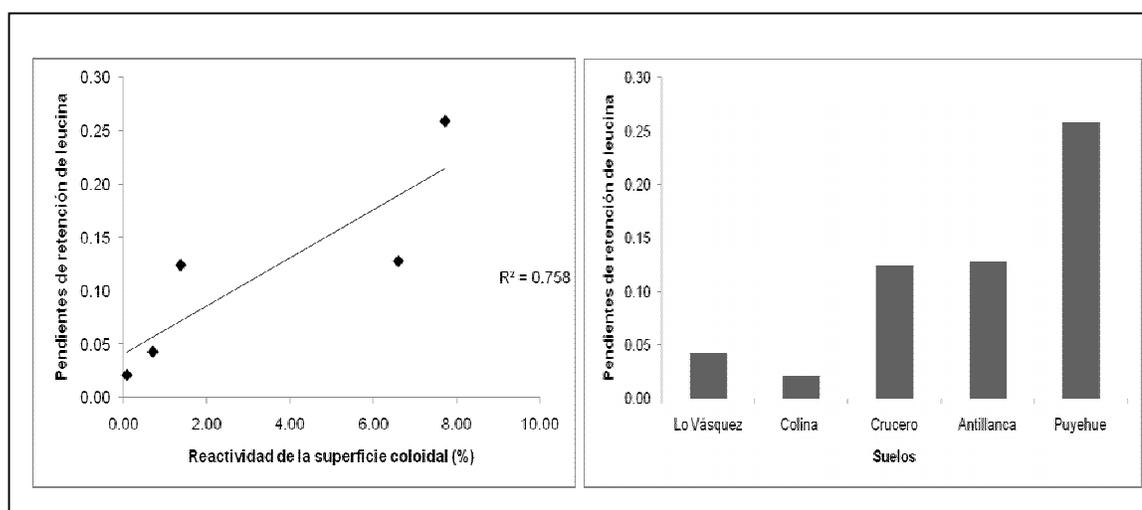


FIGURA 9 Relación lineal entre los parámetros que dictan la adsorción de los suelos y las pendientes de retención de leucina de los suelos.

Bajo esto, la mineralogía de las arcillas juega un rol importante en el movimiento de la MOS, ya que la retención de leucina medida en todos los materiales arcillosos y la determinación de la desaparición de N mineral a través del tiempo como indicador del incremento de la población microbial a través de la inmovilización de N (asumiendo degradación microbial), se relacionan demostrando que: de toda la cantidad de leucina que fue agregada al material arcilloso, todo lo que no fue reteniendo por el suelo fue inmovilizado por los microorganismos presentes; la retención de leucina fue exclusiva responsabilidad de los bordes OH de las arcillas, variando esta retención, según la composición mineralógica de cada arcilla dominante; además de esto, los distintos niveles de retención se dan por el contenido de MOS residual de cada material, es decir la MOS recalcitrante. De esta misma forma, KEMMITT *et al.* (2008) sugieren que la disponibilidad y movimiento de MOS está determinado por los procesos abióticos del suelo los cuales convierten la materia orgánica no disponible en materia orgánica disponible y no es efecto de la funcionalidad de la población microbial. Planteando que los microorganismos aumentan su población, a partir de lo presente en la materia orgánica no disponible y la materia orgánica disponible del suelo, pero que ellos no rigen el movimiento de la materia orgánica a través del suelo.

5 CONCLUSIONES

La reactividad de los grandes grupos de suelos las de Chile (Al extractado y el pH NaF) mostraron que los materiales de suelos presentan distintos grados de retención de iones: trumaos > rojo arcillosos > graníticos ≥ aluvial zona central.

Después de un período de reacción arcilla-leucina, todos los materiales arcillosos evaluados mostraron una retención de leucina, observada en el contenido de leucina residual y que se asume debido a una protección de la degradación microbial.

Se determinó una relación directa entre la capacidad de retener leucina y la reactividad de los material arcillosos y coloides orgánicos de los suelos. Mientras más reactividad del material arcilloso mayor es la adsorción del aminoácido leucina.

La capacidad de un material arcilloso de un suelo para retener un aminoácido es dependiente de su arcilla dominante, lo que permite hipotizar que los materiales coloidales del suelo son responsables de la retención de los compuestos orgánicos solubles en cantidades importantes, dando protección a la degradación de la materia orgánica del suelo.

6 BIBLIOGRAFIA

- ALADDINE, S., NYGREN, H. 1996. The adsorption of water and amino acids onto hydrophilic and hydrophobic quartz surfaces. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces (USA)* 6 (2): 71-79.
- AMTHOR, J.; BLAINE, F. y SMITH, J. 1999. Science needs and new technology for soil carbon sequestration. In: IZAURRALDE, R.; MALONE, E. y ROSENBERG, N. *Carbon sequestration in soil: science, monitoring, and beyond, U.S.A.* pp: 1-34.
- ANGERS, D.A., KAY, B.D. 1999. Soil Structure. In: SUMNER, M.E. *Handbook of soil science. U.S.A.* pp: A45–A65.
- ANSCHUTZ, A.; JOHNSON, R.; PENN, L.; SIMCIK, M. y SMOLEN, J. 2007. The Adsorption of Perfluorooctane Sulfonate onto Sand, Clay, and Iron Oxide Surface. *Journal of chemical and engineering data.* 52 (4): 1165-1170.
- ARRIETA, J. M.; HERDNDL, G.J.; SCHUSTER, S. 1998. Adsorption of dissolved free amino acids on colloidal DOM enhances colloidal DOM utilization but reduces amino acid uptake by orders of magnitude in marine bacterioplankton. *Marine Ecology Progress Series (Netherlands)* 166: 99-108.
- BALDOCK, J.A., NELSON, P.N. 1999. Soil organic matter. In: SUMNER, M.E. *Handbook of soil science. U.S.A.* pp: B25-B71.
- BESOAIN, E. 1985. *Mineralogía de arcillas de suelos.* Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. 1205 p.
- BOHN, H.; MC NEAL, B. y O`CONNOR, G. 1995. *Química de suelo.* México. 370p.
- CHEN, Q.; LÜ, C.; ZHAO, R.G. 2006. Scanning tunneling microscopy investigation of leucine and asparagines adsorbed on Cu (1 1 1). *Applied Surface Science (China)* 253 (5) : 2456-2459.

- CHENU, C.; CHEVALLIER, T.; MUCHAONYERWA, P. 2003. Microbial utilization of two proteins adsorbed to a vertisol clay fraction: toxin from *Bacillus thuringiensis* subsp. *Tenebrionis* and bovine serum albumin. *Soil Biology and Biochemistry*. Science Direct (France) 35: 1211-1218.
- COLE, M. A., STEVENSON F. J. 1999. Cycles of soil, carbon, nitrogen, phosphorus, sulfur, micronutrients. Second Edition. Department of Natural Resources and Environmental Sciences University of Illinois at Urban-Champaign. 427 p.
- FISCHER, H., PUSCH, M. 1999. Use of the [¹⁴C] Leucine Incorporation Technique To Measure Bacterial Production in River Sediments and the Epiphyton. *Applied and Environmental Microbiology* (Alemania) 65 (10): 4411-4418.
- FOOD and AGRICULTURE ORGANIZATION, 2002. Captura de carbono en los suelos para un mejor manejo de la tierra. Roma, Italia. Organización de las naciones unidas para la agricultura y la alimentación. 61 p.
- FORSHYTHE, W. 1974. Manual de laboratorio de física de suelos. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Turrialba, Costa Rica. 212 p.
- GAITAN, J. y LOPEZ, C. 2007. Análisis de gradiente edáfico en la región Andinopatagónica. *Ciencia del Suelo*. Rio negro, Argentina. 25 (1): 1850-2067.
- GILKES, R. y HUGHES, J. 1994. Sodium-fluoride pH of South-Western Australian soils as an indicator of P-sorption. *Australian Journal of Soil Research*. Australia. 32(4): 755-766.
- HARRISON, B. y STRAHM, R. 2008. Controls on the Sorption, Desorption and Mineralization of Low-Molecular-Weight Organic Acids in Variable-Charge-Soils. *Soil Science Society of American Journal*. U.S.A 72 (6): 1653-1664.
- KEMMITT, S.; ADDISCOTT, T.; BIRD, N.; BROOKES, P.; O`DONNELL, A.; LANYON, C. y WAITE, I. 2008. Mineralization of native soil organic matter is not regulated by size, activity or composition of the soil microbial biomass-a new perspective. *Soil Biology and Biochemistry*. UK. 40: 61-73.
- KUMAR, R.; PANDEY, A.; PANDEY, S. 2006. Plant roots and carbon sequestration. *Current Science*. U.S.A. 91 (7): 885-890.

- LANE, J., SCHNEIDER, S. 2006. An Overview of "Dangerous Climate Change". In: SCHELLNHUBER, H.J. Avoiding dangerous climate change. U.S.A pp: 7-23.
- MAYER, H., *et al.*, 2002. Influence of vibration amplitude on the ultrasonic dispersion of soils. International agrophysics (Austria) 16: 53-60.
- MCBRIDE, M.B. 1999. Chemisorption and Precipitation Reactions. In: SUMNER, M.E. Handbook of soil science. U.S.A. pp: B265-B299.
- MOCKOVCIÁKOVÁ, A., *et al.*, 2007. Characterization of changes of low and high defect kaolinite after bioleaching. Science Direct. Slovakia 39: 202-207.
- OBURGER, E.; KIRK, G.; JONES, D.; PUSCHENREITER, M. y WENZEL, W. 2009. Interactive effects of organic acid in the rhizosphere. Soil Biology and Biochemistry. Vienna, Austria. 41: 449-457.
- RODRIGUEZ, J. 1993. La fertilidad de los cultivos, un método racional. Colección en Agricultura, Pontificia Universidad Católica de Chile. Santiago, Chile. 291p.
- ROTHAMSTED. 2005. Rothamsted Research. (Online). <http://rothamsted.bbsrc.ac.uk/aen/smbweb1/methods.php?id=1140> (30 OCT. 2008).
- SADZAWKA, A.R. 1990. Métodos de análisis de suelo. Santiago, Chile. Estación experimental la platina. 130p.
- SPARKS, D. L., *et al.*, 1996. Methods of soil analysis part 3-chemical methods. Wisconsin, U.S.A. Soil Science Society of America book series :5. 1390p.
- SPOSITO, G. 1999. Ion Exchange Phenomena. In: SUMNER, M.E. Handbook of soil science. U.S.A. pp: B241-B261.
- TAN, K. 1998. Principles of soil chemistry. 3ªed. Georgia, Athens. Department of crop and soil sciences, the University of Georgia. 521p.
- TIETJEN, T., WETZEL, R.G. 2003. Extracellular enzyme-clay mineral complexes: Enzyme adsorption, alteration of enzyme activity, and protection from photo degradation. Aquatic Ecology (U.S.A) 37: 331-339.

7 ANEXOS**Anexo 1. Concentración de leucina recuperada, medida en la arena de cuarzo.**

Dosis de leucina (mg leucina/kg de suelo)	arena de cuarzo		
	concentración (mg/kg)		
0	22.11	23.35	22.73
186	22.73	23.35	22.73
360	22.73	23.35	23.35
740	23.98	23.98	23.98
1120	23.98	24.61	23.98
1480	24.61	24.61	24.61

Anexo 2. Concentración de leucina recuperada, medida en los materiales arcillosos.

Dosis de leucina (mg de leucina / kg de suelo)	Suelos				
	Lo Vásquez	Colina	Crucero	Antillanca	Puyehue
	Concentración (mg/kg)				
0	11.12	11.72	18.39	41.42	82.39
	19.01	11.12	11.12	28.4	114.16
	11.72	13.52	17.17	53.61	54.18
186	13.77	17.78	41.42	60.58	147.95
	20.24	14.73	47.46	74.2	125.09
	11.12	15.34	53.61	80.83	114.16
360	15.4	22.73	92.13	95.19	185.3
	23.98	20.86	93.66	101.39	173.3
	23.35	23.35	66.25	104.52	118.8
740	19.3	30.96	107.68	115.66	195.11
	59.17	26.5	116.47	110.85	254.55
	25.24	31.61	106.1	118.08	164.49
1120	24.37	32.9	156.8	162.06	305.95
	73.47	34.84	193.78	124.6	269.85
	87.57	36.8	150.71	200.33	294.19
1480	104.52	42.09	213.63	281.07	551.05
	90.6	44.76	206.95	258.24	551.05
	99.06	46.11	193.78	220.39	441.74