

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES



**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOSÓLIDOS SOBRE LOS
PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRÍDICOS Y LA
DISPONIBILIDAD DE Cu Y Zn EN UN ANDISOL**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera. Como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

LUIS EMILIO NAVARRETE COFRÉ

TEMUCO – CHILE
2010

**UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES**



**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOSÓLIDOS SOBRE LOS
PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRÍCICOS Y LA
DISPONIBILIDAD DE Cu Y Zn EN UN ANDISOL**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Forestales de la Universidad de La Frontera. Como parte de los requisitos para optar al título de Ingeniero Agrónomo.

LUIS EMILIO NAVARRETE COFRÉ

PROFESOR GUIA: DR. PABLO CORNEJO RIVAS

TEMUCO – CHILE
2010

**EFFECTO DE LA APLICACIÓN DE BIOSÓLIDOS SOBRE LOS
PROPÁGULOS DE HONGOS MICORRÍDICOS Y LA DISPONIBILIDAD
DE Cu Y Zn EN UN ANDISOL**

PROFESOR GUIA

:

Nota:

DR. PABLO CORNEJO RIVAS
Ingeniero Agrónomo
Doctor en Biología Agraria y Acuicultura
Departamento de Ciencias Químicas y
Recursos Naturales.
Facultad de Ingeniería, Ciencias y
Administración
Universidad de La Frontera

PROFESORES CONSEJEROS

ACADEMICO

:

Nota:

MSC. ITILIER SALAZAR QUINTANA
Profesor de Estado en Química
Magíster en Ciencias Químicas
Departamento de Ciencias Químicas y
Recursos Naturales.
Facultad de Ingeniería, Ciencias y
Administración
Universidad de La Frontera

CALIFICACION PROMEDIO TESIS

:

Todo verdor

*Todo verdor perecerá
dijo la voz de la escritura
como siempre implacable*

*Pero también es cierto
que cualquier verdor nuevo
no podría existir
si no hubiera cumplido su ciclo
el verdor perecido*

*De ahí que nuestro verdor
esa conjunción un poco extraña
de tu primavera... y de mi otoño
seguramente repercute en otros
enseña a otros
ayuda a que otros
rescaten su verdor*

*Por eso
aunque las escrituras
no lo digan
todo verdor...renacerá.*

Mario Benedetti

*A Erik von Jentschky Vergara, quien en sus pasos enseñó ese verdor, dejando un sendero de amor a la naturaleza,
al trabajo y a los pueblos...sendero que la memoria hace renacer y que hoy seguimos.*

AGRADECIMIENTOS

En la etapa final de un ciclo, donde uno cierra ciertos procesos y se prepara para los siguientes, donde comienza la verdadera búsqueda del sendero que permita desarrollar de forma responsable y más justa posible la profesión que uno decidió y que uno quiere, me permito agradecer de forma muy sincera y especial a todos quienes han sido parte de este hermoso recorrido, de esta forma, que importante es comenzar una nueva etapa, un nuevo amanecer, reconociendo y valorando el apoyo y la motivación recibida para llegar a estas instancias.

A mi familia: Miguel Ángel, mi padre, por enseñar a desarrollarme como persona mediante el trabajo, la responsabilidad y principalmente por presentarme el campo, ese campo que me hizo sentir apego por la tierra y por la naturaleza, pues tu permitiste que corriera cuando niño por las praderas sintiéndome “un campesino más”; Elena, madre y amiga, la incondicional, quien siempre ha sido mi apoyo, mi contención, mi motivación y mi orgullo, que permites que me desarrolle y me ayudas a concretar tantos logros que agradecerte en estas palabras es poco. Arlette, hermana y gran amiga, mi compañera y mi referente, porque tu corazón noble y tu riqueza de persona inundaron mi ser, ayudándome en las distintas etapas de formación, tanto académicas como de la vida. José Cofre, el tata, el abuelo, el líder, el ejemplo, Don José, tu partida temprana marcó sin duda la vida de tu nieto y de tu familia, pero hoy siempre presente, nos dejaste la herencia mas bella e importante, el valor de la familia, de la unión y de la memoria, hombre de esfuerzo y muy trabajador, viejo sabio que nos tenias a todos; adultos, jóvenes y niños reunidos en el abrazar de tus palabras. Miguel del Transito, “El Che”, mi abuelo, mi amigo de sobremesa, que en cada mate conversamos de la gente, la tierra y la agricultura, de los tiempos pasados y de los presentes, de las lecciones y de los errores, del concepto de comunidad y solidaridad, tremendo dirigente, gran patriarca, hermosa persona, que su simpatía y ternura conquista cada corazón que tiene el gusto de conocerte. Elena Araya, “La Gueñy” la abuela que con sus manos siempre hace el tejido perfecto, de lana por supuesto, quien regalonea siempre con ese “engañoito pal camino” a sus nietos y que en su conversación aprendemos y valoramos esas lindas jergas campesinas que tantos nos hacen reír.

Al Dr. Pablo Cornejo Rivas, por su amistad, apoyo y confianza, por ser un excelente persona y muy buen docente, siempre solidario y dispuesto a enseñar, gracias amigo por todo.

Al Mg. Itilier Salazar Quintana, por su confianza y su valioso aporte en esta investigación a través de los bioensayos.

Al Dr. César Arriagada Escamilla, por su preocupación, buena disposición y su valiosa ayuda en esta investigación.

A la Ingeniero Agrónomo Cecilia García, por su apoyo, cooperación y buena disposición en el trabajo desarrollado en laboratorio.

A los Proyectos Fondecyt 11080131 (Conicyt, P. Cornejo) y DIUFRO N° 120620 (UFRO, I. Salazar) por financiar esta investigación.

A Daniela Barra, *La Daniiii*, la mujer que me inspira día a día, que me hace preguntarme ¿Cómo fue? y que sin duda, las respuestas son tantas que no se por cual empezar. A la amiga, la compañera, quien es regalona de todo mi ser y socia en este hermoso proyecto, bella azucena, que con su simpleza lo es todo, mis reconocimientos y adoraciones a la mujer, a la flor quien camina, buscando junto a mí, bellos y nuevos senderos.

A mis grandes amigos que la vida nos reunió y donde queda aún toda una vida con ellos, a Neison, Javier y Mauro por ser mi familia en estos años y ser parte del crecimiento social construido desde el espíritu del voluntariado. A Patricio y Makarena, mis grandes amigos, mis dobles, mis espejos, que me han enseñado el valor de la amistad y sobre todo a ser fuerte.

A mis colegas de la carrera de Ingeniería Ejecución Agrícola, a todos esos amigos que estuvieron presente en estos años, en este aprendizaje de tantas cosas, gracias a ellos en especial a Yocelyn Siles, por ser una tremenda compañera y amiga, un tremendo valor y de una voluntad única.

A Glenda Rubilar, una hermana, una amiga, una gran compañera de trabajo y de ideales, por todos los momentos, los procesos que vivimos en búsqueda de una agricultura socialmente más justa, ambientalmente mas sana y económicamente mas viable, por ser como eres, por estar al lado siempre y estar siempre activa e inquieta, por hacer cada día más por este mundo y a Katerina Varas Belemmi por su compañerismo, sus consejos, su mirada de la vida y su gran amistad, siempre una activación en momentos bajos, siempre la pausa en la carrera, siempre la conversa justa.

Macarena Curifuta, gran amiga, un tremendo apoyo en estos años de agronomía, gracias por todo. Lorena Bascuñan, por tu apoyo en este último año, fue un año muy difícil para muchos, nos entregamos ese apoyo teniendo siempre la convicción que mañana saldrá el sol, a “los tíos” Gisela y Hans, dos amigos dos familiares, dos compañeros, que la preocupación constante y el cariño indefinido estuvo presente en cada letra de este trabajo.

A las organizaciones, donde uno genera distintas competencias y logra el desarrollo de principios e ideales, gracias a Agroecología-Ufro, Centro de Alumnos de Ingeniería Ejecución Agrícola, Red de Acción por los Derechos Ambientales (Rada), Red de Socioeconomía Solidaria del Sur (REDESSOLES), a Economía Solidaria del Sur (ECOS-SUR), *JOAJU* (lazos) Red Social de voluntariado internacional, a la agrupación de Nutricionistas Pro-Desarrollo y a la Coordinadora de Estudiantes y Profesionales por la Agroecología (CEPA).

INDICE

Capítulo	Página
1 INTRODUCCION Y OBJETIVO	2
2 REVISION BIBLIOGRAFICA	5
2.1 Lodos	5
2.1.1 Aguas residuales urbanas	5
Definición y origen	5
Composición de las aguas servidas	6
Sistema de conducción a plantas depuradoras	6
La experiencia en el país y la región	7
2.1.2 Definición y tipos de lodos residuales	8
2.1.3 Operaciones unitarias en el tratamiento de las aguas residuales	8
Pre-tratamiento	10
Tratamiento primario	10
Tratamiento secundario	12
Tratamiento terciario	13
2.1.4 Disposición final de lodos residuales	13
Lodos y su disposición actual	15
Uso benéfico de la aplicación de lodos	16
Normativa y aspectos limitantes para su aplicación	17
2.2 Micorrizas	19
2.2.1 Tipos de micorrizas	20
2.2.2 Hongos Formadores de Micorrizas Arbusculares	22
Generalidades	22
Características morfológicas, ciclo vital y funcionamiento	22
2.2.3 Ecología de la simbiosis	25
Distribución ecológica y aspectos taxonómicos	25

	Rol ecosistémico de los HMA	25
	Glomalina	26
2.3	Perspectiva de la aplicación de los estudios realizados	27
3	MATERIALES Y METODOS	28
3.1	Materiales	28
3.1.1	Suelo	28
3.1.2	Lodo	29
3.1.3	Material Vegetal	30
3.2	Métodos	31
3.2.1	Diseño experimental	31
3.2.2	Determinaciones	31
	pH	31
	Cu y Zn extraíble	31
	Colonización	31
	Micelio Total	32
	Esporas	32
	Glomalina relacionada a la Proteína de suelo (GRSP)	32
	Cu y Zn secuestrada en GRSP	33
3.2.3	Análisis estadístico	33
4	PRESENTACIÓN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	35
4.1	Variación del pH en el suelo	35
4.2	Variación de los contenidos de Cu y Zn extraíbles	36
4.3	Variación de los parámetros micorrícicos	38
4.3.1	Colonización	38
4.3.2	Micelio	39
4.3.3	Esporas	40
4.4	GRSP en suelos con distintas dosis de Lodos	41
4.5	Rol de GRSP en la inmovilización de Cu y Zn en suelos con distintas dosis de lodos	43
4.6	Análisis de las relaciones establecidas entre los parámetros estudiados	44

5	CONCLUSIONES	47
6	RESUMEN	48
7	SUMMARY	49
8	LITERATURA CITADA	50

INDICE DE CUADROS

Número		Página
1	Concentración máxima de metales en suelos receptores de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas servidas.	18
2	Análisis químico del biosólido utilizado, planta de tratamiento de aguas servidas de Vilcún.	29
3	Matriz de correlaciones (r de Pearson) de las principales variables estudiadas y las componentes principales obtenidas.	45

INDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1	Diferentes etapas u operaciones unitarias del tratamiento de las aguas residenciales.	9
2	Distintos tipos de micorrizas, de acuerdo al tipo de especie vegetal y hongo que establece la asociación simbiótica.	21
3	Ciclo vital de los HMA y estructuras características de sus fases intra y extraradicales (tomado de Cornejo, 2006).	23
4	Material vegetal representativo del estudio. A) Plantas de trigo obtenido de suelos del estudio; B) <i>Hypochaeris radicata</i> L. (Asteraceae); C) <i>Agrostis capillaris</i> L. (Poaceae); D) <i>Trifolium repens</i> L. (Leguminosae).	30
5	Valores de pH _w de suelos cultivados con <i>Triticum aestivum</i> , y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile.	35
6	Niveles de Cu y Zn extraíble con DTPA de suelos cultivados con <i>Triticum aestivum</i> , y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile.	37
7	Colonización micorrícico arbuscular de raíces obtenidas de suelos cultivados con <i>Triticum aestivum</i> , y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile.	38
8	Densidad de micelio de HMA de suelos cultivados con <i>Triticum aestivum</i> , y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile.	40
9	Densidad de esporas de HMA en suelos cultivados con <i>Triticum aestivum</i> , y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile.	41

10	de Glomalina Relacionada a la Proteína del Suelo (GRSP) de suelos cultivados con <i>Triticum aestivum</i> , y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile.	42
11	Cu asociado a GRSP en suelos cultivados con <i>Triticum aestivum</i> , y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile	43
12	Zn asociado a GRSP en suelos cultivados con <i>Triticum aestivum</i> , y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile.	44
13	Diagrama de dispersión de las unidades experimentales según los componentes principales obtenidos por análisis factorial para las variables estudiadas.	46

1. INTRODUCCIÓN Y OBJETIVO

Chile ha experimentado un proceso de urbanización progresiva, aumentando el porcentaje de su población urbana desde un 68,2% en el año 1960, a un 86,6% en el año 2002. Lo anterior se vincula a la Tasa de Crecimiento Anual Intercensal de la población a nivel nacional de un 1.24 %. Es así como a través de los años, algunas regiones en particular han evolucionado desde una población predominantemente rural, como es el caso de las regiones VI de O'Higgins (54,5%), VII Del Maule (59,6%), IX de La Araucanía (59,4%) y X de Los Lagos (59, 3%), a una población mayoritariamente urbana.

Este aumento de población urbana genera numerosos impactos y efectos negativos en el ambiente por causa de la acumulación de materiales contaminantes en las zonas donde se forman los grandes asentamientos urbanos, trayendo consigo un aumento proporcional en la demanda de utilización de recursos, en especial uno de los recursos más valiosos de la naturaleza, como es el agua. Este recurso, una vez utilizado en las ciudades es conducido a través de los sistemas de alcantarillados, donde las aguas residuales o aguas negras son generalmente vertidas sobre ríos, lagos y mares, transfiriendo su contenido potencialmente contaminante a los ecosistemas acuáticos, provocando así un deterioro sobre a la biota presente en estos ambientes o incluso de las poblaciones humanas que viven de ellas.

Basados en esta problemática, las instituciones y organismos competentes, tanto públicos como privados, intentan generar acciones mediante el tratamiento de las aguas servidas o residuales procedentes de zonas urbanas, cuyo propósito se centra en remediar y/o minimizar la problemática ambiental provocada sobre los cuerpos naturales de aguas superficiales. El tratamiento de las aguas servidas se ha visto incrementado en el país sustancialmente en los últimos años, alcanzando un nivel de cobertura cercano al 83% respecto a la población urbana nacional y 90% a nivel regional, lo cual ha posibilitado paulatinamente la descontaminación de los cursos de aguas superficiales y marítimas (SISS, 2009). Sin embargo, producto de la operación de plantas de tratamiento de agua potable, aguas servidas y residuos industriales líquidos,

se genera una alta cantidad de lodos, los que han experimentado un progresivo aumento en los últimos años, dificultando su disposición final.

Los lodos residuales y/o biosólidos, son acumulaciones de sólidos orgánicos sedimentables, separados en los distintos procesos de tratamiento de aguas (SISS, 2009). Estos pueden ser utilizados con fines agronómicos, siempre que se tomen los resguardos sanitarios y ambientales necesarios en su manejo. El uso agrícola de los lodos está respaldado por más de diez años de experiencia en el mundo, y por estudios e investigaciones de los aspectos ambientales, como son el contenido de metales pesados, microorganismos patógenos y nutrientes presentes en los mismos, representando de esta manera una alternativa medioambiental muy interesante que ayudaría a resolver los riesgos eco-ambientales de una inadecuada manipulación o disposición. Sin embargo, en nuestro país el estudio de esta temática es escaso, así como también lo es la existencia de normativas que regulen su uso y los entes competentes en la fiscalización de los procesos de aplicación al suelo como enmienda agrícola.

Para los efectos de la presente investigación para tesis de grado, se estudió la aplicación de biosólidos provenientes de la planta de tratamiento de aguas servidas (PTAS) ubicada en la Comuna de Vilcún, en la Región de La Araucanía, con la finalidad de establecer el efecto que su aplicación agronómica pudiera tener sobre la densidad de las poblaciones indígenas de hongos micorrícicos arbusculares (HMA) en un cultivo de *Triticum aestivum*, para lo cual se aplicó de dos formas en distintas dosis, como se dará cuenta de ello en el desarrollo de este documento.

La hipótesis que se planteó para el presente estudio fue que *“la aplicación de cantidades crecientes de biosólidos afectará la densidad de propágulos de HMA en el suelo, debido a los fuertes cambios en sus características químicas, así como al alto nivel de nutrientes incorporados por medio de los lodos residuales provenientes de una planta de tratamiento de aguas servidas ubicada en la comuna de Vilcún, modificando de esta forma la actividad futura que estos organismos pudieran tener en una sucesión de cultivos anuales”*.

Los objetivos que se propusieron para el presente estudio fueron:

- Objetivo General.

Analizar el efecto de la aplicación de Biosólidos de forma acumulativa y residual, sobre el aumento de las fracciones disponibles de Cu y Zn, y las variaciones en la densidad de propágulos de hongos micorrícicos arbusculares presentes de un Andisol (Serie Cunco, Región de La Araucanía), para utilizarlos como parámetro de discriminación de las dosis y condiciones de aplicación de estos materiales al suelo.

- Objetivos específicos.

Establecer el efecto de las distintas dosis de biosólidos de forma acumulativa y residual sobre las variaciones del pH de suelo y las fracciones extraíbles de Cu y Zn.

Evaluar el efecto de la aplicación de distintas dosis de biosólidos de forma acumulativa y residual sobre la densidad de esporas de HMA, la colonización micorrícica y la longitud del micelio fúngico en la rizosfera de plantas de Trigo.

Cuantificar la acumulación de glomalina total relacionada a la proteína del suelo por efecto de la aplicación de dosis crecientes de biosólidos de forma acumulativa y residual, y determinar su rol en la inmovilización de Cu y Zn.

Sugerir, bajo las condiciones analizadas, las dosis de biosólido y frecuencias de tiempo óptimas para minimizar el efecto negativo sobre las poblaciones naturales de HMA del suelo agrícola enmendado.

2. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

2.1.- Lodos

El agua es el más importante de los recursos naturales de la Biosfera, sin el cual la vida sería imposible. Los recursos hídricos están permanentemente sometidos a una constante presión debido a diversas actividades antropogénicas. Aunque este fenómeno se presenta tanto por causas humanas como por causas naturales, entre la humanas se consideran la contaminación causada por las actividades industriales y la generación de efluentes urbanos (Sánchez-Moneredo *et al.*, 2004). Para remediar este último aspecto existen alternativas de tratamiento, las que a su vez generan grandes cantidades de residuos en el proceso de tratamiento de aguas servidas, produciéndose además del agua depurada, una serie de productos denominados genéricamente “lodos”, “lodos biológicos” o “biosólidos”. Estos se constituyen principalmente por los elementos que componen el efluente, los aditivos químicos usados en el proceso y la biomasa microbiana de los microorganismos que participan, según el tratamiento de depuración de aguas a la que fue sometida (Marambio y Ortega, 2003).

2.1.1.- Aguas residuales urbanas

a) Definición y origen.

Se denominan aguas residuales a los líquidos procedentes de la actividad humana, que llevan en su composición gran parte de agua, y que generalmente son vertidos a cursos o a masas de aguas continentales o marinas. Las aguas residuales incluyen materiales derivados de residuos domésticos o de procesos industriales, los cuales por razones de salud pública y por consideraciones de tipo económica y estética no pueden (o al menos no debieran) desecharse vertiéndolas sin tratamiento en lagos o corrientes convencionales (Barón, 2005). Desde el punto

de vista de las fuentes de generación, se considera agua residual a la combinación de los residuos líquidos, o aguas portadoras de residuos, procedentes tanto de residencias como de instituciones públicas y establecimientos industriales y comerciales, a los que pueden agregarse, eventualmente, aguas subterráneas, superficiales y pluviales (Rivas, 2005).

b) Composición de las aguas residuales.

Las aguas residuales domésticas constituyen una fuente de contaminación de las aguas naturales debido a su elevado contenido de sólidos en suspensión, materia orgánica, microorganismos patógenos (virus, bacterias, helmintos, entre otros) y nutrientes, siendo éstos últimos compuestos ricos en nitrógeno y fósforo (Orrego, 2002), y que por tanto pueden promover la eutrofización de los cursos de agua superficiales.

c) Sistema de conducción a plantas depuradoras.

En Chile, la concesión de servicios públicos sanitarios autoriza al concesionario para el establecimiento, construcción y explotación de los servicios de producción y de distribución de agua potable, así como de la recolección y disposición de aguas servidas, todo de acuerdo a las disposiciones legales y reglamentarias que regulan estas actividades (SISS, 2005).

En base a lo anterior, las empresas concesionarias son las responsables de prestar el servicio para la recolección y conducción de las aguas servidas (o aguas negras) a través del sistema de alcantarillado subterráneo, desde las distintas fuentes de aguas servidas, a las plantas de disposición para el tratamiento de éstas, donde posteriormente son re-conducidas y vertidas a aguas continentales una vez tratadas.

d) La experiencia en el país y la región.

En nuestro país existen algunas cuencas como Elqui, Aconcagua, Maipo–Mapocho, Rapel y Bio-Bio, en donde se concentra la gran mayoría de la población nacional, motivo por el cual se origina una fuerte contaminación debido a la alta descarga de aguas servidas de origen doméstico, industrial, minero y agrícola, lo cual ha contribuido al deterioro de la calidad del medio acuático (Cabrera, 1994).

Debido a lo anterior, se deben adoptar planes de saneamiento de las cuencas, con el propósito de desarrollar programas que consideren el saneamiento integral de sus aguas, contemplando la carga bacterial y la materia orgánica en ellas contenidas, llevado a cabo a través de la operación de plantas de tratamiento de las aguas servidas (PTAS) (Sanhueza, 2003). El panorama actual en Chile se caracteriza por la generación de lodos, en su mayor parte a través del tratamiento secundario de las aguas residuales, donde en la zona norte del país es común encontrar plantas que utilizan lagunas aireadas como tratamiento secundario, mientras que en la zona sur la mayor parte de las plantas utilizan el sistema de lodos activados, siendo esta tecnología la más común en el país y utilizada hasta el año 2004 en el 61% de las PTAS (Lepe y Coronado, 2003; Callejas, 2005).

Del total de las comunas de la Región de la Araucanía, el 95% cuenta con un sistema de tratamientos de aguas servidas, presentando el 33% un tratamiento primario más desinfección; 39% cuenta con tratamientos secundarios o biológicos, con sistemas de lodos activados o laguna aireada, y el 28% restante cuenta con el tratamiento de laguna de estabilización (SISS, 2009)

La cantidad de lodos generados depende de diversos factores, tales como: volumen y calidad del agua tratada, el diseño de la planta de tratamiento y el acondicionamiento final de los lodos. Una buena aproximación para nuestro país es una tasa media de producción de lodos de 25 g/hab por día, expresada en base a la materia seca (Poirrier y Chamý, 1996; Callejas, 2005).

2.1.2.- Definición y tipos de lodos residuales

Los lodos son compuestos orgánicos sólidos, semisólidos o líquidos producidos durante el proceso de tratamiento mecánico, biológico y/o químico de purificación de las aguas servidas (Marambio y Ortega, 2003). Las PTAS producen biosólidos, que corresponden a lodos que contienen gran cantidad de materia orgánica, microorganismos, macro y micro nutrientes, metales pesados y agua. Según la Comisión Nacional del Medio Ambiente, los lodos residuales se definen como acumulaciones de sólidos orgánicos sedimentables, separados en los distintos procesos de tratamiento de aguas (CONAMA, 2001).

El lodo se produce mayoritariamente en los procesos de tratamientos primarios, así como secundarios. Los lodos que resultan únicamente de los procesos de separación sólido- líquido (decantación, flotación) se conocen como lodos primarios y consisten principalmente en arenas y partículas sólidas de naturaleza orgánica e inorgánica. En cambio, los lodos provenientes de procesos secundarios o biológicos se denominan lodos secundarios o lodos biológicos, y son fundamentalmente biomasa en exceso producida en los procesos biológicos (Callejas, 2005). Un mayor detalle de estas definiciones y las especificaciones en cada caso se presentan a continuación, junto al detalle de las operaciones unitarias del tratamiento de aguas residuales.

2.1.3.- Operaciones unitarias en el tratamiento de las aguas residuales

Los tratamientos de las aguas servidas (Figura 1), se constituyen por medio de procesos primarios, secundarios o terciarios, antes de que los efluentes líquidos sean descargados a los ríos o lagos (Concha, 1996). La elección del tratamiento de aguas residuales a utilizar depende de varios factores, entre los cuales se pueden mencionar: factibilidad técnico económica, grado de depuración exigido por la descarga, según la norma correspondiente al tipo de cuerpo receptor

(alcantarillado público, curso o masa de agua superficial, sistema de infiltración en terreno), características del caudal y de carga contaminante del agua a tratar (Toro, 2005).

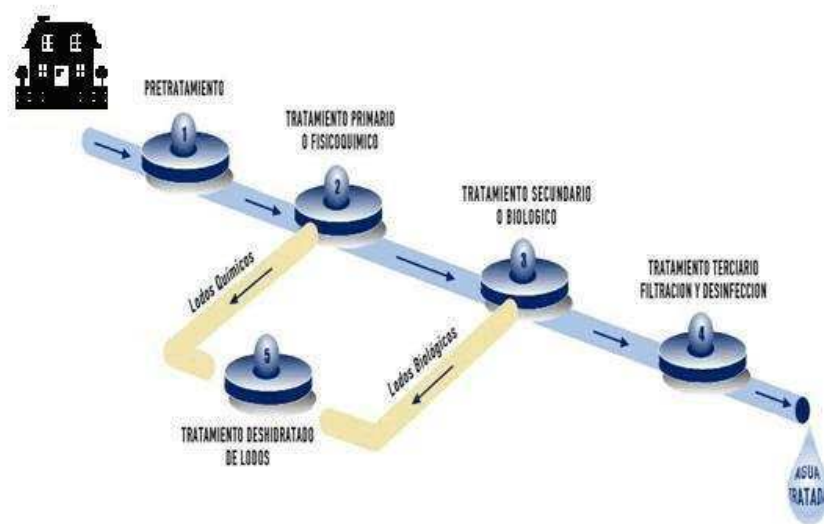


Figura 1. Diferentes etapas u operaciones unitarias del tratamiento de las aguas residuales.

Es así como las PTAS a través de las operaciones unitarias tienen como función la eliminación de aquellos componentes de las aguas residuales como son: sólidos suspendidos, sólidos orgánicos disueltos, materia orgánica biodegradable, compuestos orgánicos volátiles, metales pesados, nutrientes esenciales como el N y P, microorganismos patógenos, etc., con el propósito de proteger la salud humana, junto con las características físico, químicas y biológicas de los cuerpos receptores para el resguardo del medio ambiente (Rodríguez, 2007).

El proceso de tratamiento de aguas residuales se puede subdividir en:

- Tratamiento Preliminar o Pretratamiento.
- Tratamiento Primario.

- Tratamiento Secundario o Biológico.
- Tratamiento Terciario.

A continuación se describen las distintas etapas en el tratamiento de aguas residuales:

a) Pretratamiento.

La primera operación consiste en un proceso mecánico, donde se produce la eliminación de los sólidos gruesos de gran tamaño presentes en las aguas residuales, y cuya presencia pueda provocar problemas de mantenimiento y funcionamiento de los diferentes procesos posteriores, operaciones y sistemas auxiliares (Alcota, 2002). Dentro de los principales elementos que se separan en esta etapa se encuentran arenas, aceites y grasas. (Villanueva, 2007). En Chile, el 64% de las PTAS tienen algún tipo de tratamiento preliminar mecánico, siendo el de las rejillas el más común.

b) Tratamiento primario.

El tratamiento primario de las aguas residuales es un proceso mecánico que utiliza filtros para separar los sólidos de mayor tamaño como palos, piedras y trapos. Las aguas provenientes del sistema de alcantarillado llegan a la cámara de dispersión en donde se encuentran los filtros, de donde pasan las aguas posteriormente al tanque de sedimentación. Desde aquí, los sedimentos circulan hacia un tanque digestor, y finalmente a un lecho secador (Rivas, 2005), para posteriormente ser dispuesto en un monorelleno sanitario o destinado a otro uso, como fertilizante o enmienda agrícola. Desde el tanque de sedimentación, el agua es conducida por tuberías hacia un sistema de desinfección UV o a desinfección con cloro (para eliminar las bacterias), y una vez que cumple con los límites de depuración, es finalmente arrojada a un lago, un río o al mar. (Rivas, 2005). Esta operación, tiene por objetivo reducir la concentración de

sólidos en suspensión presentes en el agua, eliminando de esta manera entre un 50 y 65% de sólidos en suspensión y parte de la materia orgánica contenida en el agua residual (Toro, 2005). En el tratamiento primario se utilizan métodos físicos que eliminan los sólidos (materia en suspensión) y reducen la demanda bioquímica de oxígeno (DBO) (Castillo, 2005).

En función del proceso de tratamiento primario, existen diversas técnicas disponibles, entre las que se cuenta (Toro, 2005):

- Centrifugación: separa líquidos de diferentes densidades y espesa lodos. El espesado por centrifugación supone la sedimentación de las partículas bajo la influencia de las fuerzas centrífugas. El proceso es aplicable a la deshidratación de lodos.
- Sedimentación: separación de las partículas suspendidas más pesadas que el agua, mediante la acción de gravedad.
- Flotación: la separación se consigue introduciendo burbujas finas de gas en la fase líquida. Se usa principalmente en el tratamiento de aguas residuales que contienen grandes cantidades de residuos con cargas de grasa y sólidos suspendidos. También espesa los lodos biológicos.

Entre las operaciones que se utilizan en los tratamientos primarios de aguas servidas en la planta de Vilcún están: la filtración, la sedimentación, la flotación, la separación de aceites y la neutralización (Rivas, 2005). La neutralización se realiza a través de un tratamiento alcalino mediante acondicionamiento con cal, donde el pH del lodo es elevado a niveles por sobre 12, durante un período no inferior a 72 horas (CONAMA, 2001).

c) Tratamiento secundario.

El tratamiento secundario es un proceso en el cual, debido a la acción de microorganismos como bacterias aeróbicas, la materia orgánica es convertida en tejidos celulares y variedades de gases, los cuales requieren de la presencia de oxígeno (Rivas, 2005). En algunos casos se trata de eliminar nutrientes como el nitrógeno y fósforo que pueden causar eutrofización en los cursos de aguas naturales receptores (Cortés, 2003).

Este proceso biológico tiene por objetivo la coagulación y la eliminación de los sólidos coloidales no sedimentables y la estabilización de la materia orgánica; es decir, la eliminación de sustancias orgánicas disueltas o de aquellos sólidos que no han sido separados en la etapa de tratamiento primario (Rivas, 2005).

El tratamiento secundario mayoritariamente utilizado en Chile es el sistema de lodos activados, proceso en el cual se generan desechos sólidos que requieren ser tratados para su posterior eliminación (Lepe y Coronado, 2003; Rivas, 2005). El sistema de lodos activados es utilizada en el 61% de las PTAS de Chile (Baraño y Tapia, 2004). Este proceso es realizado en un reactor aireado, en donde las aguas servidas y los microorganismos permanecen en contacto por varias horas. La mezcla luego fluye a un estanque de sedimentación, donde los flóculos son eliminados en forma de biosólidos. Una parte se recicla al tanque de aireación para mantener el proceso, es decir una recirculación de lodos, mientras que el exceso de biosólidos producido por el crecimiento microbiano es depuesto del sistema (Toro, 2005). Cabe señalar que el proceso de lodos activados es el más utilizado método de tratamiento de aguas residuales, pero tiene un grave inconveniente de gran exceso de lodo. El tratamiento y la eliminación del exceso de lodos involucra alrededor del 25-60% del costo total del funcionamiento las PTAS (Zhang et al., 2009)

d) Tratamiento terciario.

En general, son procesos físico-químicos que tienen como finalidad la eliminación de contaminantes que no han sido desechados en los tratamientos primarios y secundarios de los procesos convencionales (Bustamante, 1999). Esta etapa consiste en la eliminación selectiva de microorganismos, mediante diferentes formas de desinfección como: cloro, dióxido de cloro, ozono, luz ultravioleta, entre otras (Rodríguez, 2007).

La desinfección con cloro es la técnica más usada; sin embargo, el cloro residual puede generar problemas a la vida acuática presente en las aguas receptoras (Bustamante, 1999). Por otra parte, el ozono es un desinfectante de amplia acción que no genera gases tóxicos, y que requiere de un tiempo relativamente corto de contacto para eliminar los patógenos, lo que la convierte en una buena alternativa de tratamiento. En tanto la desinfección por Radiación Ultravioleta (UV) no requiere de almacenaje ni de manejo de residuos tóxicos, y no genera compuestos que sean dañinos al medio ambiente, y su efectividad se encuentra en función de la transparencia del agua (que afecta la transmitancia de los rayos U.V.), de la concentración de los sólidos suspendidos (que bloquean el paso de dichos rayos) y de la concentración y tipo de patógeno que se quiera eliminar (Nannig, 2001).

2.1.4.- Disposición final de lodos residuales.

A comienzos de la década de los 90, comenzó en Chile de forma incipiente la construcción de PTAS. Desde el año 2000, con la publicación de la Norma de Emisión de Residuos Líquidos a Aguas Marinas y Continentales Superficiales, el proceso se aceleró significativamente. Sin embargo, tras esta solución al problema de las aguas servidas, se generó un nuevo problema ambiental, que es en este caso la generación de lodos (Villanueva, 2007). Las metas de cobertura de tratamiento en las aguas recolectadas son de 97,3 % para el año 2010, con lo que se espera que

la cantidad de lodos producidos aumente progresivamente a medida que se incremente el porcentaje de aguas tratadas (Marambio y Ortega, 2003).

Según el Reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas (Decreto Supremo n° 123, 2009), en sus artículos 12° y 13° se señala que se permitirá el almacenamiento en la planta de tratamiento de aguas servidas de lodos estabilizados clase A, aquellos aptos para uso agrícola sin restricciones por razones sanitarias, en cantidades inferiores a 40 toneladas y por un plazo máximo de siete días. Los lodos deberán ser eliminados de acuerdo a lo aprobado por la Autoridad Sanitaria en el proyecto, en tanto los lodos clase B, aquellos aptos para uso agrícola con restricciones de aplicación según tipo y localización de los suelos o cultivos, podrán ser almacenados en cantidades de hasta 35 toneladas y por un plazo máximo de 7 días sin restricciones adicionales.

El diseño y operación del sitio de almacenamiento de lodos estabilizados deberá garantizar que no existirán riesgos para la salud, el bienestar de la población y el medio ambiente, debiendo considerar un sistema de impermeabilización y de control de gases y olores. EL Decreto Supremo n° 123 (2009), advierte que los lodos cumplirán procesos de higienización que permiten una reducción significativa de patógenos, para lo cual se consideran los siguientes procesos:

Digestión Aeróbica. Los lodos se agitan con aire u oxígeno para mantener condiciones aeróbicas durante un tiempo de residencia promedio a una temperatura específica. El tiempo de residencia promedio y la temperatura deberán ser de 40 días a 20°C, o bien de 60 días a 15°C.

Secado al aire. Procesos de secado sobre una cama de arena o en piscinas de poca profundidad. El proceso de secado debe comprender un tiempo mínimo de tres meses, durante dos de los cuales, la temperatura ambiente debe ser superior a 0°C.

Digestión Anaeróbica. Los lodos son tratados en ausencia de aire, con un período de residencia medio y una temperatura específica. Los valores del tiempo de residencia medio y temperatura serán de 15 días entre 35°C a 55°C o de 60 días a 20°C.

Compostaje. Usando el método de compostaje no confinado, pilas aireadas estáticas o pilas estáticas, la temperatura mínima de los lodos será de 40°C por 5 días. Durante 4 horas en el período de cinco días, la temperatura del compost deberá exceder los 55° C.

Estabilización con cal. Procedimiento en el cual se agrega cal (CaCO_3) para mantener el pH de los lodos a un valor de 12 unidades durante un período no inferior a dos horas.

Para la disposición final en rellenos sanitarios sólo se podrá utilizar lodos de las clases A y B, para lo cual se requerirá de una autorización sanitaria que permita disponer dichos lodos conjuntamente con los residuos domiciliarios. La cantidad de lodos a disponer diariamente en un relleno sanitario no deberá ser superior a un 6% del total de los residuos dispuestos diariamente según el artículo 16° (Decreto Supremo n° 123, 2009). El artículo 17° del Reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas (Decreto Supremo n° 123, 2009) señala que en la disposición en mono-rellenos para lodos sólo se podrán usar lodos que cumplan con los criterios de estabilización, y podrán ser proyectados como instalaciones anexas a las plantas de tratamiento de aguas servidas.

a) Los lodos y su disposición actual.

Dentro de la composición de los lodos residuales existe una variada gama de compuestos, donde es común encontrar materia orgánica, agua, nutrientes, microorganismos, contaminantes minerales y orgánicos y elementos biológicos. Estos componentes tendrán variaciones dependiendo del origen del lodo, de la ubicación geográfica y de las características de la planta de tratamiento de aguas (Polo, 2007).

Según la Comisión Nacional del Medio Ambiente (Chile), la operación de plantas de tratamiento de agua potable, aguas servidas y residuos industriales líquidos genera gran cantidad de lodos. Para prevenir los eventuales impactos negativos en el medio ambiente, es necesario establecer las condiciones para su correcto tratamiento y disposición. De ahí la importancia de regular el uso y manejo de lodos no peligrosos en la agricultura, cuando sus condiciones físicas, químicas y biológicas lo permitan. Con esto, los lodos se transforman en un producto útil para la recuperación de suelos degradados, así como en una alternativa para sustituir el uso de insumos tradicionales en la agricultura (CONAMA, 2001).

Otra de las alternativas es la disposición en monorrellenos o rellenos sanitarios exclusivos, en los cuales sólo se dispone de un tipo de residuo, que en este caso se refiere exclusivamente a la disposición de lodos. El nuevo reglamento de lodos provenientes de PTAS precisa que los monorrellenos sólo podrán recibir lodos estabilizados (Quezada, 2007).

b) Uso benéfico de la aplicación de lodos.

Según CONAMA (2001), los lodos pueden presentar propiedades agronómicas, siempre que se tomen los resguardos sanitarios y ambientales necesarios en su manejo. El uso agrícola de los lodos está respaldado por más de diez años de experiencia en el mundo, y por estudios e investigaciones de otros aspectos ambientales, como son el contenido de metales pesados, microorganismos patógenos y nutrientes presentes en los mismos.

Los lodos pueden ser utilizados como fertilizantes en suelos que presenten déficit de nutrientes o en suelos degradados debido a una explotación histórica, y que no son productivos por disponer de una reducida cantidad de nutrientes (Toro, 2005; Hernández y Guerrero, 2008). La aplicación de este residuo al suelo tiende a mejorarlo, debido a que aumenta la estabilidad de los agregados y la retención de agua, optimizando su absorción por parte de las plantas (Núñez *et*

al., 2007). Además, esto permite una disminución considerable en los costos asociados a la adquisición de fertilizantes, junto a la contribución de materia orgánica y elementos nutritivos, favoreciendo los procesos químicos, físicos, y biológicos generado por el aporte de nutrientes en la materia orgánica, potenciando el crecimiento de las plantas y la sustentabilidad de los microorganismos del suelo (Cogger *et al.*, 2000). Por otra parte el alto pH (alcalino) del lodo hace posible su uso en suelos ácidos (Polo, 2007), como también contribuye al incremento de materia orgánica en suelos pobres en nutrientes, elevando los niveles de carbono orgánico y la cantidad de N y P (Pascual *et al.*, 2007).

c) Normativas y aspectos limitantes para su aplicación.

En la actualidad, Chile cuenta con el Reglamento sobre el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas servidas, que tiene por objeto regular el manejo sanitario de lodos no peligrosos provenientes de PTAS. Con ello se protege la salud de la población y se previene el deterioro de los recursos naturales, aire, agua, flora, fauna y suelo (CONAMA, 2001). Un efecto negativo de los lodos es el incremento de la salinidad en los suelos y el contenido de metales pesados (Pascual *et al.*, 2007), dentro de los que podemos destacar Zn, Cu, As y Mn (Briceño, 2007), entre otros potencialmente tóxicos. Los metales pesados están presentes en el suelo en forma natural, y provienen de la meteorización de rocas y de la liberación de los diferentes elementos que ellas contienen. La actividad antropogénica genera la incorporación de metales pesados al suelo, a través de la depositación de contaminantes producidos por la minería, fabricas de acero y tráfico vehicular, donde este último, mediante el uso de combustibles fósiles, produce primeramente una contaminación del aire y secundariamente una depositación de trazas de elementos pesados que se encuentran disponibles para las plantas (Steubing *et al.*, 2001).

Entre los riesgos más directos, también se encuentra el que este residuo posee gran cantidad de organismos patógenos como virus, protozoos y bacterias que pueden ser perjudiciales para quienes manipulen estos lodos. Si bien esta situación presenta riesgos es posible minimizarlos casi en su

totalidad mediante un proceso de compostaje (Salazar, 2007; Polo, 2007). Debido a lo anterior, es necesario contar con la caracterización química y física del suelo donde los lodos finalmente serán aplicados (Briceño, 2007; Núñez *et al.*, 2007). En aquellos suelos que cumplan los requisitos establecidos en la Cuadro 1, la tasa máxima de aplicación de lodos al suelo es 90 Ton/ha por año (base materia seca). En aquellos suelos que posean una mayor concentración de metales pesados a las señaladas en la Cuadro 1, sin haber sido receptores de lodo, se permitirá sólo una aplicación de una tasa máxima de 30 ton/ha.

Cuadro 1. Concentración máxima de metales en suelos receptores de lodos provenientes de plantas de tratamiento de aguas servidas (CONAMA, 2001).

Metal	Concentración máxima en mg/kg suelo (en base materia seca) ¹		
	Macrozona norte		Macrozona Sur
	pH >6,5	PH ≤6,5	pH>5
Arsénico	20	12,5	10
Cadmio	2	1,25	2
Cobre	150	100	75
Mercurio	1,5	1	1
Níquel	112	50	30
Plomo	75	50	50
Selenio	4	3	4
Zinc	175	120	175

¹ Concentraciones expresadas como contenidos totales

En la Región de La Araucanía el uso de lodos no presenta mayores problemas, ya que se trata de una zona poco industrializada, donde el residuo cumple con los límites máximos (Cuadro 1) establecidos por el “Reglamento para el manejo de lodos no peligrosos generados en plantas de tratamiento de aguas” (Salazar, 2007).

Finalmente, como información adicional, se señala que la fiscalización del cumplimiento de lo dispuesto en el previamente citado reglamento corresponderá a las Secretarías Regionales

Ministeriales de Salud y a las Direcciones Regionales del Servicio Agrícola y Ganadero (Decreto Supremo n° 123, 2009).

2.2.-Micorrizas

Una simbiosis vegetal especialmente importante es el resultado de la convivencia conjunta de raíces de plantas y hongos en el ámbito de la rizosfera: la micorrizas (Strasburger *et al.*, 2004). El término micorriza, procedente del griego, significa “hongo de la raíz”, y fue utilizado por primera vez en asociaciones de hongos con árboles, descritas por el fitopatólogo alemán A. B. Frank en 1885. Desde entonces se ha demostrado que la mayoría de las plantas superiores forman asociaciones simbióticas con hongos, estimándose actualmente que más del 95% de las especies vegetales forma micorrizas en forma natural (Arriagada *et al.*, 2007), lo que convierte a esta simbiosis en una asociación de carácter mutualista habitual, y la más extendida sobre el planeta (Arriagada, 2002). Strasburger *et al.*, (2004) indican que se trata de un consorcio simbiótico entre las raíces de muchas plantas y los hongos del suelo. En tanto Brundrett *et al.*, (1996) definen las micorrizas como la asociación mutualista establecida entre las raíces de plantas vasculares y ciertos hongos del suelo, y que se caracterizan por ser altamente evolucionadas.

En la asociación micorrícica, el hongo coloniza biotróficamente la corteza de la raíz (Honrubia *et al.*, 1995; Román, 2003), sin causar daño a la planta, llegando a ser parte integrante de dicho órgano en perfecta interacción fisiológica y morfológica. Esta simbiosis mutualista ha sido considerada como el funcionamiento natural y normal del sistema radical de las plantas (Smith y Read, 1997), dejando claro que este fenómeno no constituye una excepción, sino la regla dentro de la naturaleza (Honrubia *et al.*, 1995). Estas características de la simbiosis micorrícica presentan una especial relevancia en los suelos ácidos, ya que favorece la absorción de las raíces de los elementos típicamente limitada en este tipo de suelo, especialmente N, P y varios microelementos (Cornejo *et al.*, 2008a). Es así, como las especies o variedades que presentan

mayor dificultad para captar fosfato de la solución edáfica son las más dependientes de la simbiosis (Arriagada *et al.*, 2001).

Smith y Read (1997), señalan que las micorrizas se encuentran prácticamente en todos los suelos y climas de la tierra, y sólo en unas pocas familias botánicas hay especies que no forman esta simbiosis. Los ejemplos más significativos de familias con especies no micorrizables son las crucíferas, quenopodiáceas y ciperáceas.

2.2.1.- Tipos de micorrizas

Según su formación y el tipo de hongo que las establecen, se distinguen diversos tipos de micorrizas (Strasburger *et al.*, 2004), contándose a lo menos cinco tipos distintos de asociaciones micorrícicas (ver Figura 2) (Honrubia *et al.*, 1995).

De acuerdo con el grado de penetración del hongo en la raíz del hospedero, Harley y Smith (1983) dividieron a las micorrizas en tres grandes grupos: ectomicorriza, ectendomicorriza y endomicorriza.

- Ectomicorrizas (o micorrizas formadoras de manto). Características de especies arbóreas. El hongo se desarrolla en los espacios intercelulares de la corteza de la raíz, formando la llamada "red de Hartig" pero no penetra dentro de las células. Se desarrolla un manto de hifas que rodea la corteza y reemplaza funcionalmente a los pelos radicales (ausentes), ya que colonizan intensamente el suelo (Strasburger *et al.*, 1994; Coyne, 2000).
- Endomicorrizas. No forman manto ni red de Hartig pero el hongo coloniza intracelularmente. Existen 3 tipos de endomicorrizas: las arbusculares, son las micorrizas más universales en la naturaleza (Strasburger *et al.*, 1994), en las que el hongo forma arbuscúlos (intracelulares) en la corteza de la raíz; las de tipo "Orquidoide", propias y

exclusivas de la familia Orchidaceae; y las de tipo "Ericoide", características de algunos especies del orden Ericales.

- Ectendomicorizas. Formadas en otras especies del orden Ericales, ocurren penetraciones intracelulares, desarrollo de red de Harting y de manto, tipo "Arbutoide" (Arriagada, 2002). Presentan características comunes con los dos tipos de micorizas expuestos anteriormente. Con las ectomicorizas tienen en común que pueden formar un “manto” más o menos desarrollados y red de Harting, y con las endomicorizas, que existe una ligera penetración de las hifas en las células de la corteza formando enrollamientos u ovillos (Yu *et al.*, 2001)

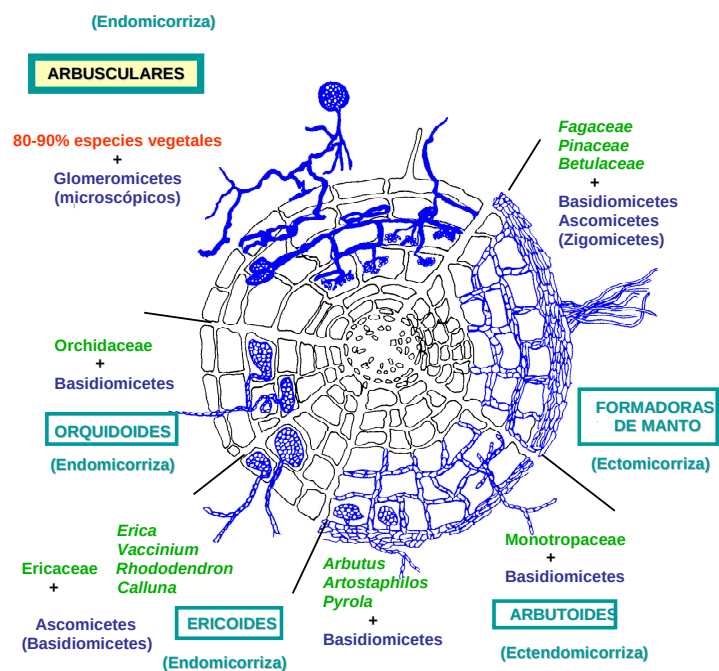


Figura 2. Distintos tipos de micorizas de acuerdo al tipo de especie vegetal y hongo que establece la asociación simbiótica.

2.2.2.-Hongos formadores de Micorrizas Arbusculares

a) **Generalidades.** Entre los grupos microbianos del suelo, que juegan un papel clave en los diferentes procesos rizosféricos, los hongos micorrizógenos arbusculares (HMA), son capaces de establecer asociaciones simbióticas conocida como micorrizas arbusculares (MA) con las raíces de las plantas (Cornejo *et al.*, 2008b). Además, desarrollan un papel fundamental en la nutrición de las plantas, ya que el micelio externo de la micorrizas, desarrollado en torno a las raíces de las plantas, es capaz de mejorar la adquisición de minerales especialmente fósforo (P) y muchos otros elementos de baja movilidad (Cornejo *et al.*, 2008b), cediendo la planta, hidratos de carbono provenientes de la fotosíntesis al hongo biotrofo (Strasburger *et al.*, 1994). Las micorrizas arbusculares constituyen el tipo de simbiosis más extendido en la naturaleza, siendo capaz de establecerlo más del 85 % de las plantas y encontrándose prácticamente en la totalidad de los ecosistemas terrestres (Smith y Read, 1997; Coyne, 2000; Serralde y Ramírez, 2004;).

Los hongos que forman micorrizas arbusculares tradicionalmente han sido incluidos dentro del grupo de los Zigomicetos (Sylvia, 1998), agrupados dentro del orden Glomales, de los cuales de los cuales existirían unas 150 especies (Morton y Benny, 1990). Estudios más recientes, considerando pruebas moleculares y filogenéticas, han permitido agrupar a los HMA dentro de un phylum exclusivo, denominado Glomeromycota (Walker y Schübler, 2004), y cuyo número de géneros y especies se incrementa gradualmente. Por otra parte, como asociados tienen especies de casi todas las familias de angiospermas, en tanto las ciperáceas, las quenopodiáceas y las brasicáceas carecen de MA o las tienen muy poco desarrolladas (Strasburger *et al.*, 1994).

b) **Características morfológicas, ciclo vital y funcionamiento.** Los HMA poseen hifas intercelulares e intracelulares en la raíz, y desarrollan unas estructuras características llamadas arbusculos, que es la estructura más típica de esta asociación simbiótica (Strasburger *et al.*, 1994). Para que se desarrollen los hongos que forman asociaciones del tipo arbuscular se necesita de una planta, debido a que el mismo no tiene capacidad de síntesis propia de compuestos carbonados para la obtención de energía, y por ende no puede multiplicarse por sí solo,

iniciándose el proceso a partir de una hifa de penetración, que puede ser originada o emitida desde una espora germinada (propágulo más numeroso en el suelo). Esto también puede darse a partir de una raicilla infectada o un propio segmento de hifa, que active su crecimiento bajo determinadas condiciones físico-químicas del suelo (Joao, 2002). De esta forma, los propágulos micorrícicos pueden sobrevivir en el suelo como esporas o pueden estar presentes como colonizadores de restos radicales o como hifas extraradicales (Castillo *et al.*, 2006), siendo estas dos formas las mas características para su multiplicación. En la siguiente Figura se presenta un esquema con el ciclo de vida de los HMA, mostrando también las estructuras típicas de la simbiosis.

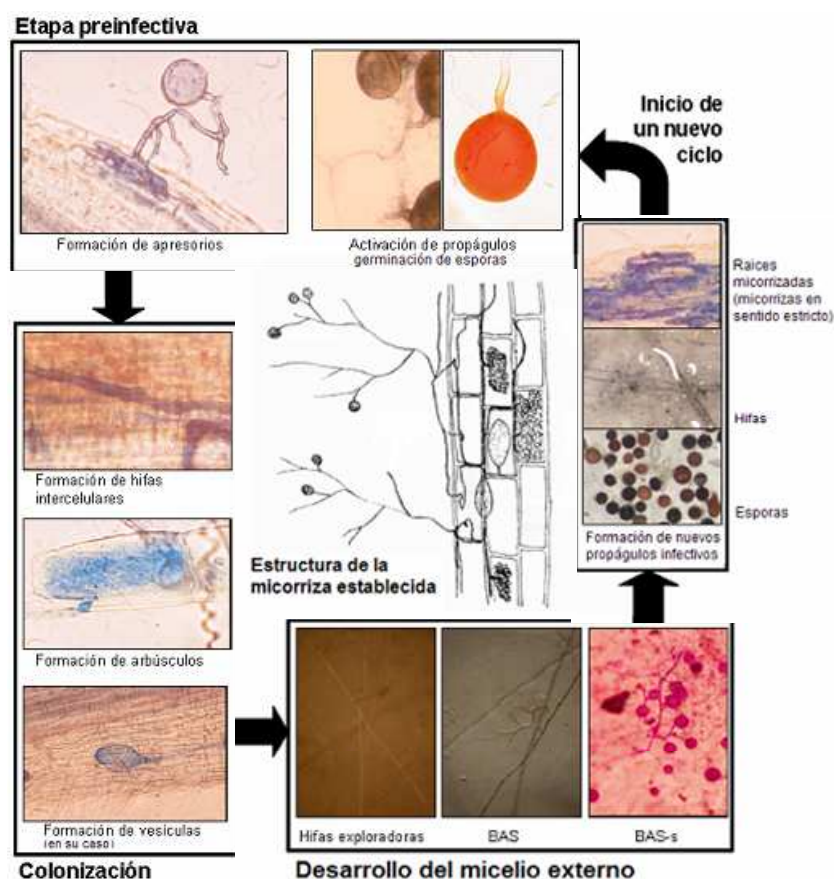


Figura 3. Ciclo vital de los HMA y estructuras características de sus fases intra y extraradicales (tomado de Cornejo, 2006).

Las esporas de los HMA parecen ser las estructuras a largo plazo de diferentes edades, y en distintos estados de latencia, y por lo que pueden servir como fuente de inóculo, la que puede persistir por muchos años (Smith y Read, 1997). Por otra parte Borie *et al.* (2000) señala que en muchos hábitats la principal y más perdurable fuente de inóculo de hongos MA en los suelos, son las hifas extraradicales, en especial aquéllas que permanecen activas desde un cultivo previo.

En detalle, el ciclo vital del HMA se inicia a partir de la activación de los propágulos y posterior germinación de las esporas en el suelo, desarrollando un conjunto de hifas que colonizan el suelo. Cuando alguna de esas hifas llega a la rizosfera de una planta, susceptible de ser micorrizada, cambia su morfología, ramificándose de manera abundante en forma de abanico y forma un engrosamiento de la hifa en la superficie de la raíz que da lugar a los puntos de entrada del hongo hacia el interior de la raíz, lo que se denomina “apresorio” (del Val, 1999).

Para iniciar el HMA la colonización del hospedero, es necesario que las hifas fúngicas penetren la epidermis de la raíz, para que continúen su desarrollo por los espacios intercelulares, donde las hifas fúngicas penetran en las células corticales de la raíz, por dentro de las paredes celulares. Estas hifas se ramifican formando árboles pequeños llamados arbuscúlos al interior de las células corticales (Strasburger *et al.*, 1994), e incluso algunos HMA desarrollan vesículas ricas en lípidos dentro de la raíz, que actúan como órganos de reserva del hongo (Smith y Read, 2008). Los arbuscúlos son de gran importancia para el funcionamiento de la simbiosis, y es la estructura específica donde se presupone que tiene lugar el flujo bidireccional de nutrientes (Sampedro, 2005). Una vez desarrollado el proceso infectivo o colonizador, el hongo desarrolla un micelio externo donde las hifas exploradoras cumplen un rol de raíces complementarias, aumentando el área de absorción y permitiendo la adquisición de nutrientes con una baja movilidad en el suelo, o que están situados lejos de la raíz (Cornejo *et al.*, 2008b). El ciclo culmina con el desarrollo de nuevos propágulos infectivos, como esporas, hifas y raíces micorrizadas (micorrizas en sentido estricto) para dar paso a un nuevo ciclo del proceso de micorrización de los hongos arbusculares. Cabe señalar que los HMA son capaces de sobrevivir en el suelo bajo diferentes y cambiantes condiciones ambientales, incluso en períodos cuando

las plantas no hospedantes están presentes (Castillo *et al.*, 2006), asegurando su persistencia en los suelos y posibilitando la colonización de plantas incluso después de un tiempo prolongado sin presencia de éstas en un suelo determinado.

2.2.3.- Ecología de la simbiosis

a) **Distribución ecológica y aspectos taxonómicos.** Un componente principal de la microbiota del suelo en condiciones naturales, así como también en la mayoría de los agroecosistemas son los HMA (HMA) (Oehl *et al.*, 2004). Sin embargo, resulta paradójico que en la práctica principalmente seis géneros de hongos (*Acaulospora*, *Entrophospora*, *Gigaspora*, *Glomus*, *Sclerocystis* y *Scutellospora*), que incluyen aproximadamente unos pocos cientos de especies, sean los responsables de la dependencia micotrófica de más del 80 % de las plantas terrestres del planeta (Honrubia *et al.*, 1995). Esto contrasta significativamente con la gran cantidad y diversidad de especies de plantas que forman micorrizas, además de la extensión territorial que son capaces de abarcar. Esta última característica es igualmente importante, porque es bien reconocido que los HMA poseen la cualidad de ser ubiquistas, cosmopolitas y además son capaces de colonizar diferentes tipos de ecosistemas (Brundrett *et al.*, 1996).

En particular, numerosos estudios han demostrado el papel beneficioso de los HMA en suelos contaminados con metales pesados (MP), ya que su asociación con las plantas permite su mejor establecimiento y, en ciertos casos, una mayor fitoacumulación de MP (Cornejo *et al.*, 2008c). En ambientes adversos, la presencia de estos hongos facilita la instauración de sus hospedantes vegetales, a los que aseguran su nutrición mineral (Arriagada, 2002).

b) **Rol ecosistémicos de los HMA.** Numerosos estudios locales han demostrado que la simbiosis MA desempeña un papel crucial en el ciclo del P y en la reducción de la toxicidad por Al en suelos ácidos del sur de Chile (Rubio *et al.*, 2002; Borie y Rubio, 1999; Borie *et al.* 2002; Cornejo *et al.*, 2007; 2008a). La simbiosis establecida, con su capacidad de incrementar el sistema radical, logra un aprovechamiento eficiente del sustrato, en particular de los minerales

poco solubles y escasamente difundidos (Borie *et al.*, 1998). Además poseen un rol estabilizador de los suelos, de tipo físico, debido a su abundante micelio, el que es capaz de agregar partículas de suelo. Además este rol tiene un componente de tipo químico, por la producción de proteínas por parte de las hifas del hongo, las que son liberadas al suelo y actúan como material cementante (Redel *et al.*, 2005).

En base a lo anterior, queda demostrada la enorme importancia ecológica de los HMA, a tenor de las especies vegetales nutricionalmente dependientes de esta simbiosis, ya que el hongo se nutre de las fuentes carbonadas que le provee la planta y esta logra aumentar la absorción de agua y nutrientes debido a la mayor superficie de exploración que alcanza por el gran volumen de suelo que ocupan las hifas de estos hongos (Bolletta *et al.*, 2002). Adicionalmente, la importancia y rol en la estabilidad del suelo por parte de los HMA, por ejemplo, durante el proceso de recuperación de un sistema perturbado, demuestra la necesidad de implementar estrategias que promuevan la formación de agregados, como lo es el uso de este tipo de hongos (Ramos-Zapata y Guadarrama, 2004). Su presencia también influye en la dinámica de las comunidades y en la composición de especies en las diferentes etapas sucesionales de la vegetación natural (Cornejo, 2006), por lo que incluir en los programas de restauración plantas micorrizadas asegura el establecimiento y supervivencia de éstas, ya que de esta forma las plantas optimizan el uso de los recursos disponibles y se relaja la competencia entre ellas (Ramos-Zapata y Guadarrama, 2004).

c) **Glomalina.** El reciente descubrimiento de la presencia en el suelo de glomalina, una glicoproteína insoluble en agua con algunas características de hidrofobinas, muy estable y producida en forma abundante por las hifas de los HMA, ha permitido sugerir que éstas proteínas estarían involucradas en la estabilización de los agregados de suelo (Borie *et al.*, 2000; Cuenca *et al.*, 2007). Actualmente presenta gran interés el rol que la glomalina (estudiada normalmente como *glomalin related soil protein*; GRSP) desempeña en la inmovilización de MP, entre ellos el Cu (Cornejo *et al.*, 2008c). Las hifas de HMA están muy capacitadas para absorber osmotróficamente las sustancias disueltas en la solución edáfica, lo cual aprovechan muchas

plantas superiores, formando simbiosis con los hongos. Por estos motivos los hongos acumulan también iones de MP, lo cual debe ser tenido especialmente en cuenta en lugares donde existan contaminaciones por este tipo de elementos químicos (Strasburger *et al.*, 1994). En este aspecto se ha comprobado que la micorrización favorece la acumulación de algunos metales como Cd y Zn a nivel radical (Oudeh *et al.*, 2002). Finalmente, en este sentido, resulta igualmente importante apreciar que el correcto desarrollo de la simbiosis MA, por sus componentes ecológicas, puede jugar un rol crucial evitando la generación de problemas laterales de la aplicación de biosólidos, como lo es el aumento de los MP en los suelos agrícolas donde es dispuesto finalmente.

2.3.- Perspectiva de la aplicación de los estudios realizados

El presente estudio pretende entregar antecedentes sobre una alternativa para dar solución a la disposición final de los lodos residuales, tomando como modelo un suelo de origen volcánico de la Araucanía, a través de su aprovechamiento como una enmienda orgánica en suelos agrícolas. Por esto, determinar el efecto de esta aplicación sobre los propágulos de los HMA presentes en el suelo modelo, y evaluar el efecto de las dosis y la frecuencia de aplicación servirán como una guía para la incorporación futura de este tipo de enmiendas de uso agrícola. De esta forma, la investigación busca aportar al manejo de los biosólidos en aplicaciones agrícolas, optimizando el uso y aprovechamiento agronómico, evitando así un efecto negativo en la actividad biológica del suelo por su mala aplicación, y así contribuir con la investigación de forma responsable, tanto ambiental como socialmente, en relación a los destinos finales de los desechos producidos en los centros urbanos. Así, se puede evitar que estos, potencialmente, puedan ser fuente de contaminación por los altos niveles de MP presentes en los lodos residuales entre otras problemáticas, evitando los efectos que pudieran tener sobre la población rural, donde se instalarían las disposiciones finales o monorrellenos, o por su aplicación a suelos bajo condiciones no controladas. De ahí la importancia de estos estudios que aportan conocimiento y dan las pautas para procedimientos en la utilización de biosólidos en el futuro.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

Las actividades desarrolladas para la realización del presente estudio se llevaron a cabo en parcelas de 4 x 10 m, establecidas en un suelo de origen volcánico, ubicado en la comuna de Cunco, en coordenadas 38° 58' 21" S; 72° 7' 21.7" O, en suelos con una pendiente inferior al 2% y sin restricciones de profundidad ni drenaje. El suelo de las parcelas corresponde a una de las terrazas superiores del río Allipén. Previo al establecimiento del estudio, los suelos estuvieron dominados por pradera natural a lo menos durante cuatro años. La temperatura media anual aproximada del área es de 10,5° C. El clima es típicamente de transición, moderadamente cálido y lluvioso, con una precipitación anual de 1.200 mm. Por su parte, las determinaciones contenidas en este estudio se realizaron en el Laboratorio de Microbiología de Suelo del Departamento de Ciencias Químicas y Recursos Naturales de la Universidad de La Frontera.

3.1.- Materiales

3.1.1.- Suelo

El suelo utilizado en el estudio correspondió a un Andisol (Trumao) de la serie Los Prados, siendo cultivado durante tres temporadas con labranza convencional, al tiempo que se le aplicaban los distintos tratamientos que más adelante se detallan. Las muestras de suelo analizadas fueron obtenidas a una profundidad de 0 a 20 cm, homogeneizadas en terreno, y tamizadas a 2 mm previo a la realización de las determinaciones. Este suelo presentó un pH inicial de 5.76 (ácido) y un porcentaje de materia orgánica de 16%, indicando en su conjunto que el suelo presenta una calidad óptima desde el punto de vista físico.

3.1.2.- Lodo

El lodo o biosólido utilizado en este estudio fue aportado por la empresa Aguas Araucanía S.A., proveniente de la planta de tratamiento de aguas servidas de la comuna de Vilcún. Esta planta de tratamiento procesa las aguas residuales mediante el sistema de tratamiento secundario o tratamiento biológico. El análisis químico del biosólido se realizó de acuerdo a las guías chilenas para el suelo y análisis de los lodos (SAG, 2007). Los resultados obtenidos para el biosólido se presentan en la Cuadro 2.

Cuadro 2. Análisis químico del biosólido utilizado, planta de tratamiento de aguas servidas de Vilcún.

Parámetro químico	Biosólido	
	Rango	Media
COT (mg kg ⁻¹)	20-30	25
pH	6.3-8.0	7.2
pH (cal)	10.0-11.6	10.8
Cond. (mmho cm ⁻¹)	1.0-6.0	3.5
N total (%)	3.0-6.0	4.5
P total (%)	0.9-1.6	1.3
K (%)	0.2-0.8	0.5
Na (mg kg ⁻¹)	2.0-4.5	3.3
Ca (mg kg ⁻¹)	1.0-2.0	1.5
Mg (mg kg ⁻¹)	1.1-3.2	2.2
S (mg kg ⁻¹)	0.2-1.2	0.7
Cd (mg kg ⁻¹)	0.34	
Cu (mg kg ⁻¹)	316	
Hg (mg kg ⁻¹)	21	
Pb (mg kg ⁻¹)	20	
Ni (mg kg ⁻¹)	25.5	
Zn (mg kg ⁻¹)	320	
As (mg kg ⁻¹)	3.4	
Se (mg kg ⁻¹)	20.7	

3.1.3.- Material vegetal

El material vegetal utilizado en el presente estudio fue trigo (*Triticum aestivum* L.) cv. Quijote de la empresa Semillas Baer (Cajón, Región de La Araucanía). Por su parte, la pradera natural (PN), que sirvió como referencia para un sistema no intervenido, estaba compuesta principalmente por plantas de *Hypochaeris radicata* L. (Asteraceae), *Agrostis capillaris* L. (Poaceae), y *Trifolium repens* L. (Leguminosae) (Figura 4).

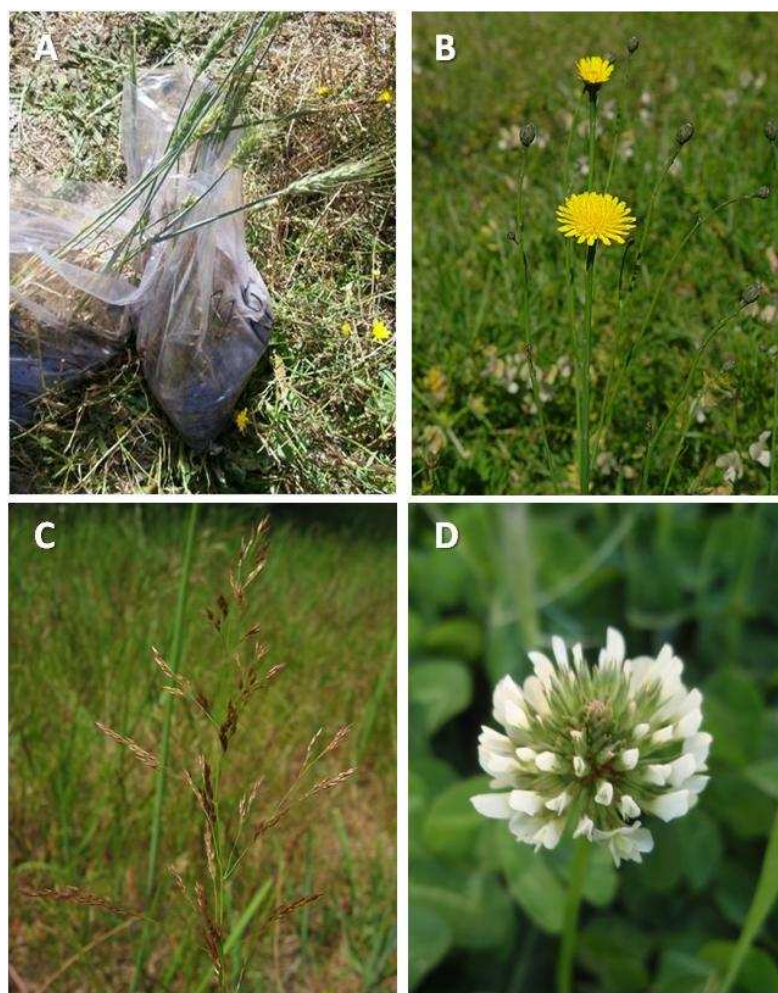


Figura 4. Material vegetal representativo del estudio. A) Plantas de trigo obtenido de suelos del estudio; B) *Hypochaeris radicata* L. (Asteraceae); C) *Agrostis capillaris* L. (Poaceae); D) *Trifolium repens* L. (Leguminosae). B, C y D forman parte principal de la pradera natural establecida en los suelos estudiados.

3.2.- Métodos

3.2.1.- Diseño experimental

Las plantas se cultivaron utilizando un diseño completamente aleatorio para ambos tipos de aplicación de biosólidos, tanto acumulativa como residual. En el estudio se aplicó superficialmente el equivalente a 30, 90 y 150 ton ha⁻¹ de biosólido en los tratamientos enmendados. En el caso de la Aplicación Residual (R) se aplicó la dosis sólo el primer año del estudio, de un total de tres años, previo al establecimiento de trigo. En tanto, para la Aplicación Acumulativa (A), se aplicó anualmente durante los tres años, antes del establecimiento del cultivo de trigo. Estos tratamientos fueron comparados con una fertilización química (aplicada igualmente de forma R y A), un testigo no enmendado ni fertilizado (T), y una pradera natural (PN) presente en el mismo suelo, la que mostraba las condiciones normales de los propágulos de HMA. En cada caso se utilizaron 3 repeticiones para el análisis de cada uno de los tratamientos establecidos ($n = 30$).

3.2.2.- Determinaciones

a) pH. El pH del suelo, se determinó con un pH-metro en una mezcla de suelo/H₂O en proporción 2/5 p/v. Para esto, 4 gr. de suelo se mezclaron con 10 mL de agua en cada muestra.

b) Cu y Zn extraíble. El Cu y Zn extraíble de las muestras de suelo se cuantificó por espectrofotometría de absorción atómica, luego de su extracción con una solución de DTPA tamponada a pH 7,3 (Bradfield y Spencer, 1965).

c) Colonización. El porcentaje de colonización por HMA en las raíces de trigo y las plantas de la pradera natural se determinó a través de una lupa estereoscópica, contabilizando en una placa

cuadriculada el número de intersecciones horizontales de acuerdo al método del intercepto de líneas (Giovannetti & Mosse, 1980; McGonigle et al., 1990). Para su observación, las raíces fueron cortadas en segmentos de 1 cm y aclarada con solución al 10% de KOH, siendo posteriormente teñidas con azul de tripano (Phillips y Hayman, 1970). Para calcular el % de colonización de HMA, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Colonización} = \frac{\text{Interceptos (+)} \times 100}{\text{Total de Interceptos}}$$

d) Micelio Total.- Las hifas micorrícicas extrarradicales totales se determinaron por la metodología alternativa para suelos derivados de cenizas volcánicas descrito por Rubio et al. (2003). La cuantificación de la densidad total de hifas se realizó mediante el método de intersección en línea de Newman (1966) luego de su tinción con azul de tripano y su recolección en filtro de membrana de 0.45 µm de tamaño de poro (White Gridded HAWG, Millipore Corp., Bedford-Madison, USA).

e) Esporas. Las esporas de HMA se separaron del suelo por tamizado húmedo (425 µm, 250 µm, 100 µm y 53 µm). El contenido del tamiz fue decantado en solución de sacarosa al 70% p/v (Gerdeemann y Nicholson, 1963), centrifugado a 3.000 rpm por 5 min, y las esporas cuantificadas en una placa Doncaster bajo una lupa estereoscópica a 30-50 aumentos.

f) Glomalina relacionada a la proteína de suelo (GRSP). La extracción de GRSP total (GT) desde el suelo se realizó según el siguiente procedimiento: Se pesó 1 g de suelo en tubo de centrifuga (resistente al calor) y se añadieron 8 mL de citrato de sodio 50 mM tamponado a pH 8,0, luego de lo cual se extrae en autoclave a 121 °C por 60 minutos. Se enfrió el tubo y se centrifugó a 5.000g durante 20 minutos. Como el extracto presentó su color característico pardo-rojizo, se transfirió el sobrenadante a un matraz volumétrico (que se mantiene a 4 °C) y se

continuó extrayendo la GT por ciclos de 60 minutos de autoclavado hasta la desaparición de la coloración típica. Se combinan todos los extractos y se llevaron a un volumen exacto con citrato de sodio (Wright y Upadhyaya, 1996). Posteriormente se cuantificó mediante el método de Bradford.

Determinación de glomalina por el método Bradford: Una pequeña fracción de extracto se centrifugó en viales Eppendorf a 10.000 x g y a una alícuota del sobrenadante se le agregaron 200 µL de reactivo Bradford (Bio- Rad Protein Assay Catalog 500-0006) para proteínas, más una solución buffer PBS (fosfato salino) a pH 7,4 hasta completar un volumen de 1 mL. Simultáneamente, se realizó una curva de calibración con albúmina sérica bovina, que comprende concentraciones en el rango de 2,5 g hasta 35 µg mL⁻¹ (Wright y Upadhyaya, 1996). Las concentraciones de glomalina se expresaron en mg g⁻¹ de suelo para cada muestra.

Extracción de la glomalina fácilmente extraíble (GFE): para esta determinación, se pesó 1 g de suelo en tubo de centrifuga (resistente al calor) y se añadieron 8 mL de citrato de sodio 20 mM pH 7,0 y se realizó una sola extracción autoclavando a 121°C por 30 minutos. Posteriormente, se cuantificó la glomalina mediante el método Bradford previamente descrito. La GFE representa la fracción de más reciente deposición, e incluso se la ha mencionado como proveniente de una descomposición parcial de la glomalina más estable, presentando buenas correlaciones con la estabilidad de los agregados en agua (Wright y Upadhyaya, 1998).

g) Cu y Zn secuestrada en GRPS.- Para la cuantificación del Cu y Zn secuestrado en GT se utilizó espectrofotometría de absorción atómica (Bradfield y Spencer, 1965), luego de la calcinación y digestión ácida de las muestras.

3.2.3.- Análisis estadístico.- Para cada parámetro medido, se probaron los supuestos estadísticos de homogeneidad de varianzas y normalidad, y posteriormente se realizó ANOVA de una vía. En estos casos, para comparar las medias se utilizó el test de rango múltiple de Tukey. La totalidad

de los datos obtenidos fue sometido a análisis factorial con extracción de componentes principales (CP), y posteriormente sometidos (incluidos los CP) a análisis de correlación lineal utilizando el coeficiente de correlación de Pearson (r). Finalmente, las unidades experimentales fueron clasificadas mediante análisis cluster no jerárquico, utilizando el método de Ward para la formación de grupos similares. En todos los casos se utilizó el programa SPSS v. 10.0 (SPSS, Inc., Chicago, Il.). Para todos los análisis, se consideró la existencia de diferencias significativas cuando $P < 0,05$.

4. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.- Variación del pH del suelo

En la Figura 5 se presentan los resultados obtenidos para pHw del suelo para cada tratamiento del estudio: testigo (T), pradera natural (PN), fertilización química (FQ) residual (R) y acumulativa (A), y las distintas dosis de biosólidos (30, 60 y 90 ton há⁻¹) de los tratamientos residual y acumulativo.

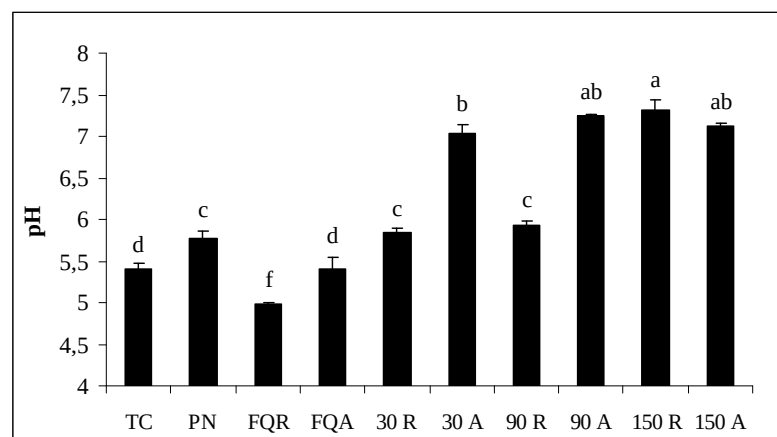


Figura 5. Valores de pHw de suelos cultivados con *Triticum aestivum*, y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile. Convenciones para los tratamientos: testigo (TC), pradera natural (PN, representado por las especies naturales sin cultivo de trigo), fertilización química (FQ), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton há⁻¹. Los tratamientos fueron aplicados de forma residual (R) sólo al principio del estudio, o bien de forma acumulativa (A), durante los tres años del estudio. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey P<0,05).

Los valores de pH registraron un aumento significativo en sus magnitudes, en general, asociado a una mayor dosis de aplicación de biosólido, siendo mayor aún en los casos en que esta aplicación se realizó de forma acumulativa. En este caso, el mayor incremento se produjo en los tratamientos 90 A, 150 R y 150 A, con valores comprendidos entre 7,2 y 7,3. De acuerdo a esto, la aplicación creciente de biosólidos sería el principal factor que actúa modificando el pH del suelo, sobre todo considerando la parte superficial de éste, donde son físicamente vertidos. Este efecto se basaría en la aplicación conjunta tanto de los biosólidos, como de la cal que acompaña a estos residuos, y que es adicionada en su proceso de estabilización, determinando que la

enmienda aplicada no sólo presente un pH muy elevado (ver Cuadro 2), sino que eventualmente se encuentre acompañada de una proporción de cal que no haya reaccionado en la neutralización del biosólido. Por otra parte, los tratamientos que presentaron un valor de pH similar y no significativamente distinto a PN (representando el estado no intervenido en el agro-ecosistema), fueron los tratamientos R a las dosis de 30 y 90 ton há⁻¹. Este aumento en los niveles de pH en los suelos con adición de abonos orgánicos adicional es ampliamente descrito en la literatura (eg. Castillo *et al*, 2004; Buttler y Muir, 2006), y podría ser a consecuencia de un aumento de las bases intercambiables que acompañan estos residuos (Valarini *et al.*, 2009). En particular, en un estudio similar, analizando el efecto de la aplicación de residuos orgánicos (compost) sobre los propágulos de HMA, Valarini *et al.* (2009) demostraron que la adición de compost se asoció con un aumento en los niveles de pH. En ese estudio en particular, los cultivos que mostraron un mayor aumento de pH fueron trigo y pastizales ($P \leq 0,05$), mientras que no hubo diferencias significativas en el frijol.

En otro sentido, Cornejo *et al.*, (2009), estudiando distintas fuentes de N aplicadas como fertilizantes a una sucesión de cultivos trigo-avena, encontraron una fuerte influencia de las micorrizas arbusculares establecidas en la modificación del pH rizosférico; no obstante, en este caso todos los tratamientos estuvieron inicialmente expuestos a una comunidad de HMA semejantes, y probablemente también a una densidad de propágulos similar. Por lo tanto, cabe esperar que el efecto en el sentido contrario, siendo las MA establecidas las que modifiquen la reacción del suelo, sean menos notables que las que produciría *per se* la aplicación de biosólidos a niveles crecientes en el suelo.

4.2.- Variación de los contenidos de Cu y Zn extraíbles

En la Figura 6 se presentan los contenidos de Cu y Zn extraíbles (DTPA) en los tratamientos analizados. Se presentó un aumento significativo en los contenidos de Cu, asociado al incremento de las dosis de biosólidos, en especial cuando se aplicó de forma acumulativa, alcanzando los 12 mg kg⁻¹ en el tratamiento 150 A, que representa unas 6 veces lo registrado en PN. Un

comportamiento casi idéntico se presentó en el caso del Zn. En general, el aumento, tanto para Cu como para Zn, se observó en los tratamientos que recibieron aplicación de biosólidos, lo que no se registró ni en TC, ni en PN, ni en los tratamientos con fertilización química. Esto indica claramente que el aumento de los contenidos de Cu y Zn es debido a la aplicación de biosólido, que tal cual se puede apreciar en la Cuadro 2, presentaba concentraciones relativamente altas de estos MP. Adicionalmente, estos resultados ponen de manifiesto una de las principales problemáticas de la aplicación de este tipo de residuos, y que se corresponde con el aumento de sustancias potencialmente contaminantes en suelos agrícolas. Por otra parte, es bien sabido que la alcalinización del suelo se asocia a una disminución de la disponibilidad de MP, como el Cu y el Zn (Cornejo *et al.*, 2008a); sin embargo, en este estudio incluso con una fuerte alcalinización en los tratamientos con aplicación de biosólidos (más de dos unidades en algunos casos), el aumento de los contenidos de Cu y Zn extractable es ascendente a medida que se incrementa la dosis de enmienda, en particular aplicados de forma acumulativa.

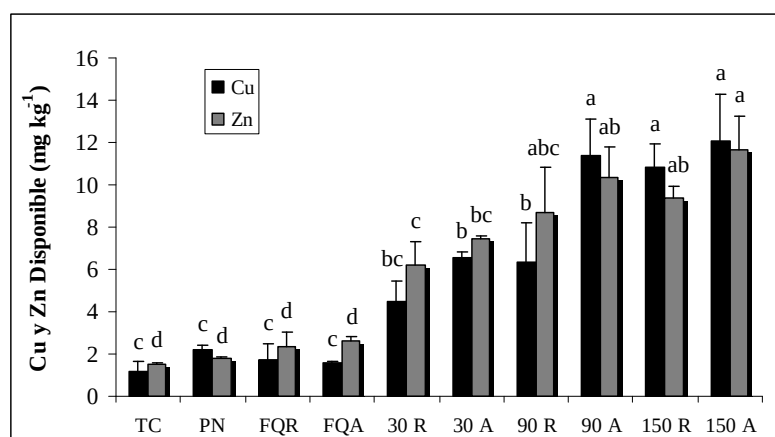


Figura 6. Niveles de Cu y Zn extraíble con DTPA de suelos cultivados con *Triticum aestivum*, y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile. Convenciones para los tratamientos: testigo (TC), pradera natural (PN, representado por las especies naturales sin cultivo de trigo), fertilización química (FQ), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton há⁻¹. Los tratamientos fueron aplicados de forma residual (R) sólo al principio del estudio, o bien de forma acumulativa (A), durante los tres años del estudio. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey P<0,05).

4.3.- Variación de los parámetros micorrícicos.

4.3.1.- Colonización

En la Figura 7 se presenta el porcentaje de colonización por HMA en las raíces de *Triticum aestivum*, así como la colonización de las raíces de plantas de la pradera natural. Se observó que existe colonización de magnitud importante en todas las muestras estudiadas, con valores que bordean el 50%, y hasta el 60%. No obstante, no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los tratamientos testeados.

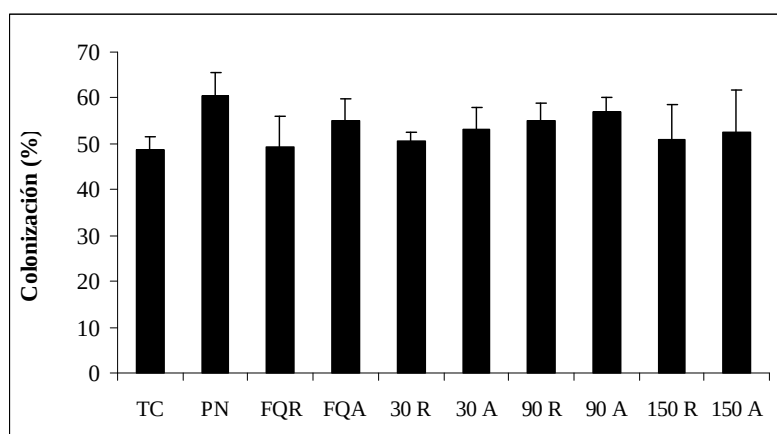


Figura 7. Colonización micorrízico arbuscular de raíces obtenidas de suelos cultivados con *Triticum aestivum*, y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile. Convenciones para los tratamientos: testigo (TC), pradera natural (PN, representado por las especies naturales sin cultivo de trigo), fertilización química (FQ), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton ha^{-1} . Los tratamientos fueron aplicados de forma residual (R) sólo al principio del estudio, o bien de forma acumulativa (A), durante los tres años del estudio. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey $P < 0,05$).

El mayor porcentaje de colonización se encontró en PN, con un 60,4% de micorrización, y que en el momento de la toma de muestras correspondía mayoritariamente a raíces de *Hypochoeris radicata* L. Por su parte, en los tratamientos con cultivo de trigo el mayor porcentaje de micorrización se registró en el tratamiento 90 A, con un 56,8%, y la micorrización más baja fue en el testigo (T), con un 48,6%, observándose que, en general, los tratamientos A presentaron mayores valores de colonización. Estos resultados concuerdan con los encontrados por Valarini *et al.*, (2009), quienes encontraron una mayor colonización en tratamientos con aplicación de

compost, asociándose igualmente de forma positiva con las dosis de compost aplicadas en este caso. Adicionalmente, cabe señalar que se observó una clara diferencia visual en el crecimiento radical alcanzado por las plantas de trigo en los distintos tratamientos. En este sentido, el tamaño de las raíces fue claramente menor en los tratamientos con aplicación de biosólidos, y en particular cuando fueron aplicados de forma acumulativa. Por ende, el que existan mayores colonizaciones justamente en este tipo de tratamientos con biosólidos no se asociaría con un mayor potencial de inóculo micorrícico por un aumento de la densidad de raíz colonizada total. Existen algunos estudios que señalan que las plantas sometidas a regímenes elevados de fertilización inhiben el desarrollo radical, debido principalmente que los altos niveles de nutrientes inhiben el establecimiento de la simbiosis (Le Tacon *et al.* 1997, Smith y Read 1997), que en este caso podría ser un efecto de un mayor aporte de nutrientes a elevadas dosis de biosólido (ver Cuadro 2). No obstante, también podría basarse en el hecho de que los biosólidos posean una elevada cantidad de compuestos potencialmente tóxicos para la planta o que pudieran inhibir el crecimiento radical de forma directa, quedando demostrado por Celis *et al.*, (2006) al aumentar la dosis de Biosólidos Urbanos a 150 Mg ha⁻¹ (BU150), quienes observaron que semillas de *Lactuca sativa* L. presentaron radículas pequeñas y no llegaron a desarrollar hipocotilo.

4.3.2.- Micelio

En la Figura 8 se presenta la densidad de micelio micorrícico total en suelo para cada tratamiento analizado. Se observó una clara y significativa disminución de la densidad de micelio a medida que aumenta la concentración de lodo residual en relación a TC. Esta disminución es de una magnitud considerable, bajando de 10 m g⁻¹ en TC hasta cerca de 1 m g⁻¹ en el tratamiento 150 A. Adicionalmente, los tratamientos con aplicación de biosólidos A presentaron valores inferiores respecto a los tratamientos R, e igualmente fueron inferiores que en los tratamientos con fertilización química. En este sentido, la aplicación de biosólidos provenientes de PTAS presenta un comportamiento, sobre las poblaciones de HMA, distinto a lo que se observa con otras enmiendas orgánicas. Por ejemplo, Valarini *et al.*, (2009) observaron que la adición de

compost no afectó a la longitud de micelio externo, manteniéndose las densidades a través de los progresivos aumentos de dosis. En este sentido, el cambio observado en este importante propágulo fúngico estaría justificando mayores cuidados, y la necesidad de un estudio más acabado respecto de las dosis y formas de aplicación de biosólidos en suelos agrícolas.

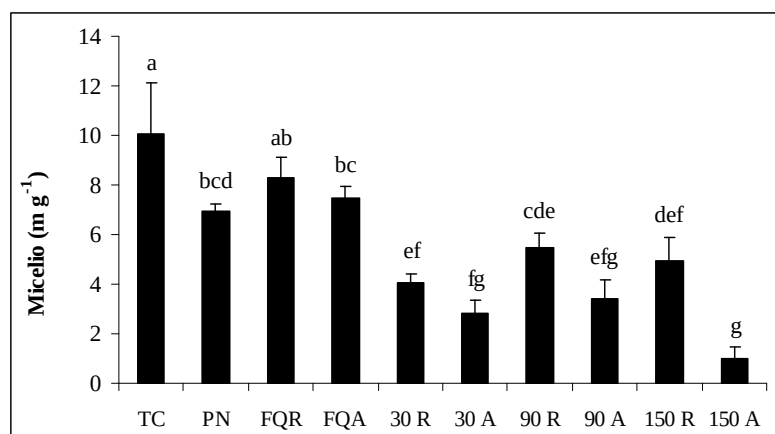


Figura 8. Densidad de micelio de HMA de suelos cultivados con *Triticum aestivum*, y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile. Convenciones para los tratamientos: testigo (TC), pradera natural (PN, representado por las especies naturales sin cultivo de trigo), fertilización química (FQ), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton há⁻¹. Los tratamientos fueron aplicados de forma residual (R) sólo al principio del estudio, o bien de forma acumulativa (A), durante los tres años del estudio. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey P<0,05).

4.3.3.- Esporas

La densidad de esporas de HMA registrada en los diferentes tratamientos analizados se presenta en la Figura 9. El comportamiento observado en este caso es similar al registrado en el caso del micelio micorrícico, previamente descrito. En este caso, la densidad de esporas también disminuye a medida que aumenta la concentración de lodo, en particular cuando es aplicado de forma acumulativa. La mayor densidad se presentó en los tratamientos TC y 30 R, con más de 1100 esporas por cada 100 g de suelo, en contraste con las menos de 500 encontradas en el tratamiento 150 A. En este caso, la presencia de diferencias significativas es más limitada, lo que puede deberse al amplio rango de variaciones que normalmente se encuentra en este parámetro, y que ha sido también vista en otros estudios en suelos volcánicos del sur de Chile (Cornejo *et al.*, 2007; 2008a; 2009).

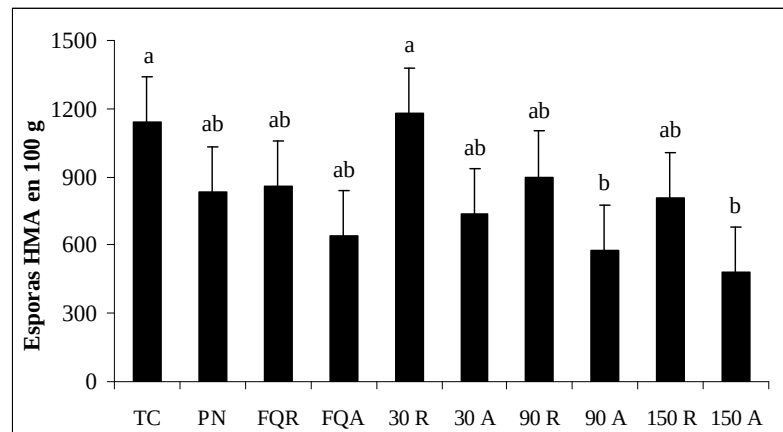


Figura 9. Densidad de esporas de HMA en suelos cultivados con *Triticum aestivum*, y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile. Convenciones para los tratamientos: testigo (TC), pradera natural (PN, representado por las especies naturales sin cultivo de trigo), fertilización química (FQ), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton ha^{-1} . Los tratamientos fueron aplicados de forma residual (R) sólo al principio del estudio, o bien de forma acumulativa (A), durante los tres años del estudio. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey $P<0,05$).

Estos resultados refuerzan la apreciación previamente vertida, en el sentido que la aplicación, en particular, de este tipo de enmiendas/fertilizantes requieren mayores consideraciones y estudios, respecto de dosis y frecuencias de aplicación, para minimizar los efectos deletéreos sobre las poblaciones indígenas de microorganismos beneficiosos del suelo.

4.4.- GRSP en suelos con distintas dosis de Lodos

En la Figura 10 se presentan las concentraciones de GRSP (total), las cuales no mostraron diferencias significativas entre los distintos tratamientos aplicados, salvo los existentes entre el tratamiento 150 A y algunos otros tratamientos con aplicación de biosólidos (30 R, 90 R y 90 A). En este caso en particular, se observó un aumento progresivo de GRSP sólo en los tratamientos con aplicación de biosólido, tendiendo a ser mayor en relación con el aumento de las dosis, en particular en los tratamientos con aplicación acumulativa. Estudios previos realizados en suelos agrícolas del sur de Chile han encontrado cantidades similares de GRSP. Morales *et al.*, (2005) determinaron la presencia de esta glicoproteína en un Andisol de la X Región, con valores que fluctuaban entre 65 mg g^{-1} en pradera hasta 114 mg g^{-1} en bosque con manejo, lo que representa

entre 19.3 y 26.1% del C total del suelo. Seguel *et al.*, (2008) determinaron un C asociado a glomalina que comprende un 8,9 a 10,4% del carbono total del horizonte superficial.

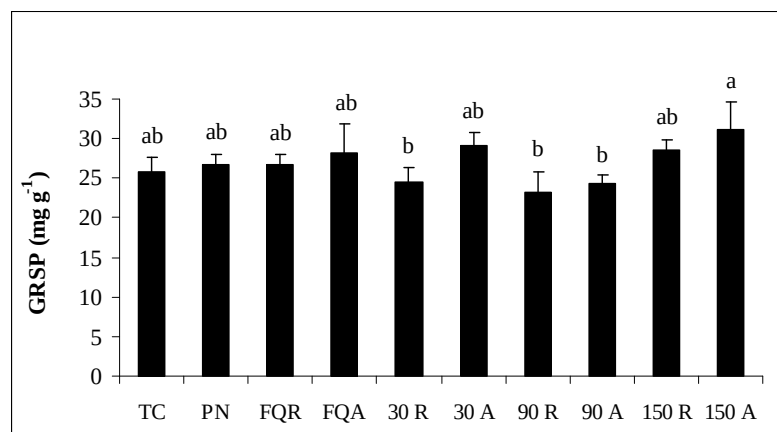


Figura 10. Concentración de Glomalina Relacionada a la Proteína del Suelo (GRSP) de suelos cultivados con *Triticum aestivum*, y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile. Convenciones para los tratamientos: testigo (TC), pradera natural (PN, representado por las especies naturales sin cultivo de trigo), fertilización química (FQ), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton há⁻¹. Los tratamientos fueron aplicados de forma residual (R) sólo al principio del estudio, o bien de forma acumulativa (A), durante los tres años del estudio. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey P<0,05).

Considerando que la GRSP se asocia principalmente a las proteínas originadas por HMA y liberadas por éstos al suelo, resulta contradictorio el hecho que se hayan encontrado los valores mayores de GRSP en los tratamientos con menor densidad de propágulos de HMA. En este sentido, surgen dos alternativas que podrían explicar este fenómeno. Por una parte, que los HMA presentes en los suelos con aplicación de biosólido destinen una mayor parte de compuestos y de su metabolismo a generar glomalina, como un medio para modificar el medio ambiente alterado por la aplicación (Rillig y Steinberg, 2002). O por otra parte, que lo que se esté cuantificando mediante el método Bradford sea inespecífico de la proteína obtenida del suelo (Janos *et al.* 2008), en cuyo caso es conocido que este método incluye en sus mediciones sustancias como polifenoles, que probablemente formen parte de los biosólidos añadidos.

4.5.- Rol de GRSP en la inmovilización de Cu y Zn en suelos con distintas dosis de lodos

En la Figura 11 se presentan las concentraciones de Cu secuestradas en GRSP. En general, son valores bajos de contenido de Cu a los reportados previamente en otros estudios, en los cuales la GRSP se observó podía secuestrar hasta 28 mg Cu g⁻¹ (González-Chávez *et al.*, 2004; Cornejo *et al.*, 2008c). No obstante estos estudios previos se realizaron en sistemas con Cu adicionado, o bien con GRSP obtenida desde suelos altamente contaminados con metales. En este estudio, los valores obtenidos (entre 0,3 y 0,8 mg Cu g⁻¹ GRSP) extrapolados a suelos, representan entre 7 y 20 ppm de Cu secuestrado en suelo por esta proteína, y que da una indicación de lo que podría representar su acumulación en suelos con adición de biosólidos, y conjuntamente de los MP incluidos en esta enmienda. Sin conocer los valores de MP total del suelo, pero considerando valores normalmente bajos e inferiores a 50 ppm de Cu total, el Cu inmovilizado en GRSP podría representar probablemente la fracción más importante de Cu en el suelo.

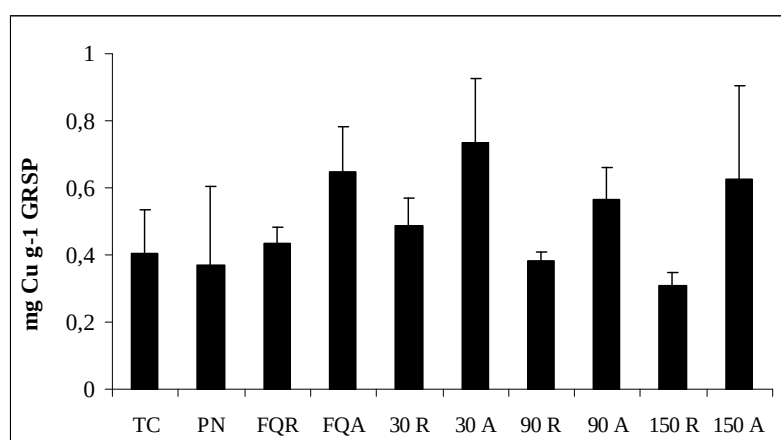


Figura 11. Cu asociado a GRSP en suelos cultivados con *Triticum aestivum*, y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile. Convenciones para los tratamientos: testigo (TC), pradera natural (PN, representado por las especies naturales sin cultivo de trigo), fertilización química (FQ), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton ha⁻¹. Los tratamientos fueron aplicados de forma residual (R) sólo al principio del estudio, o bien de forma acumulativa (A), durante los tres años del estudio. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey P<0,05).

Cabe señalar que este efecto de inmovilización por parte de la GRSP de elementos potencialmente tóxicos, como los MP, no es restrictiva del Cu, sino que igualmente ha sido descrita para Zn y otros MP (González-Chávez *et al.*, 2004; Chern *et al.*, 2007; Cornejo *et al.*,

2008c; Vodnik *et al.*, 2008). En este estudio, también se encontró resultados similares a los encontrados anteriormente en el caso del Cu para los contenidos de Zn en GRSP, los que se muestran en Figura 12. En este caso, las diferencias son más acusadas en algunos casos, pero los contenidos de Zn asociados a GRSP se encuentran en el rango de 6 a 20 ppm, que igualmente pueden representar una alta proporción de todo el Zn acumulado en el suelo.

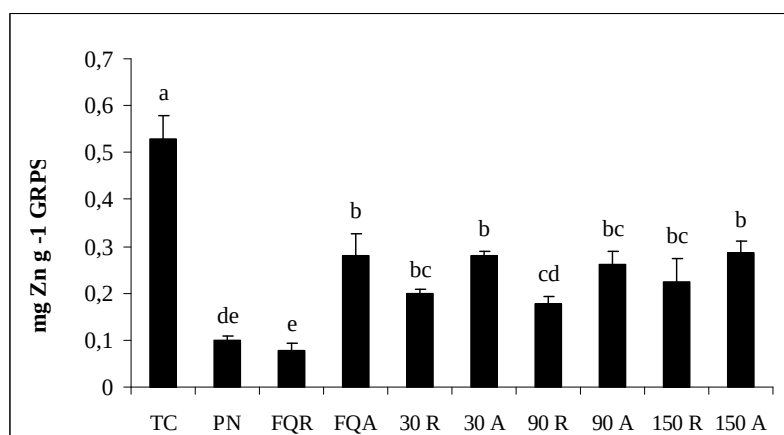


Figura 12. Zn asociado a GRSP en suelos cultivados con *Triticum aestivum*, y sometidos a distintos sistemas de fertilización y aplicación de biosólidos sobre un Andisol del sur de Chile. Convenciones para los tratamientos: testigo (TC), pradera natural (PN, representado por las especies naturales sin cultivo de trigo), fertilización química (FQ), dosis de aplicación de biosólidos de 30, 90 y 150 ton há⁻¹. Los tratamientos fueron aplicados de forma residual (R) sólo al principio del estudio, o bien de forma acumulativa (A), durante los tres años del estudio. Letras distintas indican diferencias significativas de las medias (Tukey P<0,05).

4.6.-Análisis de las relaciones establecidas entre los parámetros estudiados

El análisis factorial y de correlaciones bivariadas (Cuadro 3) permitió establecer la existencia de relaciones altamente significativas entre las variables estudiadas, así como la conformación de grupos altamente homogéneos entre los distintos tratamientos analizados. Entre otras asociaciones establecidas, destacan las directas que establece el pH con las disponibilidades de Cu y Zn, y la inversa que establece con la densidad de micelio. En condiciones normales la relación entre estos parámetros sería inversa, pero dado el elevado efecto alcalinizante del biosólido considerado, y los contenidos significativos de estos elementos en el mismo, la relación llega a ser fuertemente significativa y directa. Por otra parte, la disponibilidad de Cu y Zn en suelo se asocia inversamente, y de forma muy significativa, con las densidades de propágulos de

HMA en suelo (micelio y esporas), y que daría cuenta de un probable efecto deletéreo directo del aumento de estos contenidos sobre los propágulos de HMA indígenas de estos suelos, y no adaptados a contenidos relativamente elevados de estos elementos en la fracción disponible del suelo.

Cuadro 3. Matriz de correlaciones (r de Pearson) de las principales variables estudiadas y las componentes principales obtenidas.

Variables	Coloniz	Micelio	Esporas	Ext. Cu	Ext Zn	GRSP	Cu-GRSP	Zn-GRSP	CP1	CP2
pHw ¹	0.09	-0.79**	-0.45*	0.89**	0.83**	0.26	0.19	0.11	0.93**	-0.06
Coloniz. ²	-	-0.19	-0.58	-0.04	-0.05	0.12	0.15	-0.23	0.10	0.42*
Micelio ³		-	0.37*	-0.78**	-0.81**	-0.24	-0.35	0.14	-0.90**	-0.04
Esporas ⁴			-	-0.46**	-0.42*	-0.28	-0.13	0.14	-0.58**	-0.07
Ext. Cu ⁵				-	0.96**	0.15	0.06	0.00	0.94**	-0.27
Ext. Zn ⁶					-	0.08	0.11	-0.02	0.92**	-0.29
GRSP ⁷						-	0.40*	0.09	0.33	0.70**
Cu-GRSP ⁸							-	0.18	0.29	0.76**
Zn-GRSP ⁹								-	-0.02	0.20
CP1									-	0.00

Convenciones para significancia: * $p < 0.05$; ** $p < 0.01$.

¹pH en agua relación 2:5; ²Colonización micorrízico arbuscular (%); ³Densidad de micelio de HMA (m g^{-1}); ⁴Esporas de HMA (esporas 100 g^{-1}); ⁵Cu extraíble del suelo con DTPA ($\mu\text{g g}^{-1}$); ⁶Zn extraíble del suelo con DTPA ($\mu\text{g g}^{-1}$); ⁷Glomalina total (mg g^{-1}); ⁸Cu secuestrado en la GRSP (mg kg^{-1}); ⁹Zn secuestrado en la GRSP (mg kg^{-1}).

Fuente. Creada por autor

Las componentes principales (CP, ver Cuadro 3) obtenidas igualmente representan de forma altamente significativa relaciones con los parámetros analizados. Es así como CP1 se asocia de forma directa con el pH y las fracciones disponibles de Cu y Zn, e inversa con la densidad de micelio y esporas. Por su parte, CP2 se asocia de forma directa con los contenidos de GRSP y de Cu ligado a la GRSP. La disposición gráfica de las componentes se muestra en la Figura 13, para las distintas muestras analizadas. Se puede observar que la suma de la varianza experimental por parte de ambas componentes es prácticamente 60%, por lo que el agrupamiento de conglomerados realizado por el método de Ward puede representar muy bien el comportamiento global de los distintos tratamientos. En este sentido, se puede observar claramente que los tratamientos con altas dosis de biosólidos y aplicación acumulativa se disponen hacia los valores más positivos de CP1 (asociados con mayores aumentos de pH y Cu y Zn disponible). Sin

embargo, se estableció un grupo muy homogéneo dispuesto en el sentido contrario en CP1, asociado a mayores densidades de propágulos de HMA. Este grupo incluye la totalidad de muestras de PN, TC, FQR, 30 R, y dos muestras de 90 R.

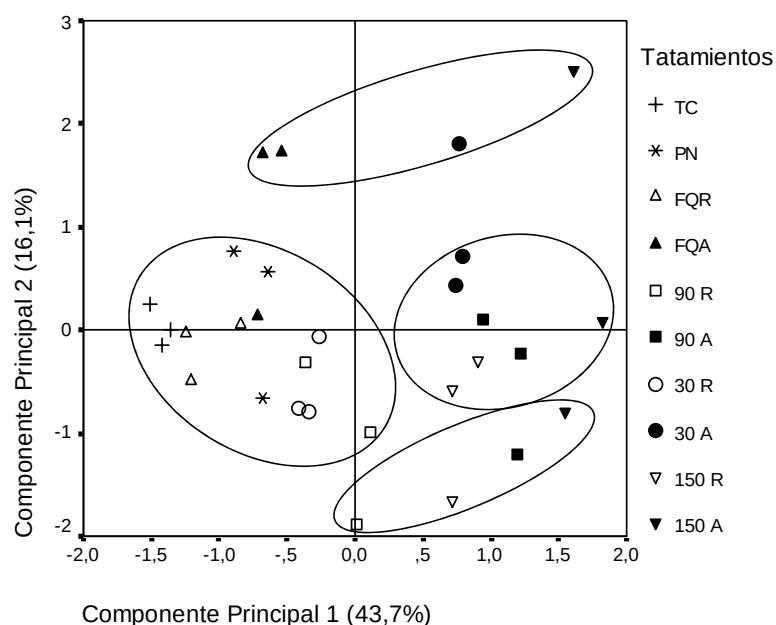


Figura 13. Diagrama de dispersión de las unidades experimentales según los componentes principales obtenidos por análisis factorial para las variables estudiadas. Los círculos agrupan unidades con alto grado de similitud de acuerdo al análisis de conglomerados (método de Ward), y deben entenderse como una ayuda visual para la discriminación de grupos.

Estos resultados demostrarían que la aplicación de biosólidos en dosis de 30, y probablemente hasta 90 ton há^{-1} , no generan un impacto significativamente deletéreo sobre los propágulos de HMA naturales del suelo estudiado, cuando son aplicados de forma residual con un periodo de carencia de al menos 3 años, como en este caso. Sin duda, el poder contar con información referente al efecto que la práctica agronómica de utilización de biosólidos como enmienda/fertilizante tiene sobre uno de los componentes bióticos más importantes de los agroecosistemas facilitará la correcta gestión posterior sobre el destino final de estos residuos. No obstante, se requiere mayor información, en especial en el largo plazo, que ayuden a corroborar que los efectos observados en este estudio a 3 años plazo son persistentes en el tiempo, y puedan permitir la re-incorporación de biosólidos de forma cíclica sobre un mismo suelo.

5. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos, y en base a la discusión desarrollada, es posible concluir que:

- La aplicación de cantidades crecientes de biosólidos, en especial de forma acumulativa, genera un significativo aumento de la fracción de Cu y Zn disponibles en el suelo debido a los contenidos de éstos metales en la enmienda utilizada.
- La densidad de propágulos de HMA en el suelo es altamente afectada por la aplicación de altas dosis de biosólido, produciéndose un fuerte descenso de esporas y micelio, en especial cuando la enmienda es aplicada de forma acumulativa.
- La determinación de glomalina en suelos enmendados con biosólidos resulta dificultosa probablemente por la inespecificidad de la técnica utilizada; no obstante, su presencia resulta una importante vía de inmovilización de Cu y Zn en el suelo, evitando que los aportes de éstos metales realizados en conjunto con el biosólido resulten fitotóxicos.
- Finalmente, es posible afirmar que en el suelo utilizado la aplicación de biosólidos en dosis comprendidas entre 30 y 90 ton ha⁻¹, incorporados con una frecuencia de tiempo de al menos 3 años, no producen un efecto significativamente perjudicial sobre las poblaciones de HMA ni sobre el aumento de elementos potencialmente fitotóxicos.

6. RESUMEN

La utilización de biosólidos obtenidos del tratamiento de aguas residuales como enmienda orgánica surge como alternativa de disposición final de las ingentes cantidades de biosólidos generados. Por esto, el objetivo de este estudio fue analizar el efecto de la aplicación de biosólidos de forma acumulativa (A) y residual (R), sobre el aumento de las fracciones disponibles de Cu y Zn, y las variaciones en la densidad de propágulos de HMA presentes de un Andisol para establecer las dosis y condiciones de aplicación de estos materiales al suelo. Para esto, se aplicó en superficie en un suelo Serie Cunco, el equivalente a 30, 90 y 150 ton ha⁻¹ de biosólido al comienzo de un cultivo de trigo, de forma R al comienzo del estudio, o bien de forma A, durante los 3 años de estudio. Estos tratamientos fueron comparados con una fertilización química (R y A), un testigo no enmendado ni fertilizado (T), y una pradera (PN) establecida en el mismo suelo, mostrando las condiciones normales de los propágulos de HMA. Los resultados mostraron una fuerte alcalinización (hasta 2 unidades de pH) y una mayor disponibilidad de Cu y Zn en el suelo a medida que aumentaban las dosis de aplicación de biosólidos, en particular en los tratamientos A (hasta 10 veces más en 150 A comparado con T o PN). Igualmente, se registró un significativo efecto de la aplicación de biosólidos sobre la densidad de propágulos de HMA, observándose un descenso de 91 % en las densidades de micelio fúngico y un 58 % en el número de esporas de HMA entre los tratamientos T y 150 A, respectivamente. Por su parte, la glomalina presentó mayores acumulaciones en los tratamientos A, en especial a las mayores dosis utilizadas, representando una importante vía de inmovilización de Cu y Zn en suelo. Estos resultados sugieren que la aplicación de biosólidos genera importantes cambios en las condiciones naturales de un suelo, incluso si se compara con suelos sometidos a métodos tradicionales de cultivo, particularmente sobre las densidades de propágulos de HMA, disminuyendo los efectos beneficiosos de la simbiosis micorrícica. Por tanto, su aplicación debiera ser controlada en cuanto a las dosis y frecuencias, de forma de minimizar el efecto deletéreo sobre este importante resorte agro-ecológico, como en el caso de este estudio, que demuestra que en ese suelo no se deben agregar más de 90 ton há⁻¹ de biosólidos, y con una frecuencia no menor a 3 años.

7. SUMMARY

The use of biosolids derived from sewage treatment as organic amendment is an alternative for final disposal for the high amounts of biosolids generated. Therefore, the aim of this study was to analyze the effect of applying cumulatively (A) and residual (R) biosolids, on increasing available fractions of Cu and Zn, and variations in the density of arbuscular mycorrhizal fungi (AMF) propagules present in a Andisol, to establish the doses and conditions of application of these materials to the soil. The equivalent to 30, 90 and 150 ton ha⁻¹ of biosolid amendment was surface applied on a Cunco series soil, when a wheat crop was beginning, applied in the R starting this study, and in the A form during the 3 years of study. These treatments were compared with chemical fertilization (R and A), and a control not amended nor fertilized (T), and a natural prairie (PN) established in the same soil, showing autochthonous conditions for AMF propagules. The results showed a strong alkalization (up to 2 pH units) and a higher Cu and Zn availability in the soil when biosolid application doses increased, particularly in A treatments (up to 10 times in 150 A compared with T or PN). Similarly, there was a significant effect of biosolids application on the density of AMF propagules, showing a decrease of 91% in the densities of fungal mycelium and 58% in the number of AMF spores between T and 150 A treatments, respectively. Meanwhile, glomalin showed higher accumulation in the A treatments, especially where higher doses were applied, representing an important way for immobilization of Cu and Zn in soil. These results suggest that application of biosolids generates significant changes in natural soil conditions, even when compared with soils under traditional farming methods, particularly on AMF propagules densities, reducing the beneficial effects of the mycorrhizal symbiosis. Therefore, the doses and frequencies of its application should be controlled, to minimize the deleterious effect on this important agro-ecological resource, as in the case of this study, which shows that more than 90 ton ha⁻¹ of biosolids should not be added on this soil and with a frequency not lower than 3 years.

8. LITERATURA CITADA

- Alcota, C.** 2002. Acondicionamiento de biosólidos mediante compostaje. Tesis para optar al Título de Ingeniero Civil. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. 175 p.
- Arriagada, C., Pereira, G. y Herrera, M.** 2001. Establecimiento de *Eucalyptus globulus* en suelos contaminados con metales pesados y recuperación de su flora microbiana. En: Actas III Congreso Forestal Español “Montes para la Sociedad del Nuevo Milenio”. Tomo IV. 6: 637-643. Granada. España.
- Arriagada, C.** 2002. El suelo y sus micorrizas. Apunte docente. Universidad de la Frontera. 7p.
- Arriagada, C., Herrera, M. and Ocampo, J.** 2007. Beneficial effect of saprobe and arbuscular mycorrhizal fungi on growth of *Eucalyptus globulus* co-cultured with *Glycine max* in soil contaminated with heavy metals. Journal of Environmental Management. 84: 93-99
- Baraño, P. and Tapia, L.** 2004. Tratamiento de las aguas servidas: Situación en Chile. Domestic wastewater treatment: the chilean situation. Ciencia & Trabajo (Chile) 6(13): 111-117
- Barón, L.** 2005. Aguas residuales. <http://www.monografias.com/trabajos11/agres/agres.shtml>. Visitada el 15 de Mayo de 2010
- Bolletta, A., Venanzi, S. y Krüger, H.** 2002. Respuestas de un cultivo de avena en siembra directa a la fertilización química y biológica en un ambiente marginal. Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria. Estación Experimental Agropecuaria Bordenave. Buenos Aires, Argentina. 10 p.
- Borie, F., Rubio, R., Morales, A. y Castillo, C.** 2000. Relación entre densidad de hifas de hongos micorrizógenos arbusculares y producción de glomalina con las características físicas y químicas de suelos bajo cero labranza. Revista Chilena de Historia Natural. 73: 749-756p
- Borie, F., Redel, Y., Rubio, R., Rouanet, J.L. and Barea, J.M.** 2002. Interactions between crop residues application and mycorrhizal developments and some soil root interface properties and mineral acquisition by plants in an acidic soil. Biology and Fertility of Soils 36: 159.p
- Borie, F., Rubio, R. y Schalchli, C.** 1998. Micorrizas arbusculares y actividad fosfatásica de 10 cultivares de trigo. Agricultura Técnica 58: 47-55.

- Borie, F. y Rubio, R.** 1999. Effects of arbuscular mycorrhizae and liming on growth and mineral acquisition of aluminium-tolerant and aluminium-sensitive barley cultivars. *Journal of Plant Nutrition*. 22: 121-137p
- Bradfield, E. y Spencer, D.** 1965. Leaf analysis as a guide to the nutrition of fruit crops: Determination of manganese, zinc and copper by atomic absorption spectroscopy. *Journal Science in Food and Agriculture*. 16:33-38.
- Briceño, M.** 2007. Efecto de la adición de lodos como fuente de materia orgánica sobre las propiedades físicas (conductividad hidráulica) y la distribución de nutrientes (P,N) y contaminantes (B, As y Zn) en suelos afectados por sales en la provincia de Iquique. Simposio Internacional de Lodos: Usos Benéficos. Instituto del Medio Ambiente. Universidad de la Frontera. Temuco. Chile. 14p.
- Brundrett, M., Bougher, N., Dell, B., Grove, T. y Malajczuk, N.** 1996. Working with mycorrhizas in forestry and agriculture. Australian Centre for International Agriculture Research. 375 p.
- Bustamante, M.,** 1999. Diseño conceptual de la disposición de lodos y biosólidos provenientes de plantas de tratamiento de aguas servidas. Tesis para optar al Título de Ingeniero Civil Químico. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. Chile. 42p.
- Buttler, T.J., and P.M. Muir.** 2006. Dairy manure compost improves soil and increase tall wheatgrass yield. *Agron. J.* 98:1090-1096.
- Cabrera, N.** 1994. Estado de las Aguas Continentales y Marinas de Chile. CONAMA. 20 p.
- Callejas, A.** 2005. Precompostaje de lodos biológicos como potencial sustrato para el cultivo de lombrices. Tesis Ingeniero Ambiental. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de la Frontera. Temuco. Chile. 56p.
- Castillo, C., R. Rubio, A. Contreras, y F. Borie.** 2004. Hongos micorrizógenos arbusculares en un Ultisol de la IX Región fertilizado orgánicamente. *Revista de la Ciencia del Suelo y la Nutrición Vegetal*. 4(2):39-47.
- Castillo, C., Rubio, R., Rouanet J.L. y Borie, F.** 2006. Early effects of tillage and crop rotation on arbuscular mycorrhizal fungal propagules in an ultisol. *Biology and Fertility of Soils*. 43. 84 p.
- Castillo, C.** 2005. Biodiversidad y efectividad de hongos micorrícicos arbusculares en ecosistemas agro-forestales del centro sur de Chile. Tesis Doctoral. Universidad de la Frontera. Temuco, Chile. 124 p.

- Celis, J., Sandoval, M., Zagal, E. y Briones, M.** 2006. Effect of sewage sludge and salmon wastes applied to a Patagonian soil on lettuce (*Lactuca sativa* L.) germination. *Nutrición Vegetal*. 6 (3). 22p.
- Cogger, C., Sullivan, P., Henry, C. and Dorsey, K.** 2000. Biosolids Management Guidelines for Washington State. Washington State Department of Ecology. 235p.
- CONAMA.** 2001. Reglamento para el manejo de lodos no peligrosos generados en plantas de tratamiento de aguas. 20 - 24 p.
- Concha, M.** 1996. Efecto del agua residual tratada y de lodos provenientes de tratamientos de aguas residuales de la industria de proceso de la madera, sobre el crecimiento vegetativo de trigo. Tesis Ingeniero Agrónomo. Facultad de Cs. Agropecuarias y Forestales. Universidad de la Frontera. Temuco. Chile. 124p
- Cornejo, P.** 2006. Influencia de la cobertura vegetal sobre la diversidad y estructura de las comunidades de hongos micorrícicos y sus efectos en la estabilización de suelos degradados. Tesis doctoral. Universidad de Granada. España. 266 p.
- Cornejo, P., Borie, F., Rubio, R. y Azcón, R.** 2007. Influence of nitrogen source on the viability, functionality and persistence of *Glomus etunicatum* fungal propagules in an Andisol. *Applied Soil Ecology*. 35(2) 430.p
- Cornejo, P., Rubio, R. Castillo, C., Azcón, R. and Borie, F.** 2008a. Mycorrhizal Effectiveness on Wheat Nutrient Acquisition in an Acidic Soil from Southern Chile as Affected by Nitrogen Sources. *Journal of Plant Nutrition*, 31: 1555–1569.p
- Cornejo, P., Rubio, R. and Borie, F.** 2008b. Effect of Nitrogen Source on some Rhizospheric properties and persistence of Mycorrhizal fungal propagules in an Andisol. *Chilean Journal Of Agricultural Research*, vol. 68, No. 2, abril-junio, 2008, pp. 119-127.p
- Cornejo, P., Meier, S., Borie, G., Rillig, C. and Borie, F.** 2008c. Glomalin – related soil protein in a Mediterranean ecosystem affected by a copper smelter and its contribution to Cu and Zn sequestration. *Science of the Total Environment* 406. 154–160.p
- Cornejo, P., Rubio, R. y Borie, F.** 2009. Mycorrhizal propagule persistence in a sucesión of cereals in a disturbed and undisturbed Andisol fertilized with two nitrogen sources. *Chilean Journal of Agricultural Research*. 69 (3). 428-432.p
- Cortés, E.** 2003. Fundamentos de ingeniería para el tratamiento de biosólidos generados por la depuración de aguas servidas de la región Metropolitana. Tesis de Ingeniero Civil. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. 102p.
- Coyne, M.** 2000. Microbiología del Suelo: un enfoque exploratorio. Editorial Paraninfo. Madrid. España. 416 p.

- Cuenca, G., Cáceres, A., Oirdobro, G., Hasmy, Z. y Urdaneta, C.** 2007. Las micorrizas arbusculares como alternativa para una agricultura sustentable en áreas tropicales. *Interciencia*, enero año/vol. 32, número 001. Asociación interciencias. Caracas, Venezuela. 24 p.
- Chern, E.C., Tsai, D.W. y Ogunseitan, O.A.** Deposition of glomalin-related soil protein and sequestered toxic metals into watersheds. *Environmental Science & Technology* (2007;41:3566–72.
- Decreto Supremo, Subsecretaría General de La Presidencia.** 2009. Reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de Tratamiento de Aguas Servidas. Diario Oficial de La República de Chile, edición 28 de octubre de 2009. Ministerio secretaría General de La Presidencia, Gobierno de Chile, Santiago, Chile. pp. 11-11.
- Del Val, C.** 1999. Diversidad de hongos formadores de micorrizas arbusculares en suelos contaminados con metales pesados. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. España. 230 p.
- Gerdemann, J. y Nicholson T.** 1963. Spores of mycorrhizal endogone species extracted from soil by wed sieving. *Transactions of the British Mycological Society.* 46:234-235.
- Giovanetti, M., Mosse, B.** 1980. An evaluation of techniques for measuring vesicular-arbuscular mycorrhizal infection in roots. *Home New Phytologist.* 84, 489-500.
- González-Chávez M, Carrillo-González R, Wright S, Nichols K.** The role of glomalin, a protein produced by arbuscular mycorrhizal fungi, in sequestering potentially toxic elements. *Environmental Pollution* 2004;130:317–23.
- Harley, J. y Smith, S.** 1983. Mycorrhizal symbiosis. Academic press. London .463 p.
- Hernandez-Apaolaza, L. and Gerrero, F.** 2008. Comparison between pine bark and coconut husk sorption capacity of metals and nitrate when mixed with sewage sludge. *Bioresource Technology.* 99 1544–1548p
- Honrubia, M., Torres, P., Díaz, G. y Morte, A.** 1995. Biotecnología Forestal: Técnicas de micorrización y micropropagación de plantas. Secretariado de Publicaciones. Universidad de Murcia. España. 6 p.
- Janos, D.P., Garamszegi, S. y Beltran, B.** 2008. Glomalin extraction and measurement. *SOIL Biology & Biochemistry* Volume: 40 Issue: 3 728-739p
- Joao, J.** 2002. “Efectividad de la inoculación de cepas de HMA en la producción de posturas de cafeto sobre suelo Ferralítico Rojo compactado y Ferralítico Rojo lixiviado de montaña”. La Habana, Cuba. 10 p.

- Le Tacon, F., Mousain, D., Garbaye J., Bouchard, D., Churin, J.L., Argillier, C., Amirault, J.M. y Genere, B.** 1997. Mycorrhizes, pépinières et plantations forestières en France. *Revue Forestière Française*. 49: 131-154.
- Lepe, A. y Coronado, J.** 2003. "Caracterización y tipología de lodos". Actas de XV Congreso de Ingeniería Sanitaria y Ambiental, AIDIS. Concepción, Chile.
- Marambio, C. y Ortega, R.** 2003. Informe "Uso potencial de lodos derivados del tratamiento de aguas servidas en la producción de cultivos en Chile". *Revista Agronomía y Forestal UC*. 20: 20-23.
- McGonigle, T.P., Evans, D.G. , Miller, M.H.,** 1990 Effect of negree of soil disturbance on mycorrhizal colonization and phosphorus absorption by maize in growth chamber and field experiments. *New Phytologist*. 116, 629-636.
- Morales A, CG Castillo, R Rubio, F Borie, JL Rouanet.** 2005. Niveles de glomalina en suelos de dos ecosistemas del sur de Chile. *Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal*. 5(1): 37-45.
- Morton, J.B y Benny, G.L.** 1990. Revised classification of arbuscular mycorrhizal fungi (Zygomycetes) a new order, Glomales, two new soborders, Glominae and Gigasporinae, and two families, Acaulosporaceae and Gigasporaceae, with an emendation of Glomaceae. *Mycotaxon*. 37: 471-491.
- Nannig, J.** 2001. Modelación de lodos activados por aireación extendida. Tesis para optar al Título de Ingeniero Civil. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas. 142p.
- Newman, E.I.** 1966. A method of estimating the total length of root in a sample. *Journal of Applied Ecology*. 3: 139.
- Núñez, M., Millar, D., Lara, V., Riquelme, A., Barahona, J., Alvear, M. y Salazar, I.** 2007. Efecto benéfico en algunas propiedades físicas, químicas y biológicas de un andisol por efecto de la adición de diferentes dosis de lodos procedentes de una planta de tratamiento de aguas servidas, en una siembra primaveral tardía de trigo. Simposio Internacional de Lodos: Usos Benéficos. Instituto del Medio Ambiente. Universidad de la Frontera. Temuco. Chile. 14p.
- Oehf, F., Sieverding, E., Mäder, P., Dubois, D., Ineichen, K., Boller, T. y Wiemken, A.** 2004. Impact of long-term conventional and organic farming on the diversity of arbuscular mycorrhizal fungi. *Ecosystem Ecology. Oecologia*. 138. 575 p.
- Orrego, J.** 2002. El Estado de las Aguas Terrestres en Chile: Cursos y Aguas Subterráneas. Fundación TERRAM. Santiago. Chile. 69 p.

- Oudeh, M., Khan, M. and Scullion, J.** 2002. Plant accumulation of potentially toxic elements in sewage sludge as affected by soil organic matter level and mycorrhizal fungi. *Environmental Pollution*. 116: 293-300.
- Pascual, I., Antolín, M., García, P., Polo, A. and Sánchez, M.** 2007. Effect of water deficit on microbial characteristics in soil attended with sewage sludge or inorganic fertilizer under laboratory conditions. *Bioresourse Technology*. 98: 29-37.
- Phillips, J.M. y Hayman, D.S.** 1970. Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular-arbuscular mycorrhizal potential in a desertified ecosystem. *Applied and Environmental Microbiology*. 55, 158-161.
- Poirrier, P. y Chamy, R.** 1996. El camino de los lodos. *Induambiente (Chile)*. 4 (21): 66-72
- Polo, A.** 2007. Simposio Internacional de Lodos: Usos Benéficos. Charla Magistral. Instituto del Medio Ambiente. 29-30 de Marzo de 2007. Universidad de la Frontera. Temuco. Chile.
- Quezada, M.** 2007. Proyecto de Ingeniería para el tratamiento y disposición de lodos de plantas de tratamiento de aguas servidas en la Isla de Chiloé. Tesis Ingeniero Ambiental. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de la Frontera. Temuco, Chile. 100 p.
- Ramos-Zapata, J. y Guadarrama, P.** 2004. Los hongos micorrizógenos arbusculares en la restauración de comunidades tropicales. *Arbuscular mycorrhizal fungi in tropical forest restoration*. Universidad y Ciencia. Número especial 1. 59-65
- Redel, Y., Rubio, R. y Borie.** 2005. Efecto de la Adición de Residuos de Cosecha y de un Hongo Micorrizógeno Sobre el Crecimiento Trigo y Parámetros Químicos y Biológicos de un Andisol. *Agricultura Técnica*. v.66 n.2. Chillán, Chile. 175 p.
- Rillig, M.C. y Steinberg, P.D.** 2002. Glomalin production by an arbuscular mycorrhizal fungus: a mechanism of habitat modification *Soil Biology & Biochemistry* Volume: 34 Issue: 9 1371-1374p
- Rivas, C.** 2005. Estabilización de lodo proveniente de la planta de tratamiento de aguas servidas de la ciudad de Vilcún, mediante el proceso de compostaje. Tesis Ingeniero Civil Industrial Mención Agroindustrias. Departamento de Ciencias Químicas. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de la Frontera. Temuco, Chile. 95 p.
- Rodríguez, M.** 2007. Higienización de lodos de digestión anaerobia de la Planta de Tratamiento de Aguas Servidas de la ciudad de Osorno mediante el proceso de compostaje. Tesis Ingeniero Ambiental. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de la Frontera. Temuco, Chile. 75p.

- Román, F.** 2003. Concentración de reguladores del desarrollo vegetal inducido por hongos endomicorrícicos en dos cultivares de Chile. Tesis Doctoral. Universidad de Colima. México. 321 p.
- Rubio, R., Borie, F., Schalchli, C., Castillo, C., Azcón, R.** 2003. Occurrence and effect of arbuscular mycorrhizal propagules in wheat as affected by the source and amount of phosphorus fertilizer and fungal inoculation. *Applied Soil Ecology*. 23: 247.
- Rubio, R., Borie, F., Schachli, C., Castillo, C. y Azcon, R.** 2002. Plant growth responses in natural acidic soil as affected by arbuscular mycorrhizal inoculation and phosphorous sources. *Journal and plant nutrition*. 25(7), 1389-1405
- SAG.** 2007. Servicio Agrícola y Ganadero. <http://www.sag.cl> Visitada el 2 de Mayo de 2010
- Salazar, I.** 2007. Simposio Internacional de Lodos: Usos Benéficos. Instituto del Medio Ambiente. Charla Inaugural. Universidad de la Frontera. Temuco. Chile.
- Sampedro, I.** 2005. Disminución de la toxicidad del alpeorajo seco y extractado por hongos saprobios y arbusculares. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias. Universidad de Granada. España. 256 p.
- Sánchez-Monedero, M.A, Mondini, C., de Nobili, M., Leita, L., Roig, A.** 2004
Land application of biosolids. Soil response to different stabilization degree of the treated organic matter. *Waste Management*. 24 (4): 325-332
- Sanhueza, N.** 2003. Beneficios del plan de saneamiento de las aguas servidas de la s cuencas Maipo – Mapocho: Aplicación de los conceptos de valor económico total y sistema ambiental. Tesis Biólogo Ambiental. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 119 p.
- Seguel, A., Rubio, R., Carrillo, R., Espinosa, A. y Borie, F.** 2002. Niveles de glomalina y su relación con características químicas y biológicas del suelo (andisol) en un relicto de bosque nativo del sur de Chile. *Bosque*.29(1): 20p.
- Serralde, A. y Ramírez, M.** 2004. Análisis de poblaciones de micorrizas en maíz (*Zea mays*) cultivado en suelos ácidos bajo diferentes tratamientos agronómicos. *Revista Corpoica*. 5: 31-40.
- SISS.** 2005. Superintendencia de Servicios Sanitarios. <http://www.siss.cl> Visitada el 25 julio de 2010
- SISS.** 2009. Superintendencia de Servicios Sanitarios. <http://www.siss.cl> Visitada el 7 septiembre de 2010
- Smith, S. E. y Read, D. J.** 2008. Mycorrhizal symbiosis. 2nd Edn. Academic, London. 605 p.

- Smith, S. y Read, D.** 1997. Mycorrhizal Symbiosis, 2nd edn. Academic, San Diego.
- Steubing, L., Godoy, R. y Alberdi, M.** 2001. Métodos de Ecología Vegetal. Primera Edición. Editorial Universitaria. Santiago. Chile. 345 p.
- Strasburger, C., Noll, F., Schenck, H. y Schimper, A.** 1994. Tratado de Botánica. Ediciones Omega. Octava edición en español. 1070 p.
- Strasburger, C., Noll, F., Schenck, H. y Schimper, A.** 2004. Tratado de Botánica. Ediciones Omega. 35° edición en español. 500-502 p.
- Sylvia, D. M.** 1998. Mycorrhizal symbioses. En: Sylvia, D. M., Fuhrmann, J. J., Hartel, P. G. and Zuberer, D. A. (eds). Principles and applications of soil microbiology. Prentice Hall, Upper Saddle River, New Jersey, USA. p. 408-426
- Toro, F.** 2005. Áreas Potenciales para la aplicación de Biosólidos en Plantaciones Forestales de la VI región de Chile. Memoria de Ingeniero Forestal. Facultad de Ciencias Forestales. Universidad de Chile. 74p.
- Valarini, P., Curaqueo, G., Seguel, A., Manzano, K., Rubio, R., Cornejo, P. and Borie, F.** 2009. Effect of compost application on some properties of a volcanic soil from central south chile. Chilean Journal of Agricultural Research. 418 – 419 p.
- Villanueva, C.** 2007. Valorización del compost, elaborado con los lodos biológicos de plantas de tratamiento de aguas servidas de ESSBIO S.A., mediante lombricompostaje. Tesis Ingeniero Ambiental. Facultad de Ingeniería, Ciencias y Administración. Universidad de La Frontera. Temuco, Chile. 90 p.
- Vodnik D, Grčman H, Maček I, van Elteren JT, Kovačević M.** The contribution of glomalin-related soil protein to Pb and Zn sequestration in polluted soil. Science of the Total Environment 2008;392:130–6.
- Walker, C. y Schübler, A.** 2004. Nomenclatural clarifications and new taxa in the Glomeromycota *pacispora*. Mycological Research 108 (9). 981-982p
- Wright, S. y Upadhyaya, A.** 1996. Extraction of an abundant and unusual proteína from soli and comparison with hyphal proteinn of arbuscular mycorrhizal fungi. Soil Science.161:575-586
- Wright, S. y Upadhyaya, A.** 1998. A survey of soils for aggregate stability and glomalin, a glycoprotein produced by hyphae of arbuscular mycorrhizal fungi. Plant and Soil 198:97-107.
- Yu, T., Egger, K:N. and Peterson, R:L:** 2001. Ectendomycorrhizal associations characteristics and functions. Mycorrhiza 11: 167-177.

Zhang , G., Yang, J., Liu, H., Zhang, J. 2009. Sludge ozonation: Disintegration, supernatant changes and mechanisms. *Bioresource Technology* 100: 1505-1509.