UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES

EFECTO ACUMULATIVO Y RESIDUAL DE TRES DOSIS DE BIOSÓLIDOS PROVENIENTES DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTOS DE AGUAS SERVIDAS SOBRE ALGUNOS PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE UN SUELO ANDISOL DE LA REGIÓN DE LA ARAUCANÍA.

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.

JESSICA IVETTE GONZALEZ CALFUMIL
TEMUCO – CHILE
2010

UNIVERSIDAD DE LA FRONTERA
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y FORESTALES

EFECTO ACUMULATIVO Y RESIDUAL DE TRES DOSIS DE BIOSÓLIDOS PROVENIENTES DE UNA PLANTA DE TRATAMIENTOS DE AGUAS SERVIDAS SOBRE ALGUNOS PARÁMETROS BIOLÓGICOS DE UN SUELO ANDISOL DE LA REGIÓN DE LA ARAUCANÍA.

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.

JESSICA IVETTE GONZALEZ CALFUMIL
MARYSOL ALVEAR ZAMORA
TEMUCO – CHILE
2010

Efecto acumulativo y residual de tres dosis de biosólidos provenientes de una planta de tratamientos de aguas servidas sobre algunos parámetros biológicos de un suelo Andisol de la región de La Araucanía.

PROFESOR GUIA : MARYSOL ALVEAR ZAMORA
Bioquímico
Doctor en Química
Departamento Cs. Químicas y Recursos Naturales

PROFESORES CONSEJEROS : JORGE BARAONA VENEGAS
Ingeniero Agrónomo
Magister en Ciencias Agropecuarias
Depto. Cs Agronómicas y Recursos Naturales

CALIFICACION PROMEDIO TESIS :

DEDICATORIA

Al Creador.

Mi madre, Erica
por su lucha, amor y apoyo incondicional.

Mis abuelos, Juan y Esterlinda
por sus enseñanzas y
compartir inolvidables experiencias
de sus vidas.

Y mi hijo, Felipe
por llenar de alegría y luz mi vida.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar agradezco a Dios por darme la posibilidad de tener una carrera profesional, entregarme inteligencia y salud día a día, para lograr mis objetivos.

Agradezco a la Dra Marysol Alvear, quien me dio la oportunidad de realizar mi tesis, por el apoyo en todo momento, su amistad, confianza y compartir sus experiencias de vida dejando enseñanzas valiosas, además de haber contribuido de manera significativa en mi formación profesional y personal.

A los profesores Jorge Baraona e Itiliar Salazar, por su apoyo, confianza y ayuda en esta investigación sobre todo en el trabajo en terreno.

A mis compañeros de Laboratorio de Bioquímica de Suelos, Alexis Lillo y Francisco Reyes a quienes agradezco su comprensión y apoyo en la realización de mi tesis.

A mi madre por su apoyo incondicional y esfuerzo para entregarme todas las herramientas necesarias para ser una profesional.

A mi familia, a mi tía Alejandra por su apoyo y consejos, mis tíos Alan y en especial Fidel por su apoyo económico y confianza.

En especial a mis padrinos, Hilda y José por ser unos padres con su apoyo incondicional en todo momento, desde mi niñez hasta mi formación profesional y dejarme ser parte de su maravillosa familia.

A mis compañeros, en especial a Macarena por su preocupación y apoyo en la realización de mi tesis, además de los años compartidos junto con Carolina, Alexandra y Leyla, agradeciendo profundamente que siempre me hayan brindado su fiel e incondicional amistad en los buenos y no tan buenos momentos compartidos.

INDICE

Capítulo		Página
1	**INTRODUCCION**	1
2	**REVISION BIBLIOGRAFICA**	4
2.1	Suelo y concepto de “Calidad de suelo”	4
2.1.1	Indicadores para la calidad del suelo	5
2.2	Suelos Andisoles	6
2.3	La materia orgánica en el suelo	7
2.4	Biomasa microbiana	8
2.5	Parámetros biológicos del suelo	9
2.5.1	Parámetros generales	10
2.5.1.1	Carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana	10
2.5.1.2	Hidrólisis de la Fluoresceína diacetato	11
2.5.2	Actividad enzimática del suelo	12
2.5.2.1	Fosfatasa ácida	12
2.5.2.2	β-glucosidasa	13
2.5.2.3	Ureasa	13
2.5.2.4	Arilsulfatasa	14
2.5.2.5	Carboximetilcelulasa	14
2.6	Parámetros físicos del suelo	14
2.6.1	Agregado estables al agua	14
2.7	Situación del tratamiento de aguas servidas	15
2.7.1	Antecedentes generales de plantas tratamientos de aguas servidas	16
2.7.2	Tratamientos de aguas servidas	17
2.7.2.1	Pretratamiento	17
2.7.2.2	Tratamiento Primario de las aguas	17
2.7.2.3	Tratamiento Secundario de las aguas	18
2.7.2.4	Tratamiento Terciario o Avanzado de las aguas	18

2.8	Definición de lodos y biosólidos	19
2.8.1	Composición de biosólidos	19
2.8.2	Tratamientos del lodo	20
2.8.2.1	Proceso Químico	21
2.8.3	Disposición de biosólidos	21
2.9	Utilización de lodos en suelos agrícolas y forestales	23
3	**MATERIALES Y METODOS**	26
3.1	Ubicación del ensayo	26
3.1.1	Suelo	26
3.2	Características del biosólido	26
3.3	Manejo del ensayo	27
3.3.1	Preparación del suelo	27
3.3.2	Aplicación del biosólido	27
3.3.3	Siembra	27
3.3.4	Control de malezas	27
3.3.5	Cosecha	28
3.4	Tratamientos	28
3.5	Sistema de evaluación	28
3.5.1	Muestreo	29
3.5.2	Determinación parámetros generales	29
3.5.2.1	Determinación del carbono y nitrógeno biomásico	29
3.5.2.2	Determinación de la hidrólisis de fluoresceína diacetato	30
3.5.3	Determinación parámetros específicos	30
3.5.3.1	Determinación de la actividad Ureasa	30
3.5.3.2	Determinación de la actividad Arilsulfatasa	30
3.5.3.3	Determinación de la actividad Carboximetilcelulasa.	31
3.5.3.4	Determinación de la actividad Fosfatasa ácida	31
3.5.3.5	Determinación de la actividad β-glucosidasa	31
3.5.3.6	Determinación de estabilidad de los agregados	32

3.5.4	Determinación de la humedad del suelo	32
3.6	Diseño experimental	33
4	**PRESENTACION Y DISCUSION DE RESULTADOS**	34
4.1	Análisis químico del suelo	34
4.2	Parámetros generales	36
4.2.1	Carbono Biomásico	36
4.2.2	Nitrógeno Biomásico	40
4.2.3	Hidrólisis de la Fluoresceína Diacetato	44
4.3	Actividades biológicas y agregados estables al agua	48
4.3.1	Actividad Ureasa	48
4.3.2	Actividad Carboximetilcelulasa	52
4.3.3	Actividad β-glucosidasa	54
4.3.4	Actividad Fosfatasa ácida	58
4.3.5	Actividad Arilsulfatasa	61
4.3.6	Estabilidad de los agregados	64
5	**CONCLUSIONES**	67
6	**RESUMEN**	68
7	**SUMMARY**	69
8	**LITERATURA CITADA**	70
9	**ANEXOS**	79

1. INTRODUCCION

En Chile se han construido a lo largo del país Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas (PTAS) con el fin de purificar las aguas antes de verterlas a los cursos de aguas, las cuales generan como producto final lodos o biosólidos. La calidad de éstos depende del diseño de la planta procesadora, del tipo de agua residual y del clima, caracterizándose por tener un alto contenido de materia orgánica (MO), macro y micronutrientes, además de presentar agentes patógenos y metales pesados.

En la Región de La Araucanía, hasta febrero del año 2009 se habían construido 33 PTAS con diferentes sistemas de tratamiento, generándose una gran cantidad de lodos en la región. Estos lodos pueden tener como destino final la incineración o la disposición en rellenos sanitarios lo que al final puede generar una práctica no sustentable al medio ambiente. En países desarrollados la reutilización de los lodos mediante la incorporación al suelo como un potencial mejorador de éste, es una práctica aceptada. En Chile, es una práctica poco conocida, los lodos podrían ser un valioso recurso que puede convertirse útil si se somete a tratamientos medioambientales justificados. Como alternativa de uso o como segunda materia prima justificada los estudios que analizan la viabilidad de reevaluación de estos materiales. Es evidente que para evaluar algunas de las alternativas se hace necesaria una caracterización de estos productos, dado que su origen y composición pueden coordinar su aplicación.

Los lodos deben cumplir algunas normas para ser valorizado agronómicamente. Una de estas condiciones es la estabilización de lodos, la cual consiste en incorporar al lodo un producto alcalino, para mantenerlo a pH 12, con el objetivo de detener la degradación de la MO y evitar agentes patógenos y malos olores.

Si bien, la incorporación de lodos al suelo puede traer beneficios, se debe de tener en cuenta los efectos acumulativos y residuales sobre la biomasa microbiana y actividades enzimáticas en el tiempo, las dosis favorables para el suelo, sin provocar éstas efectos al sistema suelo-planta mediante un desarrollo sostenible.

En la Región de La Araucanía un gran porcentaje de suelo presenta algún grado de erosión, producto de la actividad agrícola, por esto que la alternativa de los lodos como un mejorador de suelo, aumentando el contenido de MO o como fertilizante entregando nutrientes necesarios para la planta, debe de ser evaluada para obtener información considerando las condiciones medioambientales de la región.

Considerando la calidad del suelo como la capacidad de este para funcionar equilibradamente en un ecosistema, manteniéndose la biodiversidad y desarrollo adecuado de las plantas y animales. El estado de las propiedades dinámicas del suelo como contenido de MO, diversidad de organismos, o productos microbianos en un tiempo particular constituye la salud del suelo.

Las actividades biológicas originadas por la biomasa microbiana son indicadores de calidad de suelo que poseen una elevada sensibilidad a los cambios temporales y tempranos de éste, generados por factores medioambientales y de manejo.

Al considerar los posibles efectos que se obtendrían producto de la aplicación de biosólidos sobre el suelo, la hipótesis de trabajo plantea un efecto benéfico a largo plazo sobre el medio edáfico principalmente en los parámetros biológicos, favoreciendo en gran medida la actividad microbiana.

Como objetivos se plantean:

Objetivo general:

- Evaluar el efecto acumulativo y residual de la aplicación de tres dosis de biosólidos sobre algunos parámetros biológicos de un suelo Andisol, de la comuna de Cunco.

Objetivos específicos:

- Evaluar los parámetros biológicos generales mediante la cuantificación de: hidrólisis de la fluoresceína diacetato (FDA), carbono de la biomasa microbiana (CBM) y nitrógeno de la biomasa microbiana (NBM) del suelo tratado con biosólidos al tercer año de aplicación.

- Evaluar los parámetros específicos mediante la cuantificación de las siguientes actividades enzimáticas: ureasa, carboximetil-celulasa (CMC-asa), β-glucosidasa (β-gluco), fosfatasa ácida (P-asa) y arilsulfatasa (Aril) del suelo tratado con biosólidos al tercer año de aplicación.

- Evaluar la estabilidad de los agregados del suelo tratado con biosólidos al tercer año de aplicación.

2. REVISION BIBLIOGRAFICA

2.1 Suelo y concepto de "Calidad de suelo"

El suelo es un sistema vivo, dinámico y no renovable, cuya condición y funcionamiento es clave para la producción de alimentos y para el mantenimiento de la calidad ambiental a escalas local, regional y global. No sólo es la base para la agricultura y para los diferentes ecosistemas, sino que además de él depende toda la vida del planeta (Ochoa *et al*., 2007).

El desarrollo de prácticas agrícolas no sostenibles ha repercutido negativamente en el suelo, donde suceden etapas esenciales del ciclado de nutrientes y del agua (Cerón y Melgarejo, 2005). También han generado una pérdida total o parcial de la capacidad productiva del suelo, tanto para su utilización presente como futura, lo que se debe fundamentalmente a procesos como: erosión, sedimentación, anegamiento, salinización y alcalinización, contaminación química por el uso indiscriminado de fertilizantes, herbicidas, plaguicidas y otros productos, el uso inadecuado del recurso y finalmente, la desertificación (Pengue, 2005).

El Comité de la Sociedad de la Ciencia del Suelo Americana define la calidad del suelo como "la capacidad funcional de un determinado tipo de suelo, para sustentar la productividad animal o vegetal, mantener o mejorar la calidad del agua y el aire, y sostener el asentamiento y salud humana, con límites ecosistémicos naturales o determinados por el manejo" (Acevedo *et al*., 2005) así, los cambios de uso y prácticas agrícolas influirán en la calidad del suelo. Sin embargo, debido a la gran heterogeneidad de las propiedades del suelo no existe una sola medida biológica o físico- química para determinar el estado de calidad del suelo (Ochoa *et al*., 2007).

Una manera común de revertir la degradación de la calidad del suelo es mediante el uso de enmiendas orgánicas, que permiten la restauración del contenido de MO del suelo beneficiando sus características físicas, químicas y funciones biológicas de este (Fernández *et al.*, 2009). La disposición de lodos en suelos degradados o erosionados es una buena alternativa para Chile, considerando que en nuestro país 46 % del suelo agrícola presenta erosión en tres niveles: seria, moderada y suave.

2.1.1 Indicadores para la calidad del suelo

Recientemente, y consciente del deterioro del suelo, se ha incrementado el interés por encontrar una medida para evaluar la calidad del suelo. Los parámetros útiles para medir el estado en que se encuentra un suelo se denominan indicadores. Los indicadores deberán de incluir parámetros físicos químicos y biológicos. La evaluación de la calidad de un suelo debe valorar y explicar los cambios sucedidos en el suelo en el espacio y en el tiempo, a través de parámetros que valoran el cumplimiento de sus funciones (Mariscal, 2008).

Según el Departamento de Servicios de Conservación de los Recursos Naturales (NRCS) de Estados Unidos, los indicadores deben de cumplir las siguientes condiciones: a) fácilmente medibles; b) Medir los cambios en las funciones del suelo; c) abarcar las propiedades físicas, químicas y biológicas del suelo; d) ser accesibles a los evaluadores y aplicables en condiciones de campo; y e) ser sensibles a las variaciones climáticas y de manejo.

Los microorganismos del suelo son bioindicadores sensibles para detectar la degradación de los ecosistemas, su actividad en particular se resiente, incluso, ante cambios o perturbaciones físicas y químicas leves del suelo (Alvear *et al*., 2007ab; Alvear *et al.*, 2008), ya que estos dan una medida integrada de la calidad de suelo.

Sin embargo, el suelo es un ecosistema muy complejo, la medición de un parámetro único no es adecuada como indicador biológico de la calidad del suelo. Por el contrario, la medición simultánea de varios parámetros, permite una mejor evaluación de los efectos de los manejos del suelo en sus propiedades (Iovieno *et al*., 2009)

2.2 Suelos Andisoles.

Los suelos derivados de cenizas volcánicas del sur de Chile han sido sometidos históricamente a un uso intensivo para el desarrollo agrícola del país, mayoritariamente estos suelos corresponden al orden de Andisoles y Ultisoles, los que se encuentran degradados como resultado de procesos de erosión, tanto natural como por acción antrópica, no sostenibles (Esparza, 2004; Sadzawka *et al*., 2006; Mariscal, 2008).

Los suelos Andisoles son conocidos con el nombre de "trumaos", son suelos jóvenes, altos en MO, de pH moderadamente ácido (5,6 - 6,0), con textura franca, franca limosa o franca arcillosa, poseen coloides de carga variable con alta capacidad de retención de agua y fosfatos (Sadzawka *et al*., 2006). Los suelos Andisoles se caracterizan por presentar un alto porcentaje de humedad, baja densidad aparente, alta capacidad de intercambio catiónico dependiendo del pH del suelo, presenta alto contenido de MO en diferentes grados de humificación, el que está relacionado con la pluviometría y la temperatura de la zona (López, 2006). Se pueden encontrar bajo un amplio rango de usos, desde de aquellos bajo renoval de bosque nativo hasta otros bajo cultivo y praderas, con distintas intensidades de pastoreo. Esta particularidad, permite evaluar cómo el cambio de uso del suelo afecta sus propiedades estructurales usando como referencia los sistemas menos intervenidos.

2.3 La materia orgánica (MO) en el suelo.

La materia orgánica corresponde a todo el material orgánico biológico (de cualquier origen) que se encuentra en el suelo o en su superficie, vivo, muerto o en cualquier estado de descomposición, excluyendo la parte aérea de las plantas vivas. Entre los componentes de la MO del suelo se encuentran: residuos vegetales y animales en descomposición, diversos productos del metabolismo microbiano y material proveniente de desintegración celular microbiana (Luna *et al*, 2002). Materiales que se encuentran en todos los estados posibles de descomposición, desde residuos frescos hasta la MO totalmente descompuesta o estabilizada conocida como humus, formado principalmente por sustancias complejas como los ácidos húmicos y fúlvicos, las que le confieren al suelo importantes propiedades físicas- químicas (Cerón y Melgarejo, 2005).

Las variaciones en el contenido total de MO del suelo, como consecuencia de un cambio de uso, son lentos y por lo general requieren de largos periodos de tiempo para que se detecten. Para analizar cambios a menores escalas de tiempo se han seleccionado ciertas fracciones de la MO fácilmente degradables y mineralizables que constituyen lo que se conoce como la MO lábil o más activa (Mariscal, 2008). Esta fracción de la MO corresponde a aquellos componentes más dinámicos, los que contribuyen a la liberación de nutrientes y que son afectado directamente por el manejo agronómico (Zagal y Córdova, 2005).

2.4 Biomasa microbiana.

La biomasa microbiana (BM) edáfica puede definirse como la parte viva de la MO del suelo, excluyendo las raíces de las plantas y los animales de tamaño superior al de las amebas mayores, aproximadamente $5x10^3$ μm^3 (Acosta y Paolini, 2006). La comunidad microbiana del suelo es un componente lábil de la fracción orgánica, contiene de 1 a 3% del carbono total y hasta 5% del nitrógeno total del suelo; su importancia está asociada con la fertilidad del suelo, los ciclos biogeoquímicos, la descomposición de adiciones naturales o sintéticas y la formación estructural y estabilización física de los agregados (Luna *et al*, 2002; Zagal *et al.*, 2002). Las características físicas, químicas y biológicas del suelo, así como la presencia de plantas, tienen influencia sobre el número y la actividad de las poblaciones microbianas (Luna *et al.*, 2002). La BM es responsable de más del 90% de la actividad biológica del suelo. Está compuesta por bacterias, actinomicetos, hongos, insectos, nematodos, protozoos y algas (Barrientos *et al*., 2003) los cuales desarrollan múltiples funciones en el suelo: degradan MO, fijan libre y/o simbióticamente el N atmosférico, solubilizan elementos que están en la porción mineral y secretan sustancias complejas como vitaminas, antibióticos, enzimas y hormonas.

Los microorganismos participan en el ecosistema mediante 4 pares de procesos: a) mineralización - inmovilización, b) oxidación y reducción, c) fijación- volatilización d) solubilización - precipitación.

Las interacciones entre los vegetales y los microorganismos del suelo se manifiestan de modo especial en la zona que está en contacto con las raíces o rizósfera. La microbiota es modificada por la estimulación, en algunos casos inhibición, debida a los exudados radicales y los restos tisulares. No solamente la intensidad del efecto rizosférico sino también la intensidad de la colonización del rizoplano, varía en las diferentes partes de un mismo sistema radical. Carrillo (2003), considera que cada especie o variedad de planta induce un efecto rizosférico característico, pero cuando las raíces envejecen desaparece progresivamente este efecto dando

lugar a la proliferación de los microorganismos que intervienen en la descomposición de los tejidos vegetales muertos.

2.5 Parámetros biológicos del suelo

Las propiedades biológicas del suelo son muy dinámicas por lo que tienen la ventaja de servir de señales tempranas de degradación o de mejorías del suelo. Curiñir (2006), menciona que las propiedades biológicas pueden ser estudiadas a tres niveles diferentes: las propiedades microbianas, el ciclo de nutrientes y finalmente las comunidades bióticas y su relación con la MO, de estas las más relevantes para evaluar la calidad del suelo es la caracterización de las propiedades del suelo involucradas en la transformación de la MO que pueden ser divididas en propiedades generales y específicas.

Hungría *et al*. (2009), señalan que la actividad microbiana del suelo y la composición puede variar considerablemente con la estacionalidad del clima, las fases de crecimiento de las plantas, la cobertura del suelo, y la incorporación de residuos, entre otros.

Los últimos estudios utilizan la actividad enzimática y determinación de biomasa como principales indicadores de la actividad biológica debido a la correlación existente entre ellas y la MO presente, además de responder en forma inmediata frente a pequeños cambios del suelo, por lo tanto estos parámetros pueden ser utilizados como indicadores de la calidad del suelo. Los niveles de actividades de las enzimas del suelo son especialmente significativos porque controlan la disponibilidad de nutrientes para la planta y el crecimiento microbiano. Por esta razón, los parámetros bioquímicos y biológicos, pueden constituirse en indicadores tempranos y sensibles de estrés o restauración de áreas ecológicas.

2.5.1 Parámetros generales. La evaluación de los parámetros bioquímicos generales tiene mucha importancia, debido a que su cuantificación permite obtener información sobre la actividad metabólica del suelo. Esta provee información para entender procesos como la mineralización y humificación de la materia orgánica (MO), así como todas las transformaciones de la biomasa microbiana. La cuantificación de estos parámetros tiene especial utilidad en estudios naturales donde los procesos microbianos claves pueden monitorearse en estudios relativos a sistemas agrícolas, en la evaluación de problemas de contaminación, en seguimientos de la incorporación de residuos agrícolas, entre otros. Según Soto (2008), son aquellas propiedades que incluyen todas las variables directamente relacionadas con la actividad microbiana, como la biomasa global activa, mediada a través de la hidrólisis de la fluoresceína diacetato (FDA), carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana (CBM y NBM, respectivamente).

Zagal *et al.* (2002), mencionan a la actividad microbiana del suelo como una medida fundamental de importancia ecológica, puesto que por una parte representa el nivel de la actividad biológica involucrando el componente lábil de la MO y, por otra, integra los factores del medio ambiente y su influencia sobre la misma.

2.5.1.1 Carbono y nitrógeno de la biomasa microbiana. Parámetros biológicos relacionados directamente con la biomasa microbiana, responsables principalmente de la descomposición y reconversión de la MO y la transformación de nutrientes.

Usualmente se han indicado valores para el C de la biomasa microbiana entre 1 y 4% del carbono orgánico y para el N de la biomasa microbiana entre 2 y 6% del nitrógeno orgánico (Acosta y Paolini, 2006; Soto, 2008). La metodología para estimar la biomasa microbiana es el método de fumigación-extracción, el que se caracteriza por ser simple y rápido, el cual puede ser utilizado ampliamente para la determinación de la BM; además puede utilizarse en suelos de bajo pH y con aplicaciones de enmiendas orgánicas (Delgado y España, 2000; Soto, 2008)

El carbono de la biomasa microbiana ha sido empleado como bioindicador de los cambios que experimenta la MO, ya que es un índice más sensible que el carbono orgánico total, debido a que en el contenido de éste existe un elevado porcentaje de fracciones muy estables que pueden llegar a enmascarar las alteraciones de aquellas otras más susceptibles de cambio (Reyes, 2003). Por su parte**,** Soto (2008) cita a Franzluebbers *et al.*, (1995), quienes se refieren a las fluctuaciones estacionales del CBM el cual estaría estrechamente relacionada con el desarrollo del cultivo, incrementándose la BM próxima al estado de floración y disminuyendo al estado de plántula y cosecha. En un estudio realizado por Acosta y Paolini (2006), ellos concluyen que existe un efecto favorable sobre la actividad biológica del suelo, cuando a éste se le somete a tratamientos con lodo residual, sugiriendo que el CBM responde rápidamente y con cierto grado de sensibilidad a la incorporación de estos materiales orgánicos a bajas dosis.

El NBM se relaciona fuertemente con el CBM, debido a la dinámica C-N, siendo el metabolismo del carbono la fuerza conductora que gobierna esta relación (van Veen *et al*., 1985 citado por Ferrari *et al*., 1997). El nitrógeno forma parte de la biomasa microbiana siendo así, importante en estudio de la fertilidad del suelo a través de ella se mineralizan las formas orgánicas del elemento (Delgado y España, 2000).

2.5.1.2 Hidrólisis de la Fluoresceína diacetato. La FDA es un compuesto incoloro que reacciona con enzimas libres y con las que se encuentran en la membrana celular, después de lo cual libera un compuesto coloreado, la fluoresceína (Pérez, 2001).

La hidrólisis de la FDA es una medida global de la actividad da la biomasa microbiana activa, su reacción involucra diversos grupos de enzimas, tales como: proteasas, lipasas, estereasas, constituyendo un indicador sensible de la actividad microbiana de suelo Rivas *et al*. (2009).

La hidrólisis de la FDA es un parámetro sensible a los distintos manejos a los que es sometido el suelo, sin importar el origen y cultivo de este, permitiendo así obtener una visión general de la calidad del suelo en un momento determinado y del efecto de las variaciones que este sufre en el tiempo (Alvear *et al*., 2007ab).

2.5.2 Actividad enzimática del suelo. Según Mariscal (2008), las enzimas son responsables de la formación de moléculas orgánicas estables, que contribuyen a la estabilidad del ecosistema sustentado por el suelo e intervienen en los ciclos de nutrientes tan importantes en el mismo como nitrógeno (ureasa), fósforo (fosfatasa) y carbono (β-glucosidasa). Alvear *et al.* (2007), señalan que las actividades biológicas son excelentes bioindicadores de la calidad del suelo.

2.5.2.1 Fosfatasa ácida. Las fosfatasas pueden encontrarse en el suelo en estado libre, asociadas a coloides orgánicos e inorgánicos, en células metabólicamente muertas o en restos de ellas aunque muchas veces su actividad es temporal y se pierdan rápidamente, pueden ser sintetizadas por algunas raíces de plantas, como por hongos y bacterias.

El fósforo orgánico proviene de restos vegetales y animales que al ser degradados por los microorganismos liberan compuestos fosfatados al suelo. Esta enzima cataliza la reacción de la mineralización del P. Se han encontrado correlaciones positivas entre la actividad de la fosfatasa con el carbono orgánico explicando la disminución de la actividad con el aumento de la profundidad del perfil y con la disminución de la población microbiana (Arzuaga *et al*., 2005).

La actividad de la fosfatasa es dependiente de la especie de planta e inhibida por el molibdeno y por el flúor (Lie *et al*., 1997). Además, es inhibida por el producto final de su reacción: fósforo inorgánico. Solo se producirá su síntesis si hay deficiencia de éste en el suelo (Polo, 2005).

2.5.2.2 β-glucosidasa. La actividad de β-glucosidasa está involucrada en la degradación de la celulosa en glucosa, fuente de energía para los organismos heterótrofos del suelo. Esta enzima participa en la hidrólisis de la celobiosa, disacárido producto de la degradación de la celulosa (Garbisu *et al*., 2007), aumentando su actividad al haber mayor acumulación de MO y contenido de C en el suelo (Alvear *et al*., 2007).

Según, Polo (2005), ésta celobiasa es muy sensible a la presencia de metales pesados y compuestos tóxicos, por lo que no solo es importante en el estudio de las transformaciones de la MO y todos los procesos que tengan lugar en ella, tanto la mineralización como la humificación, sino que puede actuar como bioindicador de contaminación del suelo.

2.5.2.3 Ureasa. La ureasa es una enzima del ciclo del nitrógeno, cataliza la hidrólisis de la urea o sustratos de tipo ureico dando como resultado CO_2 y NH_4^+ como productos de la reacción (Alvear *et al*., 2005; Fernández *et al*., 2009), e influyendo en la fertilidad del suelo.

En el sistema suelo-planta, la disponibilidad de N depende principalmente de la mineralización del N orgánico a formas de N inorgánico en el suelo, de la MO, de la presencia de residuos de cosechas, estiércol o enmiendas de lodos y fertilizantes en base a urea (Cartes *et al*., 2009).

La actividad de la ureasa es influida por varios factores como el tipo de suelo, el contenido de MO, la temperatura, la humedad del suelo, el pH (Cartes *et al*., 2009).

2.5.2.4 Arilsulfatasa. La arilsulfatasa es una enzima que participa en el proceso de hidrólisis del éster-sulfato de la MO del suelo, liberando azufre, elemento esencial, como ión SO_4^{-2} el cual es tomado por las raíces de plantas, por ende participa esta enzima en el ciclo del azufre.

Esta enzima es importante para la movilización de (SO_4^{-2}) inorgánico. Además, ha sido utilizada como factor para evaluar calidad de suelos y como un actor principal en la mineralización de azufre en suelos.

2.5.2.5 Carboximetilcelulasa. La carboximetilcelulasa indica el nivel de actividad de las endocelulasas o las enzimas capaces de hidrolizar enlaces glucosídicos al interior de las moléculas cristalinas de celulosa, sustrato básico para la enzima β-glucosidasa (Alvear *et al*., 2007b).

La actividad aumenta durante el inicio de la descomposición de los residuos que caen sobre el suelo, de acuerdo a estudios llevados a cabo por Alvear *et al*. (2008), al inicio del proceso de descomposición de la MO, las enzimas celulolíticas aumentarían su actividad, y disminuiría con la reducción de la concentración del sustrato, así la celulosa se va degradando y la actividad enzimática tiende a disminuír.

2.6 Parámetros físicos del suelo.

2.6.1 Agregados estables al agua. Los agregados del suelo son grupos de partículas de suelo que se unen unos a otros con más fuerza que a las partículas adyacentes. Pueden definirse como el resultado de la fuerza de unión entre las partículas elementales de los agregados del suelo siendo de gran importancia en la protección contra la pérdida de suelo por erosión (Cerda, 1994).

Modificaciones importantes en el uso del suelo generan cambios en lo que respecta a su estructura y estabilidad, así como de las propiedades asociadas a ésas. La deforestación y/o la actividad agrícola ejercen una profunda modificación en el suelo, lo que induce a un nuevo ciclo de evolución de éste a partir de su estado original (Curiñir, 2006).

2.7 Situación del tratamiento de aguas servidas

El tratamiento y disposición de los lodos provenientes de los sistemas de depuración de aguas residuales es un tema que ha adquirido importancia, debido al crecimiento de los centros urbanos y al desarrollo económico, sumado al impacto ambiental y social que genera la ocupación de suelos que cada vez son más escasos e importantes de mejorar para el desarrollo urbano, la actividad agrícola o el uso recreacional (Cortez, 2003).

Según el informe publicado por la Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS, 2006), la cobertura de tratamiento de aguas servidas en Chile muestra un comportamiento creciente y sostenido desde el año 2000, debido a las mayores exigencias a las empresas y una mayor inversión por parte de éstas. Hoy en día la manipulación de los biosólidos constituye un desafío a nivel país, ya que sin un manejo sostenible podrían generar dificultades en su gestión y disposición (Contreras *et al*., 2008).

Al aumentar la cobertura nacional de las plantas de tratamiento de aguas servidas (PTAS), aumenta proporcionalmente la producción de lodos, según fuente de la SISS al año 2008 la cobertura nacional de tratamiento de aguas servidas corresponde a un 82.6 %, con el aumento de la cobertura se estima que al final de la década se llegue a superar una producción diaria de 300 ton base seca de lodos en el país (Curiñir, 2006).

2.7.1 Antecedentes generales de plantas tratamientos de aguas servidas La construcción de PTAS tiene por finalidad, entre otras, la descontaminación del recurso hídrico a nivel nacional. La diversidad de climas y características de las localidades establecen el tipo de planta y tecnología a aplicar, por lo tanto se puede encontrar en el norte plantas que utilizan lagunas como sistema de tratamiento secundario, mientras que en el extremo sur el 100% de las plantas usan la tecnología de lodos activados (Barañao y Tapia, 2004.). Los biosólidos poseen un alto contenido en materia orgánica, los cuales pueden contribuir a mejorar las condiciones físicas de los suelos (Acevedo, 2004) y también poseen un alto contenido energético, el cual está presente tanto en el biosólido (el lodo residual) como en el biogás (con un alto contenido en gas metano) que genera durante su tratamiento, el cuál puede usarse como combustible a través de la incineración de éste o codisponerse junto a otros combustibles fósiles como son el carbón y el petcoke para la producción de energía. A su vez, se han descubierto nuevos usos, como la fabricación de ladrillos con biosólidos lo cual supone una gran cantidad de reciclaje de éstos.

La purificación de las aguas servidas implica la separación de las sustancias contaminantes, obteniéndose un efluente líquido y una fracción de sólidos. Esta separación no es completa, por una parte la fracción de agua mantiene ciertos niveles de sólidos suspendidos y sustancias disueltas, mientras que los lodos se caracterizan por un contenido elevado de agua (Cortez, 2003).

Junto con las aguas domiciliarias el alcantarillado lleva además, efluentes industriales y de lluvias así, los biosólidos también puede contener muchas sustancias tóxicas, además de material orgánico (Singh y Agrawal, 2008)

2.7.2 Tratamientos de aguas servidas.

Las aguas residuales se deben considerar como una materia prima que contiene una serie de productos útiles, como el agua, la materia orgánica, algunas sales y otros productos perjudiciales. Se trata de separar estos últimos y de aprovechar los demás en beneficio de la aplicación que se considere más útil (Seoánez, 2005 citado por Muñoz, 2009), obteniéndose un afluente liquido y una fracción de sólidos.

Según Toro, (2005) se distinguen dos parámetros para indicar el grado de contaminación o el contenido de MO de las aguas residuales; a) Demanda Bioquímica de Oxígeno (DBO): se utiliza para determinar la cantidad de oxígeno requerido por los microorganismos para oxidar o biodegradar, en un proceso biológico y aeróbico la MO presente en el agua y la; b)Demanda Química de Oxígeno (DQO): fracción de MO capaz de ser degradada por mecanismos anaerobios, en una muestra de agua residual, bajo condiciones específicas de agente oxidante, temperatura y tiempo.

Existen diferentes niveles de tratamientos para el objetivo de la purificación del recurso hídrico. El proceso de tratamiento de aguas residuales se puede dividir en:

2.7.2.1 Pretratamiento: El objetivo es eliminar cualquier elemento que pueda entorpecer alguna de las etapas siguientes del tratamiento. Los principales elementos objetivos de esta etapa son los sólidos gruesos, la arena y los aceites y grasas (Barañao y Tapia, 2004.)

2.7.2.2 Tratamiento Primario de las aguas: Tratamiento en el cual predomina la aplicación de principios físicos.El objetivo del tratamiento primario es la remoción de la MO suspendida (Barañao y Tapia, 2004.), llevada a cabo mediante la sedimentación por gravedad de las partículas sólidas y contaminantes adheridos (Reynolds, 2002).

2.7.2.3 Tratamiento Secundario de las aguas: Los objetivos son reducir el contenido de MO de las aguas, disminuir su contenido en nutrientes, y eliminar los patógenos y parásitos. Estas metas se logran por medio de procesos aeróbicos y anaeróbicos, en los cuales la MO es metabolizada por diferentes cepas bacterianas (Ecoamerica, 2007).

Los sistemas de tratamiento secundario o biológico de aguas residuales pueden ser considerados como procesos de fermentación, en el cual una población microbiana utiliza la MO contaminante presente en el afluente como fuente de carbono y energía para su crecimiento y mantención (Cortez, 2003). Además, en algunos casos se trata de eliminar nutrientes como el nitrógeno y fósforo que pueden causar eutrofización en los cursos de aguas naturales.

El mecanismo de tratamiento secundario más común es el de la biomasa suspendida en el agua residual, conocida con el nombre de "lodos activados", el agua servida aireada se mezcla con bacterias aeróbicas desarrolladas con anterioridad. Esta mezcla, previamente decantada, se agita por medio de bombas para que la materia se mantenga en suspensión y en constante contacto con oxígeno al interior de piscinas de concreto armado. La MO degradada del agua servida flocula, por lo que luego se puede decantar. La biomasa sedimentada se devuelve parcialmente al tratamiento biológico para mantener una población bacteriana adecuada, y el resto se separa como lodo (Ecoamerica, 2007).

2.7.2.4 Tratamiento Terciario o Avanzado de las aguas: se ha aplicado a las operaciones o procesos utilizados para eliminar contaminantes que no se han visto afectados por los tratamientos antes mencionados, nutrientes como los iones fosfato y nitrato o cualquier exceso de sales minerales. En el tratamiento terciario de aguas servidas de desecho se pretende que sea lo más pura posible antes de ser descargadas al medio ambiente (Vallejos, 2004). Dentro del tratamiento de las aguas para la eliminarles los nutrientes están la precipitación, la sedimentación y la filtración.

2.8 Definición de lodos y biosólidos

Los biosólidos son definidos por la EPA (2000) como "residuos sólidos, semisólidos o líquidos generados durante el tratamiento de aguas servidas domiciliarias. Los biosólidos incluyen las escorias ó sólidos removidos durante el tratamiento primario, secundario o avanzado del proceso de tratamiento de aguas servidas y cualquier material derivado de los lodos, excepto las gravillas o cenizas generadas durante el proceso de incineración. Los biosólidos se generan de los procesos y operaciones aplicados en el tratamiento de aguas residuales, que deberán someterse a proceso de acondicionamiento, independientemente de su destino final. Este proceso permite reducir al mínimo los riesgos sanitarios, que tienen relación con la reducción del potencial de atracción de vectores y con requisitos de higienización que permitan reducir o eliminar el contenido de patógenos (Toro, 2005).

En el Decreto Supremo Nº 123 "Reglamento para el Manejo de Lodos Generados en Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas" define el término de Lodo: como basura desecho o residuo semisólidos que hayan sido generados en las PTAS. Al respecto, la CONAMA (2005), los define como: acumulación de sólidos orgánicos sedimentables separados por los distintos procesos de tratamiento de aguas.

El término de biosólidos es establecido por la EPA (Environmental Protection Agency, Estados Unidos) (2003) para potencializar el aspecto de residuo biológico con potenciales de reutilización que presentan los lodos secundarios.

2.8.1 Composición de biosólidos Estas características pueden variar en función de su origen, su edad y el tipo de proceso de donde se han generado procesos de depuración que involucran la adición de compuestos químicos como cloruro férrico, polímeros, entre otros que precipitan formando parte de los sólidos (Cortez, 2003). Además, las características finales de los biosólidos están influenciadas por el tratamiento dado.

Los biosólidos tiene un alto contenido de agua, otorgándole un volumen importante y favorece sus pobres características mecánicas, dificultando su manejo y disposición final (Cortez, 2003).

Físicamente, los biosólidos generados en un proceso de tratamiento biológico por lodo activado presenta un color café marrón el que cambia a casi negro cuando está a punto de descomponerse. Su olor es el de tierra húmeda, sin embargo, cuando se descompuesto produce un olor bastante desagradable. Contiene una concentración de sólidos que varía entre 0,3% y 1,5% (Piesold, 1998).

Las características químicas de los biosólidos están relacionadas a sus cinco constituyentes principales: nutrientes, contenido orgánico, concentración de patógenos, compuestos orgánicos tóxicos y concentración de metales (Toro, 2005).

Los macronutrientes de los biosólidos son una buena fuente de nutrientes para las plantas y los componentes orgánicos proporcionar propiedades beneficiosas de acondicionamiento del suelo (Singha y Agrawal, 2008).

2.8.2 Tratamientos de lodos Los lodos generados en el tratamiento de las aguas servidas deben ser sometidos a procesos de acondicionamiento que permitan estabilizar la materia orgánica, reducir al máximo los riesgos sanitarios y disminuir su contenido de humedad reduciendo su actividad biológica (tendencia a la putrefacción) y los microorganismos causantes de enfermedades, prevenir la generación de olores, la atracción de vectores, reducir su volumen para facilitar su manejo y hacer más económico su transporte (Toro, 2005; Oropeza, 2006).

Cortez, (2003) agrupa los tratamientos de los lodos en cuatro categorías: a) Procesos físicos: destinados a la separación, reducción de volumen y peso de los lodos; b) procesos químicos: adición de químicos para modificar las características de los lodos; c) procesos

biológicos: aplicación de biomasa para la estabilización de lodos; d) procesos térmicos: destinados a la destrucción y detoxificación de lodos.

2.8.2.1 Proceso Químico Los procesos químicos se caracterizan por la adición de elementos químicos al lodo para generar su estabilización, la aplicación de tratamientos químicos al lodo favorece a su manipulación posterior. Entre las alternativas de procesos existentes se encuentra el acondicionamiento químico y la estabilización con cal (Cortez, 2003).

Estabilización con cal; El proceso consiste en mezclar cal viva o hidratada con lodos recuperados, aumentando a pH 12 por un tiempo determinado. (Cortez, 2003; EPA, 2000) La reacción de la cal con la humedad eleva la temperatura y el pH lo suficiente para eliminar los microorganismos patógenos causante de enfermedades (Nebel, 1999). Reducir el poder de fermentación, mediante la disminución de su actividad biológica (tendencia a la putrefacción) (Oropeza, 2006).

2.8.3 Disposición de biosólidos

En Chile, la aplicación a las tierras es la principal opción (Escudey *et al*., 2007). Sin embargo, se deben aplicar de manera controlada, teniendo en cuenta que se altera la composición física, química y biológica del suelo. Tanto las restricciones ambientales como la aptitud de los suelos frente a la aplicación de lodos, deben considerarse al establecer la localización de la aplicación, y evitar así consecuencias negativas. La aplicación de lodos exige comprobar la ausencia de organismos patógenos, niveles tóxicos de ciertos compuestos y metales pesados, por lo tanto, se debe controlar tanto las cantidades incorporadas como el efecto acumulativo de estas sustancias y elementos en el largo plazo (Marambio y Ortega, 2003).

La utilización benéfica de los lodos en el suelo presentan dos objetivos principales: aprovechar sus características físicas como elemento mejorador del suelo y su potencial fertilizante por su contenido de MO y de nutrientes, y disponer adecuadamente los sólido generados sin aumentar la masa de residuos sólidos que se producen diariamente en el país (Mella, 2009).

En Chile se han establecido normas de manejo de los lodos y determinado las calidades mínimas requeridas para una correcta aplicación de los lodos en cultivos agrícolas. El Decreto Supremo Nº 123 "Reglamento para el Manejo de Lodos Generados en Plantas de Tratamiento de Aguas Servidas" tiene por objeto regular el manejo de lodos provenientes de PTAS, establecer la clasificación sanitaria y exigencias sanitarias mínimas para su manejo, además de las restricciones, requisitos y condiciones técnicas para la aplicación de lodos en determinados suelo (CONAMA, 2005).

El Decreto Supremo Nº 123 establece niveles de reducción de patógenos, clasificando a los lodos en dos clases: lodos clase A, aquellos sin restricciones sanitarias para su aplicación benéfica al suelo (E. coli fecales < 1.000 NMP (número más probable) /g lodo) y lodos clase B, aquellos aptos para aplicación benéfica al suelo, con restricciones sanitarias de aplicación según tipo y localización de los suelos (E. colifecales < 2.000.000 NMP/g lodo) (Castro *et al*., 2007). Los lodos clase A son lodos sin restricciones sanitarias para aplicación a suelo. En este punto, la EPA es más específica, al denominarlos "Biosólidos de Calidad Excepcional", que son aquellos biosólidos que son poco contaminantes y tienen reducción de patógenos Clase A (virtual ausencia de patógenos) y que han reducido el nivel de componentes degradables que atraen vectores. Los lodos clase B son lodos aptos para aplicación al suelo, con restricciones sanitarias de aplicación según tipo y localización de los suelos o cultivos. La EPA los define como aquellos biosólidos que logran bajos limites de concentración de contaminantes, pero sólo logran una reducción de patógenos Clase B y/o están sujetos a la administración en el sitio mismo, más que como una alternativa de tratamiento para reducir vectores.

En nuestro país también se han establecido las cantidades máximas de aplicación en suelos agrícolas, para suelos degradados la tasa de aplicación máxima es de 50 ton/ha/año (base materia seca); suelos productivos que presentan severas limitaciones para su aptitud frutal natural y/o suelos forestales la tasa es 30 ton/ha/año (base materia seca) (CONAMA, 2005). El reglamento también hace referencia a la cantidad de metales pesados aceptados en los lodos y los suelos previos a la aplicación de estos y características del suelo a aplicar.

2.9 Utilización de lodos en suelos agrícolas y forestales

Los biosólidos producidos por las plantas de tratamiento de aguas servidas constituyen una fuente valiosa de nutrientes esenciales (Mendoza *et al*, 2005), además de ser fuente de MO generando beneficios sobre las propiedades físicas del suelo, como acondicionador de suelos, ha sido ampliamente estudiada, por sus potenciales concentraciones de nutrientes como lo son: fósforo, nitrógeno, hierro, manganeso y zinc, estos pueden ser de gran utilidad en el área agrícola (Mujica *et al*., 2006).

Por lo tanto, los biosólidos presentan características que los hacen muy buenos fertilizantes orgánicos tanto para la industria agrícola como forestal. En países de Europa y Estados Unidos entre otros, se puede ver que el uso como fertilizante está muy desarrollado (Rámila y Rojas, 2008). La aplicación en agricultura presenta mayores limitantes que su aplicación en el área forestal, principalmente por ser aplicado en productos que serán consumidos por seres humanos y que por lo tanto deben ser sometidos a procesos de acondicionamientos y estabilización más rigurosos. En cambio, el aplicar el biosólido en plantaciones forestales presenta menos riesgos para la salud de la población (Toro, 2005)

En Europa, el reciclaje de biosólidos en la agricultura es una práctica extendida. Está apoyada por la Comunidad Europa y muchos gobiernos de este continente, en la mayoría de los casos, este re-uso benéfico es considerado la mejor alternativa ambiental. En el caso particular de Escocia, es un país el cual utiliza los biosólidos para general electricidad en la planta termoeléctrica (Rámila y Rojas, 2008).

Castro *et al*., (2008) cita a Epstein, (2003) refiriéndose a experiencias en otros países en la incorporación de biosólidos al suelo mencionando a Francia, el cual más del 60% (850.000 toneladas de materia seca) de los lodos han sido incorporados al 2% de los suelos agrícolas en 1999 y se esperaba que esto aumentara para el 2005 a 1,3 millones, siendo utilizados fundamentalmente como fertilizantes. En Estados Unidos, el año 1989 ya se incorporaba el 42% de los biosólidos a los suelos agrícolas.

Otros estudios han mostrado efectos positivos de la adición de biosólidos en plantaciones de nogales en México durante tres años (Tarango y Orrantia, 2008), efectos positivo en plántulas de tomate (Borges *et al.*, 2007), Otros estudios han mostrado efectos positivos de la adición de biosólidos en zonas montañosas de Nuevo México (Fresquez y Dennis, 1990) y en Colorado (Harris-Pierce, 1994). En Estados Unidos (Barbarick *et al*., 2004) experimentaron durante seis años con aplicaciones de biosólidos en suelos de praderas y de arbustos, concluyendo que el suelo tratado mostró un aumento de la respiración (CO_2), de la mineralización de N, de las asociaciones micorrizal, y de la biomasa activa, al compararlos con los suelos no tratados. También se han encontrado efectos negativos en germinación de lechuga (Celis *et al.*, 2006), en ensayo con pimiento en dosis de 90 ton/ ha afecto algunas propiedades del suelo (Casado-Vela *et al.*, 2006)

El uso en plantaciones forestales ha demostrado ser exitoso tanto en el extranjero como en la Región del Bio-Bio, mostrando aumentos del diámetro de los arboles, que van del 10% al 40% como en algunos países (Rámila y Rojas, 2008).

Producciones y dosis de biosólidos. Los rendimientos obtenidos en la cosecha, son tal vez el índice más importante para determinar el valor económico de los biosólidos como substituto de los fertilizantes comerciales (Linden *et al*., 1995). Históricamente, en aplicaciones de distintas dosis de biosólidos se han obtenido producciones más altas que en el uso de fertilizantes convencionales.

Fernández *et al*., (2009), realizaron ensayos evaluando el efecto residual y acumulativo de biosólidos en el cultivo de cebada durante tres años, demostrando los mejores rendimientos obtenidos en las parcelas residuales y solo se obtuvieron buenos rendimientos con dosis bajas de 20 ton/ha de biosólidos en el efecto acumulativo.

El exceso de aplicaciones de biosólidos más allá de las necesidades de cultivos y la capacidad de absorción del suelo o de las solicitudes realizadas en el otoño o invierno puede resultar en la contaminación de las aguas subterráneas por nitratos, la pérdida de N a través de la desnitrificación, el nitrato de concentraciones tóxicas en los animales especialmente en el forraje, y contaminación de aguas superficiales por P (Warman y Termeer, 2004).

Ensayos de campo a plazo son importantes para la evaluación de los efectos a largo plazo de las prácticas agrícolas en las propiedades del suelo incluida la biomasa microbiana y la actividad microbiana (Liu *et al*. 2007).

3. MATERIALES Y METODOS

3.1 Ubicación del ensayo.

El ensayo se realizó en un predio ubicado en la Pre-cordillera Andina, a 5 km al oriente del pueblo de Las Hortensias en la comuna de Cunco, Provincia de Cautín, Región de La Araucanía (38º 58’21” LS y 72º21’7” LO), a una altura de 337 msnm.

3.1.1 Suelo. El tipo de suelo es Andisol, familia Los Prados, serie Cunco. Las parcelas se establecieron en un sector plano con promedio de 0,7 % de pendiente (Segovia, 2008). Se realizaron análisis químicos (anexo 2).

3.2 Características del biosólido.

El biosólido proviene de las PTAS de Vilcún, perteneciente a la empresa AGUAS ARAUCANIA S.A., la cual realiza un pretratamiento, tratamiento primario, secundario y, posteriormente, una estabilización química con cal. Pertenece a la clase B (MINSEGPRES, 2006), por lo que consta de restricciones para la aplicación en la agricultura. Las PTAS prefieren generarlo mayoritariamente, por el costo que implican los tratamientos. El trasporte y manejo del biosólido se realizó mediante la normativa vigente con previa aprobación de las autoridades competentes (MINSEGPRES, 2006).

3.3 Manejo del ensayo

3.3.1 Preparación del suelo. El 25 de octubre de 2008 se invirtió y se procedió a mullir los primeros 20 cm de la superficie del suelo, por medio de instrumentos manuales, tales como azadón y pala, antes de la aplicación del biosólido.

3.3.2 Aplicación del biosólido. Se adicionó el biosólido al suelo el día 8 de noviembre de 2008. El cálculo de las dosis de biosólidos en cada uno de los tratamientos se realizó determinando los metros cúbicos de una carretilla, y luego, se relacionó con el tamaño de las parcelas y la cantidad de biosólido en cada tratamiento.

3.3.3 Siembra. La siembra fue realizada el 29 de noviembre del 2008 en forma mecanizada. La dosis de semilla utilizada para el ensayo en cada una las parcelas fue de 135 kg ha^{-1}, con una distancia entre hileras de aproximadamente 17 cm y una profundidad de 2-3 cm.

El cultivo empleado correspondió a *Triticum aestivum*. cv. Pandora, cultivar que se encuentra inscrito en el registro de variedades protegidas por el Servicio Agrícola y Ganadero (SAG, 2007). Esta variedad cuenta con características como ser de hábito de crecimiento primaveral, tiene una altura de 90-95 cm.

3.3.4 Control de malezas. El control de maleza se realizó previo a la siembra con el herbicida ácido N-fosfono-metil-glicina (Glifosato) herbicida no selectivo, sistémico aplicado el 4 de octubre de 2008.

3.3.5 Cosecha. La cosecha no se realizó debido al ingreso vacunos en el periodo de madurez, destruyendo el cultivo.

3.4 Tratamientos.

El estudio contó con cinco tratamientos:

1. Parcelas testigo (T), sin aplicación de fertilizantes.

2. Parcelas fertilizadas químicamente (F), con 120 u N ha^{-1}, 40 u P_2O_5 ha^{-1} vía súper fosfato triple y 30 u K_2O ha^{-1} vía nitrato de potasio. Aplicación realizada según los resultados del análisis de suelo y los requerimientos del cultivo.

3. Parcelas con dosis de 30 ton. de biosólido por hectárea o mg ha^{-1} en base a materia seca.

4. Parcelas con dosis 60 ton. de biosólido por hectárea o mg ha^{-1} en base a materia seca.

5. Parcelas con dosis 90 ton. de biosólido por hectárea o mg ha^{-1} en base a materia seca.

3.5 Sistema de evaluación.

Dada la gran cantidad de actividades biológicas, éstas, para efectos de análisis, se clasificaron en dos grandes grupos; parámetros generales, que involucraron carbono y nitrógeno biomásico y la hidrólisis de la FDA, y los parámetros específicos, que involucraron la actividad de enzimas hidrolíticas, específicamente: ureasa, arilsulfatasa, carboximetilcelulasa, fosfatasa ácida, β-glucosidasa. Además, se evaluó el parámetro físico de los agregados estables al agua.

Los análisis fueron realizados específicamente en el Laboratorio de Bioquímica de Suelos, Departamento de Ciencias Químicas, en la Universidad de La Frontera.

3.5.1 Muestreo. A cada uno de los tratamientos anteriormente señalados, se les realizaron tres muestreos, determinándose las propiedades químicas, porcentaje de agregados estables al agua y las actividades biológicas.

El primer muestreo (M1) corresponde a las parcelas sin aplicación de biosólido y se realizó el 4 de octubre del 2008. El segundo muestreo (M2) se realizó después de la aplicación del biosólido y previo a la siembra, además se fertilizaron químicamente las parcelas correspondientes, esto fue efectuado el día 29 de noviembre del 2008. El tercer muestreo (M3) se realizó previo a la cosecha, el 28 de marzo del 2009.

3.5.2 Determinación de parámetros generales:

3.5.2.1 Determinación del carbono y nitrógeno biomásico. Se utilizó el procedimiento general de fumigación-extracción, Según Alvear *et al*. (2007ab). La fumigación con cloroformo del suelo se realizó a 25 °C en una cámara de germinación durante 24 horas. El testigo correspondió al suelo no fumigado al que también se le practicó el mismo procedimiento. Posteriormente, se realizó una extracción con K_2SO_4 0,5M, a las muestras fumigadas y no fumigadas, que se agitaron durante una hora y se filtraron. El flujo de N asociado a la biomasa se determinó de forma general a partir del N reactivo a ninhidrina. A una alícuota de los extractos fumigados y no fumigados se le incorporó 5 ml de ninhidrina recién preparada y se calentó durante 20 min a temperatura de ebullición y se realizó la lectura contra un blanco reactivo a 570 nm. Las lecturas se compararon con una recta patrón preparada en idénticas condiciones y los resultados se

expresan como mg de N Kg s.s. $^{-1}$. El C en los extractos fumigados y no fumigados se determinó mediante oxidación con dicromato. Los resultados obtenidos correspondieron a la diferencia entre los suelos fumigados y no fumigados, y se expresaron como mg C kg s.s. $^{-1}$.

3.5.2.2 Determinación de la hidrólisis de fluoresceína diacetato (FDA). Se determinó según el método descrito por Alvear et al. (2007ab), el cual consiste en agregar 1,5 g de suelo en buffer fosfato sódico (pH 7,8) en presencia de FDA. Para cada suelo se realiza un blanco en ausencia de FDA. Se incuba a 25°C durante 60 minutos, la reacción se detiene con acetona, luego se agita y filtra. Lo que se mide en este caso es la fluoresceína liberada mediante espectrofotómetro a una longitud de onda de 490 nm. La actividad se expresa en µg de Fluoresceína (F) g.s.s. $^{-1}$.

3.5.3 Determinación parámetros específicos:

3.5.3.1 Determinación de la actividad Ureasa. Se determinó utilizando el procedimiento descrito por Alvear *et al*. (2007ab). Se mezcló 1 g de suelo con solución tampón fosfato de H_2PO_4 pH 8 y urea 6,4%, se incubó a 37ºC durante 2 horas. Posteriormente, se agregó KCl 2M y se agitó. El amonio liberado se midió colorimétricamente. Cada muestra se comparó con un blanco que se preparó como la muestra, a la cual se le añadió agua destilada en vez de urea, la actividad de la enzima ureasa se expresó en µmoles NH_3 g.s.s. $^{-1}$.

3.5.3.2 Determinación de la actividad Arilsulfatasa. Se determinó teniendo como base el método descrito por Alvear *et al*. (2007b). A 1,5 g de suelo, se le agregó 4 ml de tampón acetato 0,5 M pH 5,8 más 1 ml de agua destilada y 1 ml de p-nitrofenil sulfato 5 mM, se incubó a 37º C durante 1 hora, luego se enfrió en baño de hielo y se añadió 1 ml de $CaCl_2$ 2 M y 4 ml de Na OH 0,2 M. El p-nitrofenol (PNF), se midió espectrofotométricamente a 400 nm. Para cada muestra se

realizó una recta patrón, ya que puede haber adsorción de PNF en las partículas del suelo. La actividad arilsulfatasa se expresó como μmoles de PNF $g.s.s^{-1}$.

3.5.3.3 Determinación de la actividad Carboximetilcelulasa. La actividad de esta enzima se determinó mediante el método descrito por Alvear *et al*. (2007b). Consistió en mezclar 5 gramos de suelo con 15 ml de carboximetilcelulosa durante 24 horas a 50º C, la glucosa liberada se determinó espectrofotométricamente a una longitud de onda de 590 nm. La actividad de esta enzima se expresó en μmoles glucosa hr^{-1}.

3.5.3.4 Determinación de la actividad Fosfatasa ácida. Se procedió de acuerdo a la metodología descrita por Tabatabai y Bremner (1970), siguiendo además las modificaciones planteadas por Alvear *et al*. (2007). Se mezcló 1 g de suelo con una solución tampón MUB pH 5,5 y p-nitrofenil fosfato (PNFF) 0,18 M. posteriormente, se procedió a incubar el testigo y la muestra por espacio de 1 hora a 20 ºC. A continuación se añadió $CaCl_2$ 0,5M. El filtrado se recibió sobre NaOH 0.5M, se homogeneizó. El PNF liberado se determinó espectrofotométricamente a 400 nm. La actividad de la enzima fosfatasa se expresó como μmoles de PNF $g.s.s.^{-1}$.

3.5.3.5 Determinación de la actividad β-glucosidasa. Se determinó basándose en el método descrito por Alvear *et al*. (2007a). Se mezcló 1,5 g de suelo con una solución tampón MUB, 1ml de paranitrofenil β-D-glucopiranósido 25 mM y se incubó durante 1 hora a 37ºC. Posteriormente se enfrió, se agregó $CaCl_2$ 2M, luego se filtró sobre la solución extractante THAM-NaOH 0,1M. El p-nitrofenol (PNF) liberado se determinó espectrofotométricamente a 400 nm. Para cada muestra se realizó un blanco, que es la muestra de suelo a la que se le añadió el sustrato después del período de incubación, que se refiere a la hidrólisis inespecífica de β-D glucopiranósido. La actividad de la enzima β-glucosidasa se expresó en μmoles de PNF $g.s.s.^{-1}$.

3.5.3.6 Determinación de estabilidad de los agregados. Se utilizó la técnica descrita por Alvear *et al*. (2007a) la muestra de suelo, tamizadas a 2mm de malla, se pasaron por un tamiz de 1 mm de malla; partículas del suelo que quedaron sobre el tamiz, se separaron y depositaron 4 g sobre otro tamiz con malla de 0,25 mm. Luego, se simuló una llovizna con agua destilada y se dejó reposar por 20 minutos. Posteriormente, se sumergió en agua el tamiz con la muestra de suelo en recipiente mayor, 37 veces por minuto, por espacio de 7 minutos. Las partículas de suelo que permanecieron sobre el tamiz fueron arrastradas y trasladadas con agua destilada a un recipiente de menor volumen; estas partículas corresponden a los agregados estables al agua. Posteriormente, ambas muestras se llevaron a estufa durante 24 horas a 105ºC. Para determinar el porcentaje de agregados estables al agua se procedió según la ecuación utilizada por Kamper y Rossenau (1986).

3.5.4 Determinación de la humedad del suelo. Con el fin de poder expresar los resultados en referencia a su peso seco se determinó la humedad a todos los suelos. Se pesó una cantidad conocida de suelo húmedo y se dejó secar a 105ºC durante 24 horas. Al cabo de este tiempo se volvió a pesar el suelo y se hicieron los cálculos correspondientes para poder aplicar en los resultados su factor de peso seco (Fps). Todas las mediciones se expresaron en base a suelo seco (gramo de suelo seco).

3.6 Diseño experimental. Corresponde a un diseño completamente aleatorio con 5 tratamientos y 3 repeticiones, utilizando parcelas de 40 m^2 (10 m de largo por 4 m de ancho), como se puede apreciar en la figura 1.

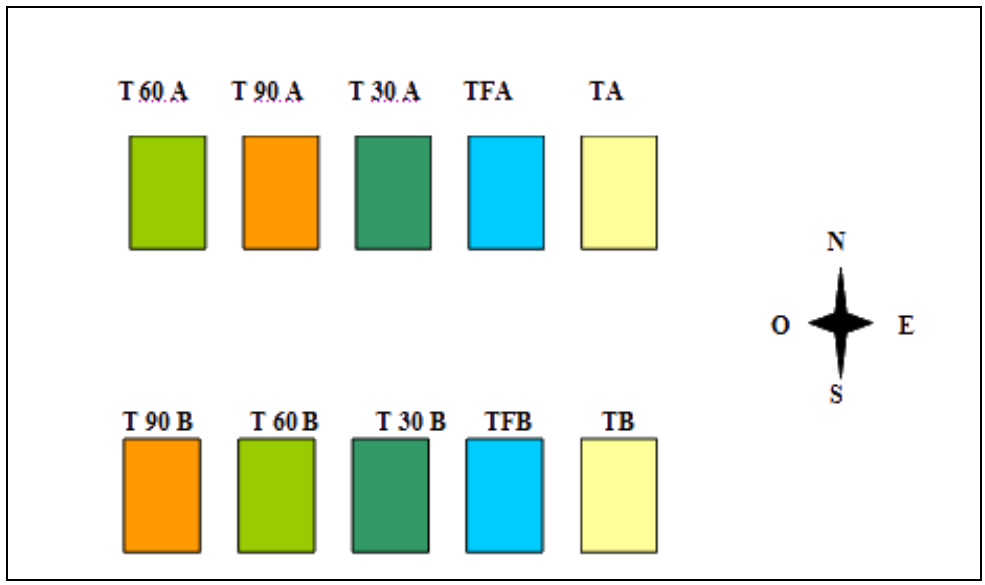


Figura 1. Esquema de distribución de las parcelas. Tratamientos acumulativos (B), tratamientos residuales (A)

3.7 Tipo de análisis estadístico.

Fue realizado a través del software SPSS demo versión 11.0 en español, para lo cual se exportó una planilla de cálculo de Microsoft Excel con la información cuantitativa de los parámetros específicos obtenidos.

Los datos fueron procesados y analizados mediante ANOVA, a través de una prueba de rango Múltiple de Tukey, al 5%.

4. PRESENTACION Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS.

4.1 Análisis químico del suelo.

Se efectuó un análisis químico del suelo para cada efecto y a cada uno de los tratamientos por muestreo (cuadro a y cuadro b), destacándose la MO, pH, suma de bases y P, propiedades químicas relacionadas directamente con las actividades biológicas evaluadas.

Cuadro a. Relación entre los tratamientos con efecto acumulativo, sobre la materia orgánica, pH, N, P y suma de bases (S de B).

Tratamientos	MO (%)	pH	S de B	N (mg/kg)	P (mg/kg)
1º Muestreo					
TB	16	6,06	5,06	31	5
FB	18	5,56	3,64	36	7
30 B	18	5,89	15,94	30	23
60 B	20	6,76	26,09	28	77
90 B	20	7,01	32,71	29	94
2ºMuestreo					
TB	18	5,96	11,79	32	7
FB	19	5,42	5,6	37	13
30 B	21	6,27	26,06	33	41
60 B	20	6,92	32,09	35	89
90 B	19	6,37	29,48	34	46

Cuadro b. Relación entre los tratamientos con efecto residual, sobre la materia orgánica, pH, N, P y suma de bases (S de B).

Tratamientos	MO (%)	pH	S de B	N (mg/kg)	P (mg/kg)
1º Muestreo					
TA	17	5,44	3,22	35	6
FA	18	5,42	3,32	37	9
30 A	17	5,49	8,22	36	14
60 A	16	5,49	5,03	36	8
90 A	17	5,37	6,8	38	12
2º Muestreo					
TA	18	5,39	2,93	36	6
FA	19	5,33	3,89	38	9
30 A	19	5,56	11,2	35	19
60 A	15	5,49	6,77	32	10
90 A	19	5,69	12,05	37	23

En el primer muestreo, se observó que no existe un aumento considerable de pH, tanto para el efecto acumulativo como residual. En el segundo muestreo se observó un incremento de pH en el efecto acumulativo respecto del residual en los tratamientos con biosólidos, lo que podría explicarse por el pH alcalino de los biosólidos adicionado. Los resultados indican que el pH y la suma de bases de intercambio aumentaron significativamente en relación al control sin aplicación y presentaron un incremento con la dosis de biosólidos aplicada, donde las mayores cantidades se observan en los tratamientos con biosólidos con efecto acumulativo, existiendo un aumento en el segundo muestreo.

Respecto al contenido de N, este fue muy similar entre los tratamientos, tanto para el residual como acumulativo, siendo significativamente alto. En cuanto al contenido de P, este fue muy alto en el segundo muestreo en los tratamientos con efecto acumulativo tratados con biosólidos. Así el P aportado por los biosólidos representa la fuente más importante de este

elemento para el cultivo, ya que los procesos de movilización de P se ven favorecidos por la disminución del grado de acidez que provoca la aplicación de los biosólidos.

4.2 Parámetros generales

Son variables directamente relacionadas con las actividades microbianas. Un aumento en el contenido de materia orgánica en el suelo provoca una reactivación de la actividad biológica, por lo que el estudio de estos parámetros puede ayudar a entender los procesos que se están induciendo sobre la biota del suelo cuando se adicionan distintos tipos de enmiendas orgánicas (García-Gil, 2001).

4.2.1 Carbono biomásico (CBM).

Al tercer año de evaluación, el contenido de carbono biomásico presentó diferencias significativas ($p<0,05$) entre tratamiento y muestreo (Figura 2).

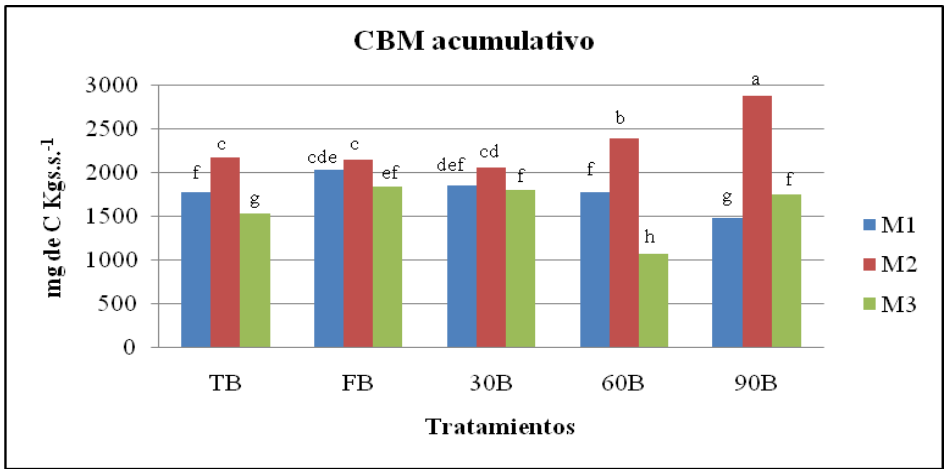


Figura 2. CBM (mg C kg.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo.

Los valores indican mayor contenido de CBM en el suelo una vez incorporado los biosólidos (M2), aumentando el contenido en forma proporcional a las dosis aplicadas. Para el M3 el contenido de CBM disminuyó en todos los tratamientos. En el testigo y en los tratamientos de 60 y 90 ton/ha la disminución fue significativa con respecto al M1 (suelo sin modificación).

El incremento en el CBM para el M2 está dado por el alto contenido de MO adicionada al suelo por los biosólidos, generando un crecimiento de la biomasa microbiana del suelo en respuesta a la presencia de la adición de C, fácilmente disponible en el suelo original y adición de microorganismos de los biosólidos (Tejeda y González, 2003; Araújo y Monteiro, 2006).

En el último muestreo (M3) el contenido de CBM disminuyó para todos los tratamientos, lo que se puede deber a que la biomasa microbiana juega un papel importante en lo que son los procesos de suelo-planta utilizando el carbono como fuente de energía. Además, se sugiere un

posible efecto inhibitorio debido a la presencia de metales pesados acumulados a medida que el lodo se incorpora al suelo. A su vez, la textura del suelo puede modificar el nivel de actividad de la biota, pudiendo generar una reducción mayor en los arenosos que en suelos arcillosos.

La menor actividad para el testigo y fertilización mineral en M2 (figura 2) es esperable, ya que en estos tratamientos no se adicionó MO mediante los biosólidos. Maly *et al*., (2009), señalan que la aplicación de fertilizantes minerales conduce a valores más bajos de la CBM probablemente como resultado de la rápida mineralización de la disposición de sustrato después de un aporte de abono mineral.

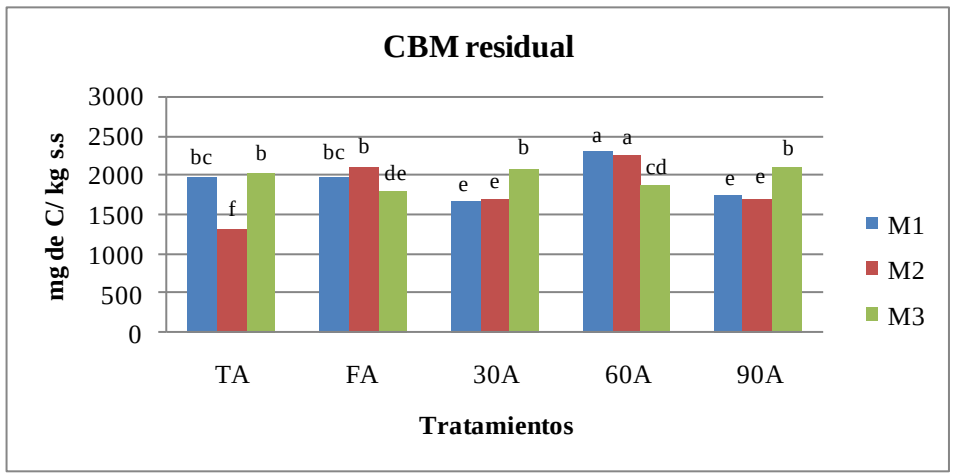


Figura 3. CBM (mg C kg.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto residual.

El contenido de CBM para los tratamientos de efecto residual (figura 3), a los cuales se incorporó los biosólidos el primer año, presentó diferentes tendencias entre tratamientos; la mayor actividad CBM fue para el tratamiento 60 ton/ha en M1 y M2, con diferencias significativas en los demás tratamientos. Para los tratamientos con dosis de 90 y 30 ton/ha no existió diferencias significativa entre ellos, además de aumentar su actividad en el tercer

muestreo, previo a la cosecha, como se observa en la figura 3; los resultados en el efecto residual son esperados, ya que estos tratamientos incorporaron biosólidos sólo el primer año.

En las parcelas con efecto residual no se observó una tendencia clara en el tiempo para los tratamientos, sin embargo se obtuvo que el tratamiento con la dosis de 60 ton/ha tiene el mayor efecto residual manteniendo los contenidos de compuestos carbonados generando mayor actividad para CBM.

Según Gallardo *et al*. (2010), los lodos tienen un alto contenido de nitrógeno, fósforo y materia orgánica aumentando la actividad microbiana global de los suelos, lo que también es señalado por otros autores (Hojati y Nourbakhsh, 2006; Gallardo *et al.*, 2007). Las propiedades químicas (anexo 2) reportadas para el tercer año muestran un aumento en pH e intercambio catiónico, además de disminuir el contenido de aluminio en el suelo, lo que sugiere que las propiedades químicas del suelo influirían en el aumento de CBM para los tratamientos de efecto acumulativo.

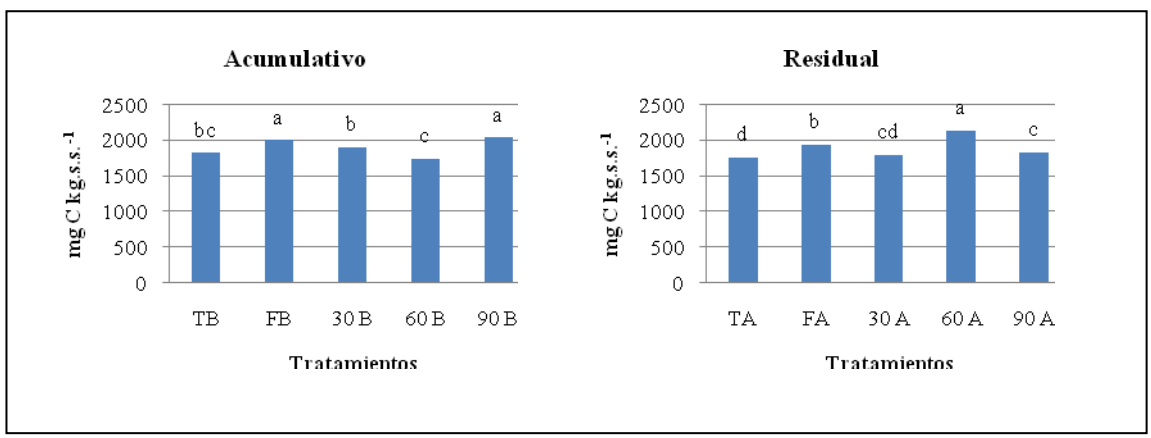


Figura 4. CBM (mg C kg.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

Los niveles de CBM para el tercer año de estudió en el efecto acumulativo y residual fue mayor a los reportados por Soto (2008) en el mismo estudio, lo cual sugiere un efecto acumulativo y residual al incorporar biosólidos anualmente por tres años y en la modificación de una vez.

Fernández *et al*. (2009), informaron un efecto negativo en el CBM con altas dosis (80 ton/ha) obteniendo la mayor actividad con la dosis de 20 ton/ha. Gallardo *et al*. (2010), evaluaron el efecto sobre los parámetros biológicos con dosis de 0 a 50 ton/ha de lodos provenientes de la fábrica de papel kraft en dos suelos derivados de cenizas volcánicas, incubados durante 60 días, obteniendo un aumento considerable en la actividad microbiana, por lo que se establece que la biomasa microbiana responde rápidamente en términos de actividad a la adición de C fácilmente disponibles (Tejeda y González, 2003), así como la presencia de materia orgánica en los lodos.

4.2.2 Nitrógeno biomásico (NBM).

Se encontraron diferencias significativas ($p<0.05$) en el contenido de NBM en el tercer año de aplicación de biosólidos, para los tratamientos con efecto acumulativo. Las mayores respuestas fueron en M2 (figura 4) posterior a la incorporación de biosólidos al suelo, disminuyendo la actividad previó a la cosecha del cultivo. Los mayores valores se presentó con dosis de 60 y 30 ton/ha. La menor respuesta se presentó con el testigo y fertilización mineral, sin diferencias significativas entre ellos, en M1 y M3. Para el M3 se presentó una disminución significativa en la actividad del NBM para todos los tratamientos.

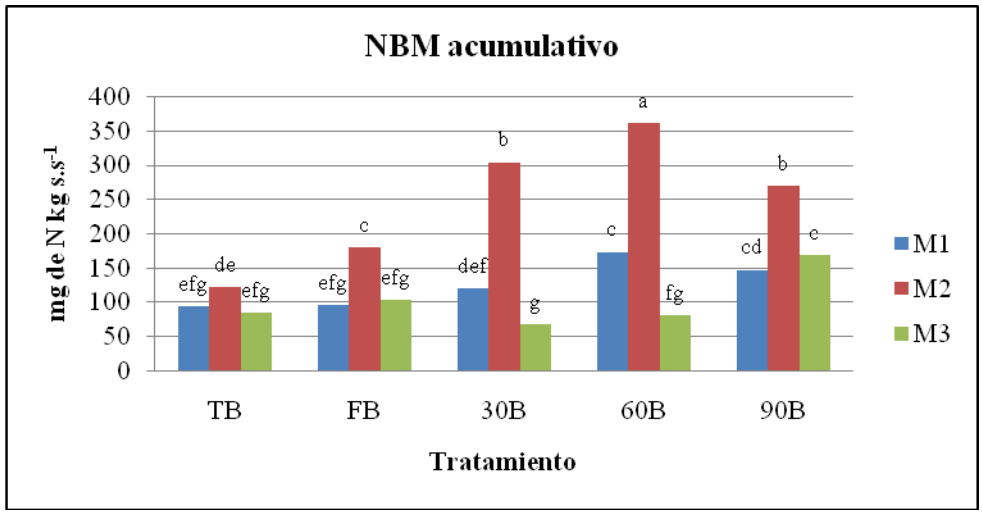


Figura 5. NBM (mg N kg.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo.

El aumento de la actividad NBM después de la aplicación de biosólidos es producto de la actividad de los microorganismos que son estimuladas por el alto contenido de N, nutrientes y materia orgánica presente en los biosólidos (Aparecida *et al*., 2004). La acción de estos microorganismos transformadores del nitrógeno dependen de factores ambientales como la cantidad de oxígeno disponible, el pH, la temperatura y humedad del suelo (Faúndez, 2005), además del tipo de suelo (contenido de MO) y tipo de biosólidos (estabilización de la MO) (Rigby *et al.*, 2009).

La mayor actividad de NBM en el M2 estaría señalando un aumento de la mineralización del N al incorporar biosólidos mediante la acción de microorganismos, transformadores del N orgánico a mineral, para la disponibilidad de la planta, con una posterior disminución en la actividad en los tratamientos en la etapa final del cultivo. La disminución en el M3, puede ser atribuible a la acelerada actividad microbiana y el agotamiento de los nutrientes causados por la captación de la planta en el periodo de crecimiento, temperatura del suelo más alto y el contenido de humedad en temporada de verano (Ge *et al.*, 2010). Así la biomasa microbiana es una fuente de N para el cultivo (Ferrari *et al*., 1997).

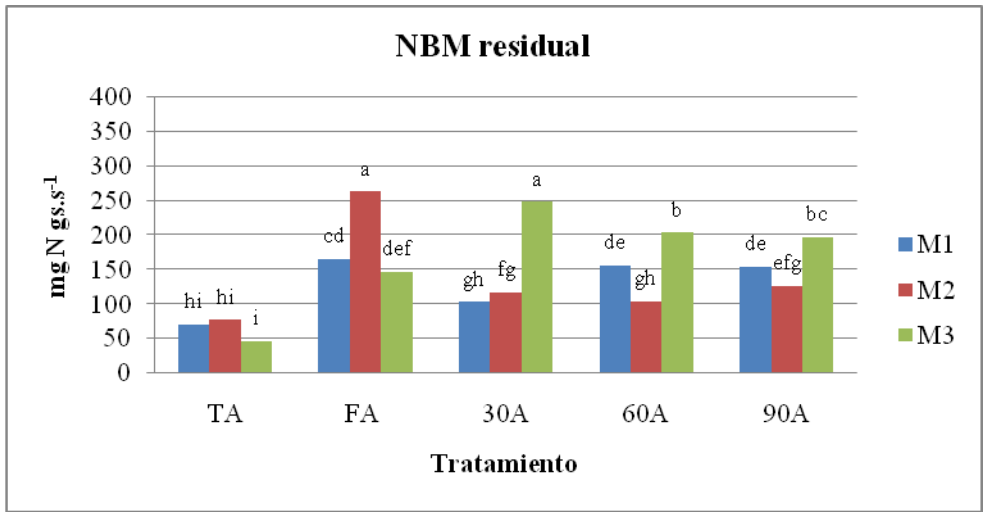


Figura 6. NBM (mg N kg.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto residual

Para tratamientos con efecto residual en el estudio, no hubo diferencia entre las dosis de 60 y 90 ton/ha de biosólidos obteniéndose el mismo comportamiento entre muestreos; sin embargo la actividad del NBM es mayor en comparación al testigo, lo que podría estar señalando un efecto residual al tercer año de evaluación en las parcelas modificadas con biosólidos el primer año.

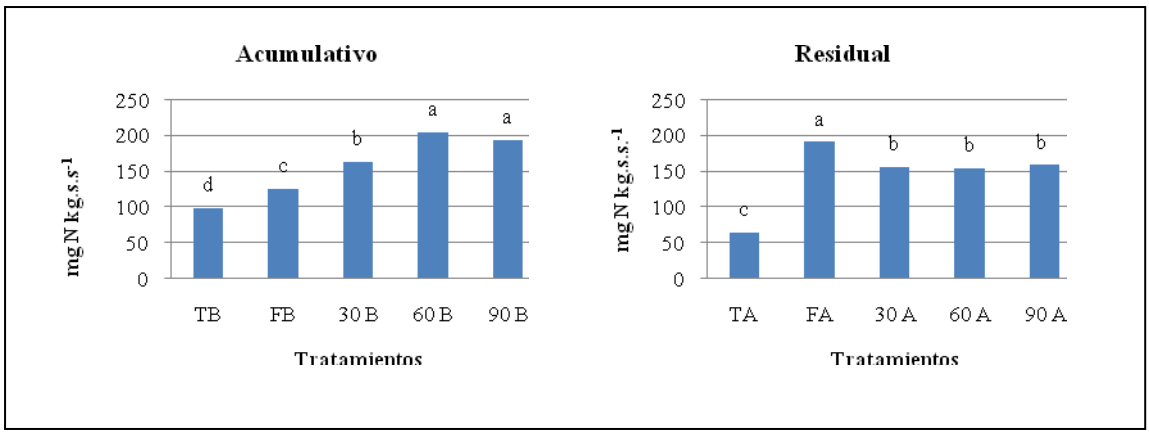


Figura 7. NBM (mg N kg.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

En la figura 7, se presenta los valores de NBM para los tratamientos de efecto residual y efecto acumulativo; en ella se puede observar que el mayor contenido de NBM se obtuvo con los tratamientos con mayores dosis de biosólidos en el efecto acumulativo al tercer año de evaluación, no existiendo diferencias significativas entre ellas.

El NBM aumentó con la adición de biosólidos (figura 7). Los valores obtenidos en el presente estudio son superiores a los obtenidos por Fernández *et al*. (2005), quienes encontraron que los índices de aplicación de lodos incrementaron el contenido de NBM con valores de 8 a 68 mg N kg.s.s.$^{-1}$en un suelo arcilloso.

Ge *et al*. (2010), en un estudio con tratamientos con enmienda de estiércol, encontraron un aumento significativo en el NBM, presentando actividad significativamente mayor en los horizontes superficiales del suelo (0-20 cm) que en horizontes más profundos (20-40 cm).

En Andisol, valores de NBM de 20 a 35 mg N kg.s.s.$^{-1}$ han sido informados por Cartes *et al*. (2009). En general, para el tercer año de modificación del suelo con biosólidos, la mayor actividad del NBM estaría dada para las mayores dosis (60 y 90 ton/ha) y con una significativa menor actividad en la dosis de 30 ton/ha también tendría un efecto acumulativo, en comparación al testigo, causado principalmente por la incorporación de biosólidos al suelo.

Otro factor importante es la inmovilización microbiana de N, que pueden variar según los diferentes suelos y condiciones de aplicación de biosólidos. La inmovilización de N depende en gran medida la relación C / N y la estructura de la materia orgánica.

En el estudio de tratamientos de efecto residual, no presentó diferencias significativas para los tratamientos con biosólidos, sin embargo se observó una respuesta significativamente mayor en comparación con el testigo y menor que la fertilización mineral (figura 7).

4.2.3 Hidrólisis de la Fluoresceína Diacetato (FDA).

La actividad de la hidrólisis de FDA representa una estimación de la actividad microbiana, mostrando la capacidad hidrolítica global del suelo para la descomposición microbiana de la MO (Adam y Duncan, 2001; Sánchez-Monedero *et al.*, 2008).

La hidrólisis de la fluoresceína diacetato (FDA) en los tratamientos de efecto acumulativo, presentó diferencias significativas ($p<0.05$), observándose un leve incremento de esta en el M2 una vez incorporado los biosólidos. En todos los tratamientos, en M3, disminuyó la hidrólisis de la FDA previo a la cosecha del cultivo. Los tratamientos con biosólidos que presentaron la mayor actividad en el tiempo fueron las dosis de 60 y 90 ton/ha, las cuales no presentaron diferencias significativas entre ellas.

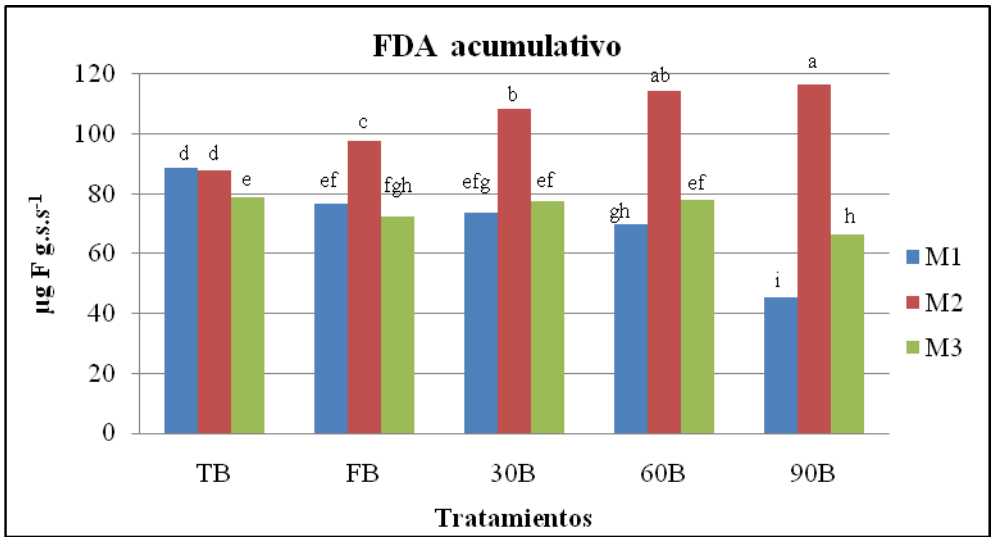


Figura 8. FDA (µg F g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo.

La mayor actividad obtenida en M2, al incorporar biosólidos, en comparación con el control y fertilización mineral, concuerdan con lo descrito por Iovieno *et al*. (2009), quienes reportan un aumento de la hidrólisis FDA al incorporar una enmienda orgánica, sugiriendo que las diferencias en las actividades microbianas del suelo entre los tratamientos, después de 3 años de modificación, se debieron a las variaciones en el contenido de C orgánico del suelo.

El aumento de la hidrólisis de la FDA indica un incremento en la actividad de los microorganismos del suelo, debido a la aplicación de biosólidos, el cual aporta MO, macro y micronutrientes, y aumenta el pH del suelo, elementos esenciales para el crecimiento microbiano y la actividad del suelo (Gallardo *et al*., 2010). Sin embargo, el aumento también podría reflejar un cambio en la población microbiana o un cambio en el metabolismo de la biomasa microbiana para permitir una utilización rápida de los sustratos recientemente incorporados y fácilmente degradables.

La actividad de la hidrólisis de FDA para los tratamientos de efecto residual (figura 9) aumentó en el M2 en todos los tratamientos. La mayor respuesta fue dada en el testigo y fertilización mineral. Los demás tratamientos obtuvieron menor respuesta.

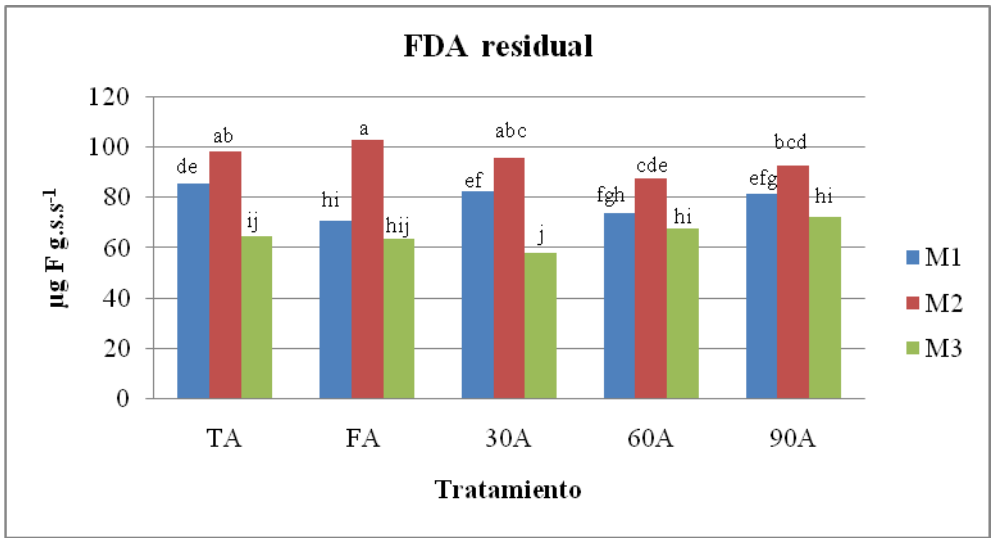


Figura 9. FDA (µg F g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto residual.

Los resultados presentados en el tercer año para los tratamientos con efecto residual y acumulativo son mayores a los presentados por Soto (2008) para el mismo estudio.

La mayor actividad de la hidrólisis de FDA (figura 10) se presentó, en general, en los tratamientos con efecto acumulativo, en comparación a los tratamientos con efecto residual.

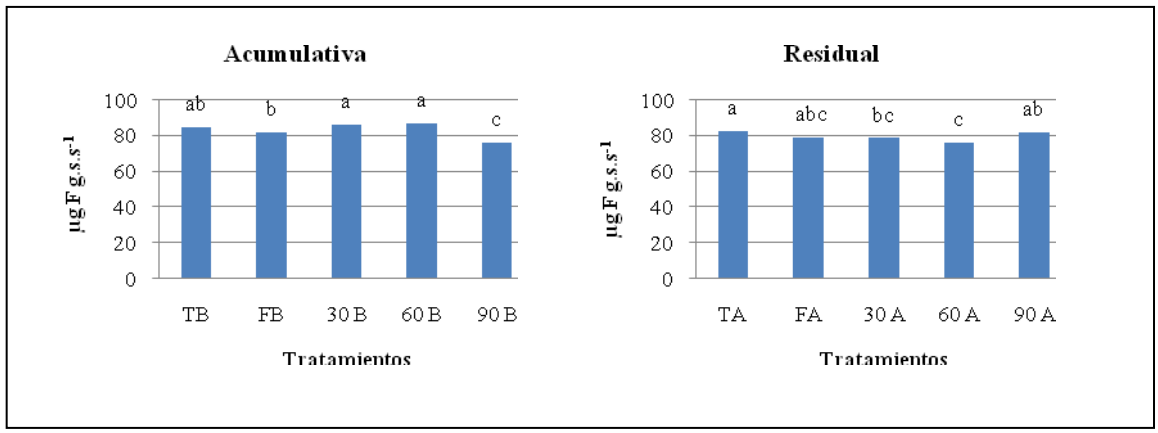


Figura 10. FDA (µg F g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

En general, la aplicación de biosólidos al suelo con efecto acumulativo no presentó diferencias entre las dosis de 30 y 60 ton/ha en comparación al testigo; la dosis de 90 ton/ha presentó la menor actividad significativa con respecto a los demás tratamientos, incluso la fertilización mineral obtuvo mayores valores. Iovieno *et al*. (2009), en un estudio de tres años con compost de residuos de alimentos municipales y fertilización mineral, obtuvieron valores de 20 a 42 µg F g.s.s.$^{-1}$ en sistema de hortalizas en el campo, y valores de 45 a 70 µg F g.s.s.$^{-1}$ en sistema de hortalizas en invernadero.

Los valores obtenidos para los tratamientos de efecto acumulativo y residual al tercer año de aplicación de biosólidos son superiores a los reportados por Soto (2008), para el mismo estudio al segundo año de aplicación. Esto puede sugerir que para este tercer año de estudio se observa un efecto acumulativo y residual sobre la actividad de la hidrólisis de FDA en el suelo.

Para los tratamientos de efecto residual, en general, los tratamientos con biosólidos presentaron una actividad significativamente menor en comparación al testigo.

Gallardo *et al*. (2010) reportaron una mayor hidrólisis de la FDA (180 µg F g.s.s.$^{-1}$) en un Andisol al incorporar una dosis de 50 ton/ha de lodos, después de 30 días de incubación. En los tratamientos con efecto acumulativo, las dosis de 30 y 60 ton/ha en el estudio aumentaron la hidrólisis de la FDA, al incrementar la actividad de los microorganismos debido a la contribución de MO, macro y micronutrientes con la incorporación de biosólidos.

4.3 Actividades biológicas y agregados estables al agua.

4.3.1 Actividad Ureasa.

La ureasa es básicamente una enzima extracelular de origen microbiano (Fernández *et al.*, 2009) su actividad está relacionada con la regulación de N en el suelo, catalizando la hidrólisis de la urea para liberar CO_2 y amonio como producto de la reacción (Alvear *et al.*, 2006; Fernández *et al.*, 2009) influyendo en la fertilidad del suelo.

La actividad ureasa en los tratamientos de efecto acumulativo aumentó al aplicar biosólidos, obteniéndose la menor actividad en el M1 y la mayor actividad en M3 como se puede observar en la figura 10. Valores medios se obtuvieron para M2, disminuyendo la actividad de la ureasa al aumentar las dosis de biosólidos. Para el M3 los tratamientos no presentaron diferencias estadísticamente significativas.

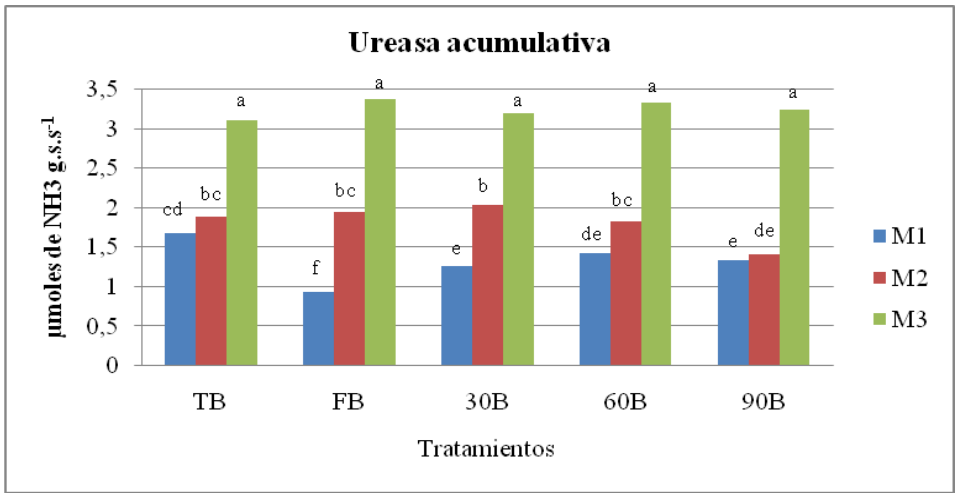


Figura 10. Ureasa (µmoles NH_3 g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo.

La mayor actividad en el M3 puede reflejar una mayor tasa de mineralización (Swensen y Bakken (1998) citado por Segovia (2008), lo cual podría estar influyendo también en los exudados de las raíces del cultivo. Además, el desarrollo radicular resulta ser un indicador útil para estudiar la respuesta del suelo a la adición de biosólidos para mejorar el crecimiento vegetal, mediante el exudado de enzimas como la ureasa.

Con el aumento de N del suelo la población microbiana aumentó su actividad debido a un mayor contenido de materia orgánica lábil. Para llevar a cabo la degradación de estos compuestos lábiles, los microorganismos secretan mayor cantidad de enzimas, lo que se refleja en el aumento de la actividad ureasa. Por lo tanto, la aplicación de biosólidos tuvo un efecto en el tamaño de la comunidad microbiana del suelo y la actividad que resulta en un aumento de la biomasa microbiana, actividad de las enzimas y la mineralización de N.

Para los tratamientos de efecto residual (figura 11) hubo la misma tendencia del tratamiento de efecto acumulativo obteniéndose la mayor actividad ureasa en el M3, previo a la

cosecha del cultivo; los tratamientos con biosólidos y el testigo no presentaron diferencias significativa entre ellos, sí con la fertilizacion mineral.

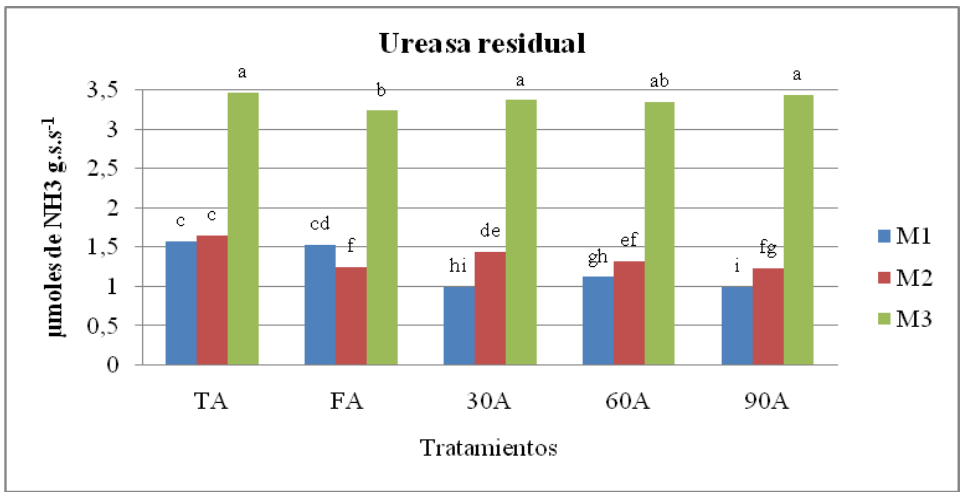


Figura 11. Ureasa (µmoles NH_3 g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto residual.

En la figura 13 se presenta la actividad de esta enzima para los tratamientos en el efecto acumulativo y residual. Los valores obtenidos para el efecto acumulativo indican que no existe diferencia significativa entre los tratamientos de 30 y 60 ton/ha y testigo, obteniéndose la menor actividad, con la mayor dosis. Para el efecto residual se presentó una actividad significativamente menor de la enzima en los tratamientos con biosólidos en comparación al testigo.

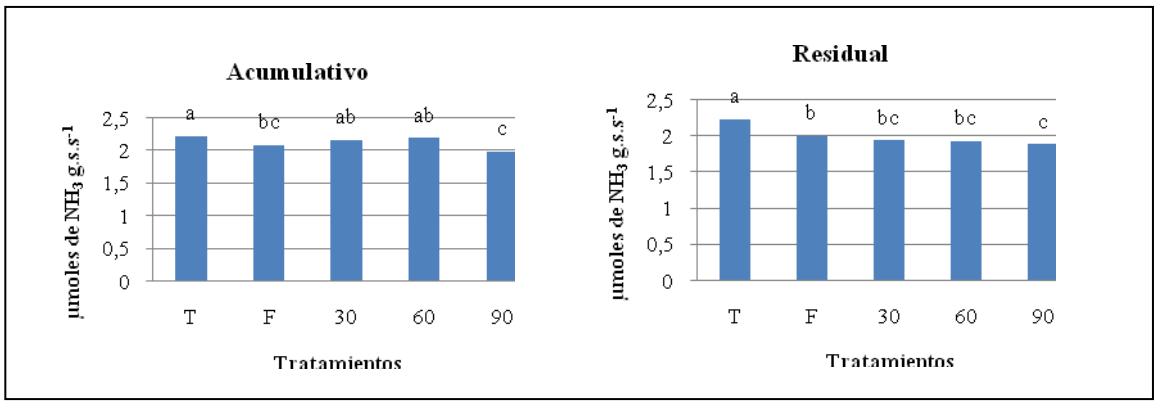


Figura 13. Ureasa (µmoles NH_3 g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

Perotti *et al.* (2008), en un estudio con diferentes dosis de biosólidos añadido a un suelo agrícola, encontró un aumento en esta actividad enzimática, estos autores señalan que los biosólidos aportan gran cantidad de ureasa al ser incorporados al suelo.

Fernández *et al*. (2009) estudiaron el efecto residual y acumulativo de la incorporación de biosólidos en suelo mediterráneo, al tercer año de estudio encontraron valores inferiores en el efecto residual que el acumulativo, y mayor actividad en los suelos modificados con dosis de 80 ton/ha. Estos autores explican el aumento de la actividad ureasa en el efecto acumulativo citando a García *et al*. (2000) quienes afirman que la presencia de sustratos y la demanda de nutrientes por los microorganismos o vegetación da lugar a una alta actividad de esta enzima, que participan en el ciclo del N.

4.3.2 Actividad Carboximetilcelulasa (CMC-asa).

La carboximetilcelulasa indica el nivel de actividad de las endocelulasas o las enzimas capaces de hidrolizar enlaces glucosídicos al interior de las moléculas cristalinas de celulosa (Alvear et al., 2007b).

La actividad de la enzima CMC-asa en los tratamientos de efecto acumulativo, fue significativamente mayor, con dosis de 60 y 90 ton/ha, una vez modificado el suelo con biosólidos (M2). Posteriormente, la actividad disminuyó significativamente. El testigo no presentó diferencias significativas con las dosis de 30 ton/ha y fertilización mineral.

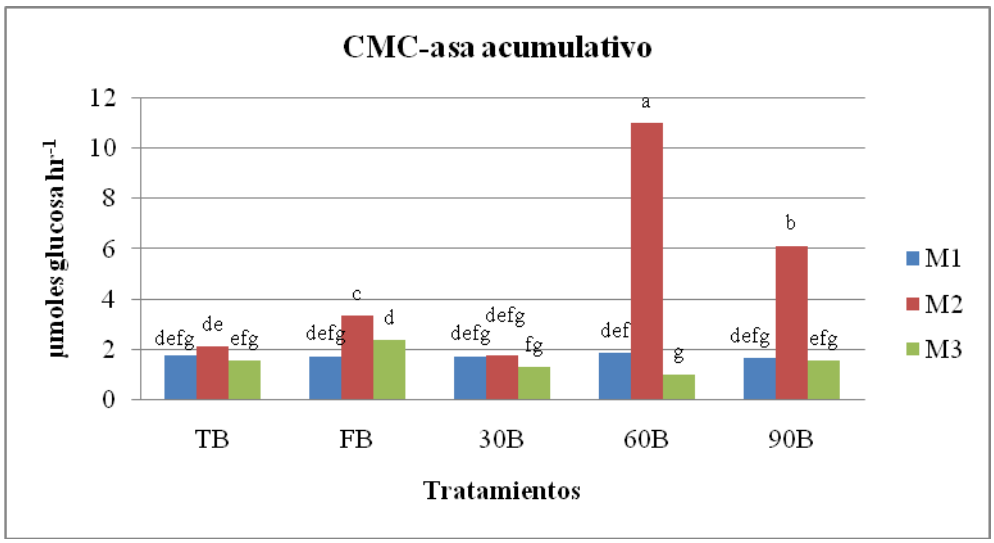


Figura 14. Carboximetilcelulasa (µmoles glucosa hr $^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo.

Los efectos de esta enzima en los suelos una vez modificados (figura 15) presentan diferencias significativas entre tratamientos. Para el M1 el testigo presenta la mayor actividad enzimática, para el M2 la respuesta de los tratamientos aumenta obteniéndose para el testigo

valores inferiores a los demás tratamientos. La mayor actividad en M2 se presentó en la fertilización mineral. En M3 los tratamientos con dosis mayores no presentan diferencia significativa con el testigo.

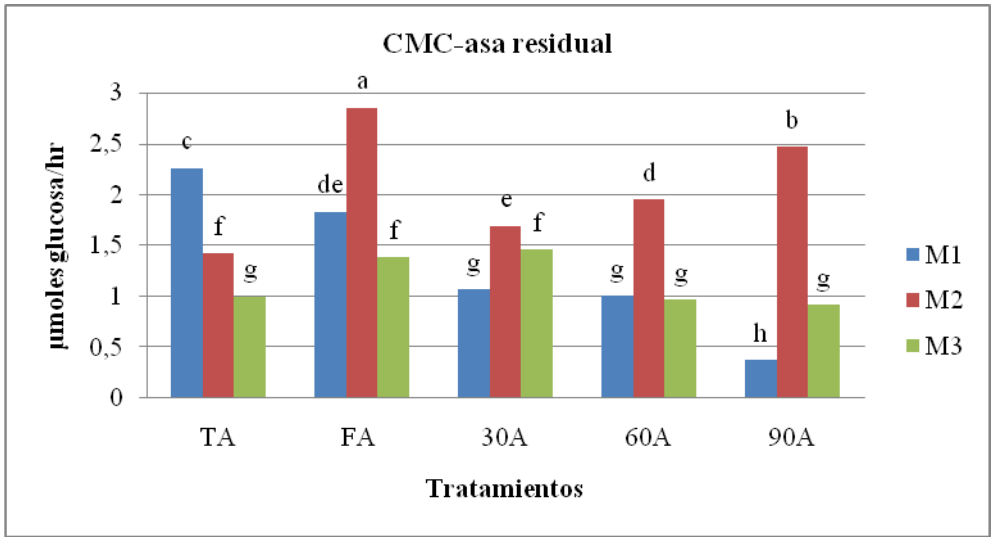


Figura 15. Carboximetilcelulasa (µmoles glucosa hr $^{-1}$) en tratamientos de efecto residual.

En la figura 16 se presenta los niveles de actividad CMC-asa, observándose una mayor actividad en los tratamientos de efecto acumulativo, en el cual las dosis de 60 y 90 ton/ha presentaron valores significativamente mayor en comparación al testigo, mientras que la dosis de 30 ton/ha no presentó diferencias significativas con el testigo.

Para los tratamientos de efecto residual los tratamientos con dosis de biosólidos presentaron valores significativamente menores en comparación al testigo.

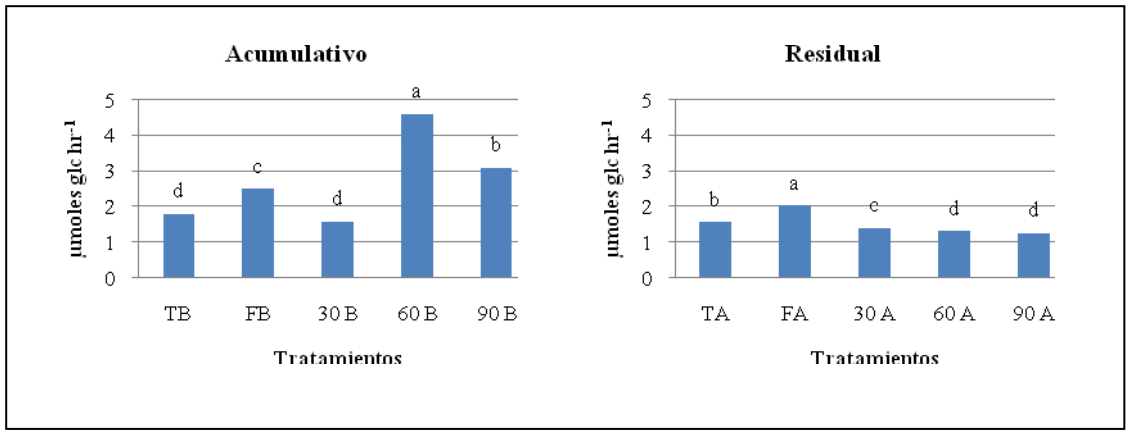


Figura 16. Carboximetilcelulasa (µmoles glucosa hr $^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

Los valores obtenidos al tercer año de incorporación de biosólidos al suelo son mayores a los presentados por Segovia (2008), en el mismo estudio para los tratamientos de efectos acumulativo y residual.

Pavel *et al*. (2004), citado por Curiñir (2006), indican que la actividad de esta enzima está relacionada directamente con la presencia de residuos vegetales, o sea con la MO presente en el suelo, lo que explicaría los mayores valores en las parcelas con efecto acumulativo ya que la incorporación consecutivas de biosólidos aportaría con la MO en el suelo.

4.3.3 Actividad β-glucosidasa.

La actividad enzimática de la β-glucosidasa (figura17) presentó la mayor respuesta en el M1 previo a la aplicación de biosólidos. La mayor dosis de biosólidos no presentó diferencias

significativas con el testigo, sin embargo ambos tratamientos presentaron diferencias significativas con los otros tratamientos.

La menor respuesta enzimática se presentó en el M3 previo a la cosecha del cultivo, cuyos valores no presentaron diferencias significativas entre tratamientos. Valores intermedios presentó el M2 con diferencias significativas entre tratamientos.

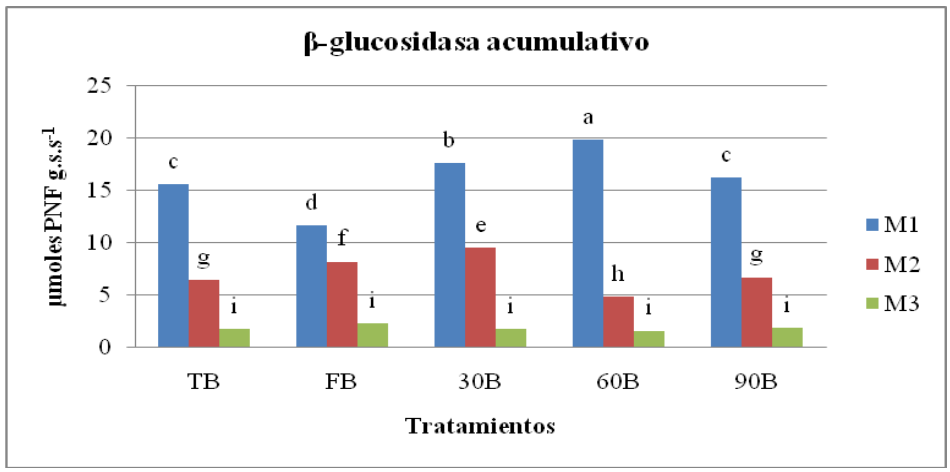


Figura 17. β-glucosidasa (µmoles PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo.

La actividad de esta enzima se ve favorecida por la presencia de la vegetación y de los materiales carbonados que proporcionan los sustratos para la síntesis de dicha enzima, obteniendo energía para los microorganismos del medio (Ros *et al*., 2006). Al incorporar biosólidos al suelo la actividad β-glucosidasa disminuyó, lo que podría estar relacionado con el pH del suelo. Según Eivazi y Tabatabai (1990), citado por Segovia (2008), los valores de pH óptimos, para la actividad de esta enzima, serían 4 a 5. Los valores de pH de los suelos modificados en el estudio estaría sobre 5.5 hasta un pH neutro para la dosis de 60 ton/ha, lo cual afectaría la proliferación de hongos, responsables de la sintesis de esta enzima.

Pascual *et al.* (2007), en un experimento de incubación de suelos por 64 días con tratamiento de lodos (140 ton/ha), estudiaron el efecto del déficit hídrico en el suelo enmendado, encontrando que el déficit hídrico en el suelo tuvo un impacto significativo en la actividad β-glucosidasa en todos los tratamientos, sin embargo, su actividad se mantuvo bastante elevada en comparación a las otras enzimas estudiadas. En la temporada 2008-2009, según datos de INIA Carillanca, hubo un déficit hídrico negativo desde septiembre del 2008, en la zona de este estudio, en comparación con los años anteriores, lo cual podría afectar esta actividad.

Según Bohme (2005), existe una relación negativa de estas enzimas con la mineralizacion del carbono, sugeriendo que la β-glucosidasa también puede ocurrir como enzimas libre extracelulares, adsorbido a los minerales de arcilla y enzimas atrapado a los ácidos húmicos. Así, la actividad β-glucosidasa no necesariamente tiene que coincidir con un mayor nivel de mineralizacion del carbono.

Los tratamientos de efecto residual (figura 18) para el testigo y fertilización mineral presentaron una disminución de la actividad en el tiempo, al contrario de los tratamientos con biosólidos los cuales aumentaron su actividad en M2 para posteriormente disminuir en M3. La respuesta significativamente mayor del efecto residual fue para la dosis media de 60 ton/ha en M2.

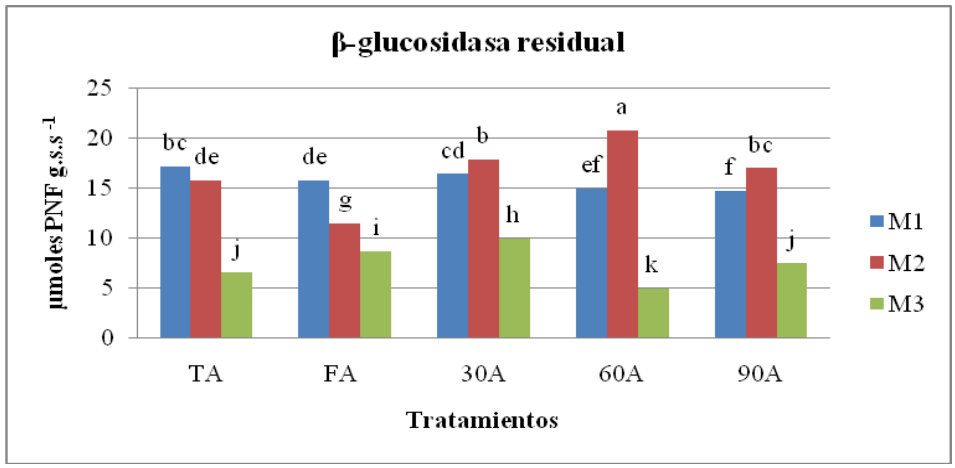


Figura 18. β-glucosidasa (µmoles PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto residual.

En las parcelas con tratamientos de efecto residual, la β-glucosidasa aumentó la actividad en el M2 para una posterior disminución significativa en el M3; al final del cultivo tuvo un comportamiento distinto a los tratamientos de efecto acumulativo, indicando que la incorporacion sucesiva de biosólidos disminuye la actividad de la β-glucosidasa debido al cambio de pH en el suelo, mientras que la modificación de una vez (residual) aumento su actividad en comparación al testigo manteniendo pH óptimos para la actividad de esta enzima.

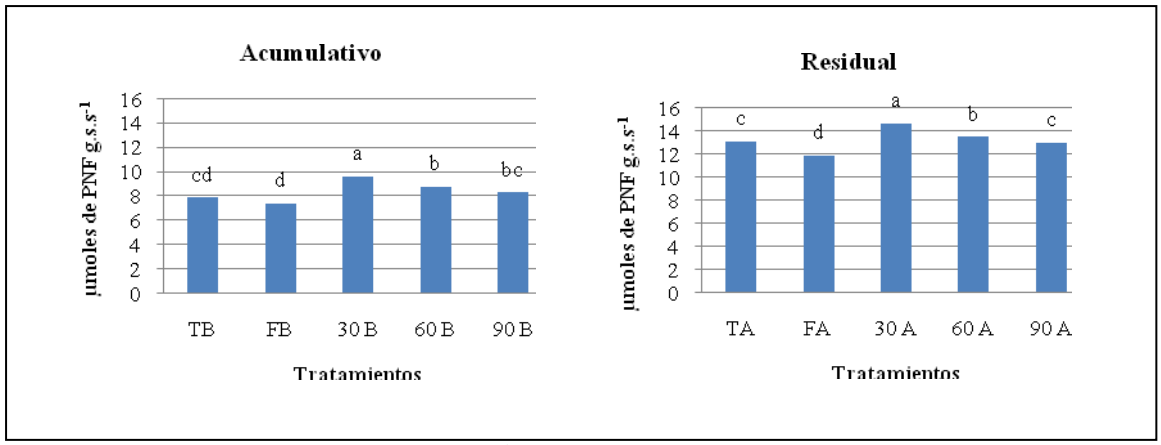


Figura 19. β-glucosidasa (µmoles PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

Al comparar el efecto acumulativo y residual (Figura 19), se observa que la mayor actividad enzimática se obtuvo en los tratamientos con efecto residual.

Los valores para el tercer año son inferiores a los reportados, en el mismo estudio, por Segovia (2008). Iovieno *et al*. (2009), en un estudio con residuos orgánicos incorporados al suelo, encontraron una disminución de la β-glucosidasa al tercer año de incorporación, haciendo referencia de que esta enzima su actividad se debe a la comunidad de hongos, la cual estaría siendo afectada por la labranza del suelo progresivamente, perturbando el micelio de los hongos.

4.3.4 Actividad Fosfatasa ácida (P-asa).

El nivel de la actividad fosfatasa ácida (figura 20), para los tratamientos con biosólidos aumentaron significativamente su actividad en el tiempo en comparación al testigo.

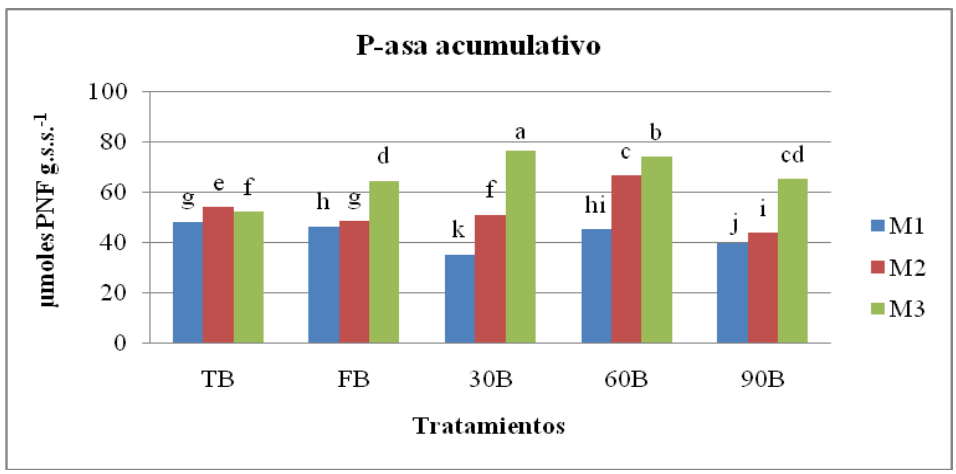


Figura 20. Fosfatasa ácida (µmoles de PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo.

En la figura 21 los valores de los tratamientos de efecto residual presentaron diferencias significativas entre tratamiento y muestreo siguiendo una tendencia similar al efecto acumulativo, aumentando la actividad enzimática en el tiempo, excepto la fertilización mineral.

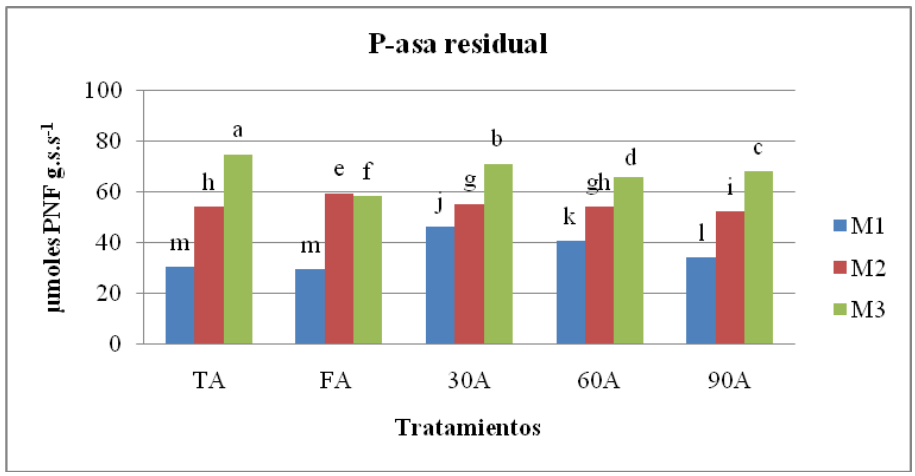


Figura 21. Fosfatasa ácida (µmoles de PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto residual.

Gallardo *et al*. (2010), señalan que la fosfatasa ácida es una enzima específica que participa en el ciclo del fósforo en el suelo. Su función es la mineralización del fósforo a través del ataque de fosfomonoesterasas, hidrolizando el P orgánico que habitualmente se encuentra en el suelo a formas inorgánicas que pueden ser absorbidas por las plantas (Alvear *et al*., 2006).

En los tratamientos de efecto acumulativo la actividad significativamente mayor se obtuvo con la dosis de 60 ton/ha, en los tratamientos de efecto residual la mayor actividad se obtuvo con 30 ton/ha.

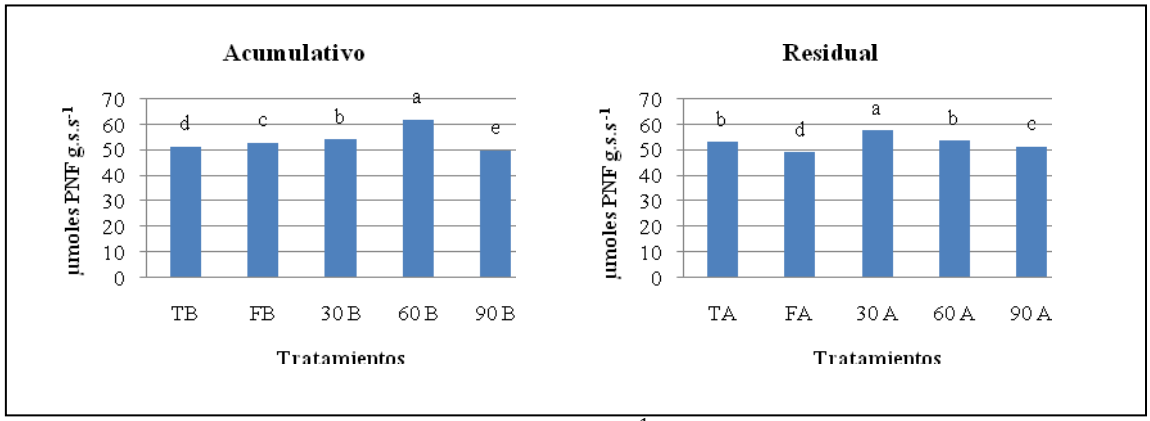


Figura 22. Fosfatasa ácida (µmoles de PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

La tasa de mineralización del P orgánico en el desarrollo del cultivo habría aumentado, para los tratamientos del efecto acumulativo y residual. Sin embargo, se observa una diferencia al aumentar las dosis de biosólidos en los tratamientos de efecto acumulativo, disminuyendo la mineralización de P orgánico, y por ende la actividad de la fosfatasa ácida en el tiempo.

Rojas (1995), indica que la MO del suelo se encuentra cargada negativamente, en forma predominante, por lo que los ácidos orgánicos forman con cationes hidroxilados, tales como $Fe(OH)_2$ y $Al(OH)_3$, combinaciones complejas que inmovilizan éstos iones liberando los iones fosfatos. Por esta razón, la agregación de estiércol y otros compuestos orgánicos favorecen la asimilación del fósforo e incrementan el contenido de P-disponible de los suelos. Por lo expuesto anteriormente, se podría explicar el alto contenido de fósforo, según las muestras de suelo (anexo 2), en las parcelas con efecto acumulativo para los tratamientos con biosólidos, en comparación al testigo que presenta un bajo contenido de este elemento. Así, la MO orgánica estaría favoreciendo la liberación de fosfatos para ser dispuestos al cultivo presentando un alto contenido de fósforo en el suelo, lo que concuerda con lo expuesto por Gallardo *et al*. (2010).

La adición de lodos disminuye la acidez de los suelos y, por lo tanto, disminuye la saturación de Al aumentando la disponibilidad de P (Gallardo *et al.*, 2007). Lo anterior estaría influyendo en la disponibilidad de P para el efecto acumulativo ya que los suelos presentan un pH débilmente ácido a neutro, favoreciendo la disponibilidad de nutrientes al compararlos con el testigo y fertilización mineral.

4.3.5 Actividad arilsulfatasa.

La actividad de la enzima arilsulfatasa (figura 23) para el efecto acumulativo, obtuvo diferencias significativas entre tratamientos y muestreos. La mayor respuesta enzimática fue posterior a la aplicación de biosólidos (M2) para todos los tratamientos, disminuyendo para (M3) previo a la cosecha del cultivo, sin embargo estos tratamientos tuvieron una actividad significativamente menor en comparación al testigo.

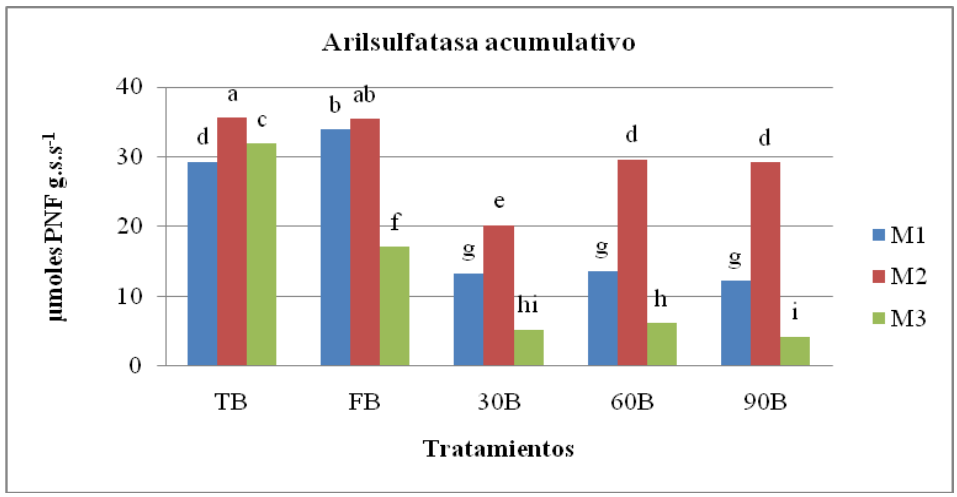


Figura 23. Arilsulfatasa (µmoles PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo.

Para los tratamientos de efecto acumulativo hubo diferencia significativa entre tratamientos con biosólidos, testigo y fertilización mineral estos últimos no presentaron diferencias entre ellos.

Los valores obtenidos para los tratamientos residuales presentaron mayores valores en comparación con los tratamientos acumulativos (figura 23), los cuales presentaron diferencias significativas.

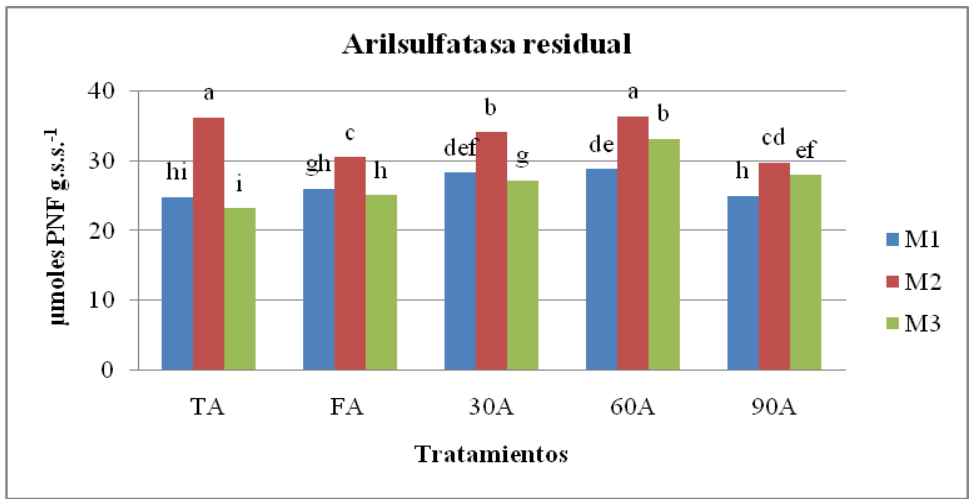


Figura 24. Arilsulfatasa (µmoles PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto residual.

En general, para los tratamientos con biosólidos el suelo modificado una vez (residual), tuvo la mayor actividad de la arilsulfatasa que los tratamientos modificados anualmente durante tres años (acumulativo).

Con respecto a los tratamientos efecto residual hubo diferencias entre los tratamientos de biosólidos, testigo y fertilización mineral, excepto la mayor dosis (90 ton/ha) que no presentó diferencias significativa con el control y fertilización mineral.

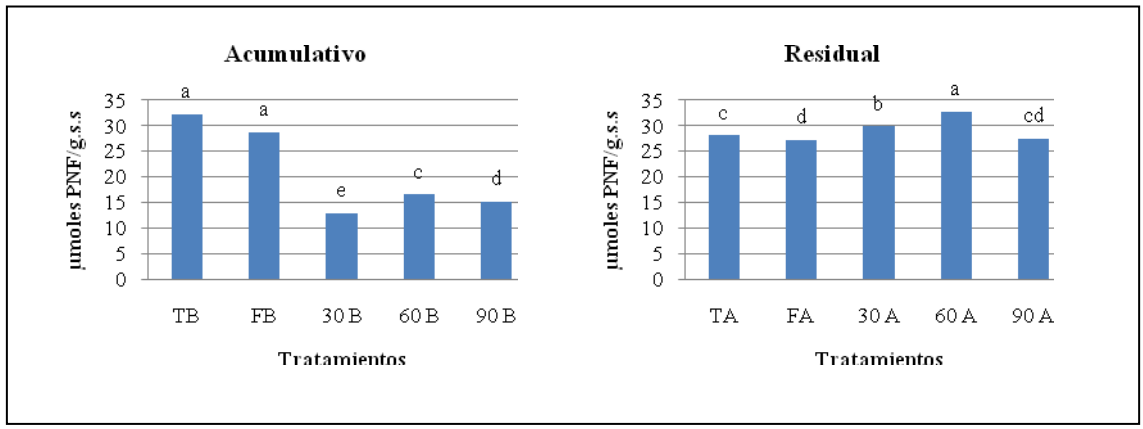


Figura 25. Arilsulfatasa (µmoles PNF g.s.s.$^{-1}$) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

Kizilkaya y Bayrakli (2005), estudiaron los efectos de la adición de diferentes dosis de lodos mediante la incubación de los suelos tratados, encontrando un aumento en la actividad arilsulfatasa durante los primeros 30 días de incubación seguido por una disminución pronunciada en comparación con el suelo sin modificaciones.

La menor actividad arilsulfatasa en el efecto acumulativo podría relacionarse con una mayor disponibilidad de S inorgánico en los suelos tratados con biosólidos, ya que esta enzima se ve influenciada por la concentración de sulfato inorgánico. Así, altas concentraciones de azufre inorgánico en el suelo, inducirían una baja actividad de esta enzima (Baltazar y Cruz, 2009), ya que los biosólidos contiene altos niveles de azufre inorgánico.

2.3.6 Estabilidad de los agregados

La estabilidad de los agregados se presenta en la figura 26. Para el efecto acumulativo se observa una disminución significativa una vez incorporado los biosólidos (M2) para posteriormente aumentar la estabilidad de los agregados en M3.

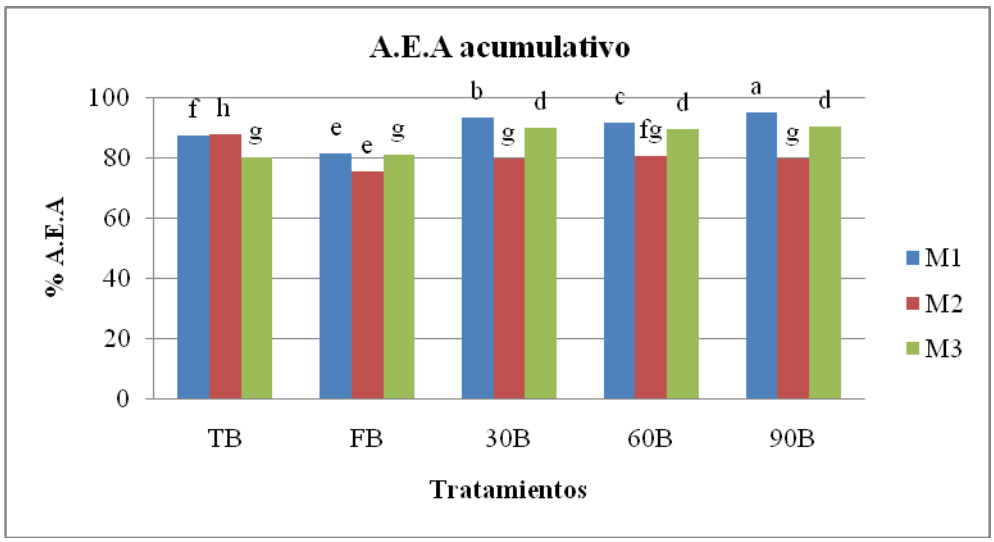


Figura 26. Estabilidad de agregados (% AEA) en tratamientos de efecto acumulativo.

Los suelos tratados con biosolidos presentaron un porcentaje significativamente mayor en comparación al testigo.

De acuerdo a la figura 27, para los tratamientos de efecto residual éstos presentaron diferencias significativas. Los mayores valores se observaron con los tratamientos con biosólidos el primer año. La variación temporal en la estabilidad de agregados se puede atribuir a las variaciones estaciónales en el contenido de agua del suelo (Wallace et al., 2007).

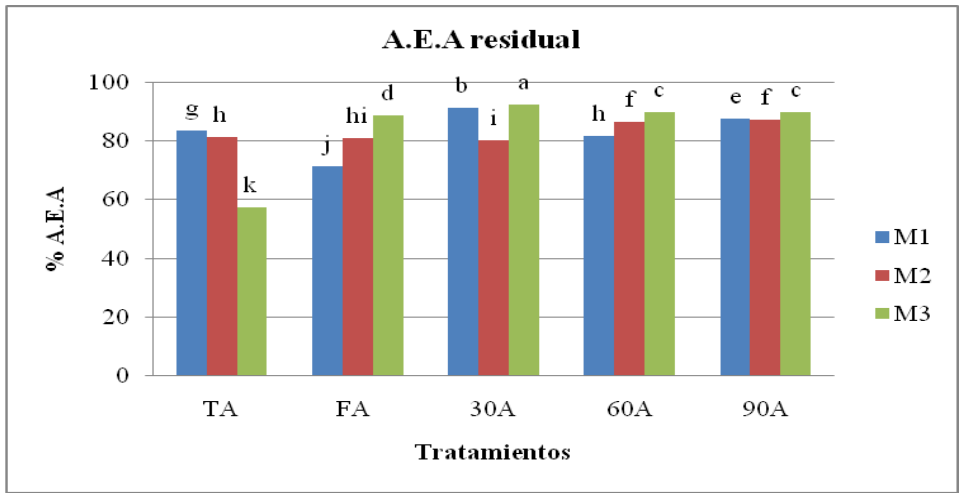


Figura 27. Estabilidad de agregados (% AEA) en tratamientos de efecto residual.

Al comparar el efecto acumulativo y residual se observa los mayores porcentajes de agregados estables en los tratamientos de biosólidos en ambos estudios, presentando valores significativamente mayores en comparación al testigo.

El mayor porcentaje de estabilidad de los agregados para el efecto acumulativo se obtuvo con la aplicación de 90 ton/ha y para el efecto residual en las tres dosis de biosólidos.

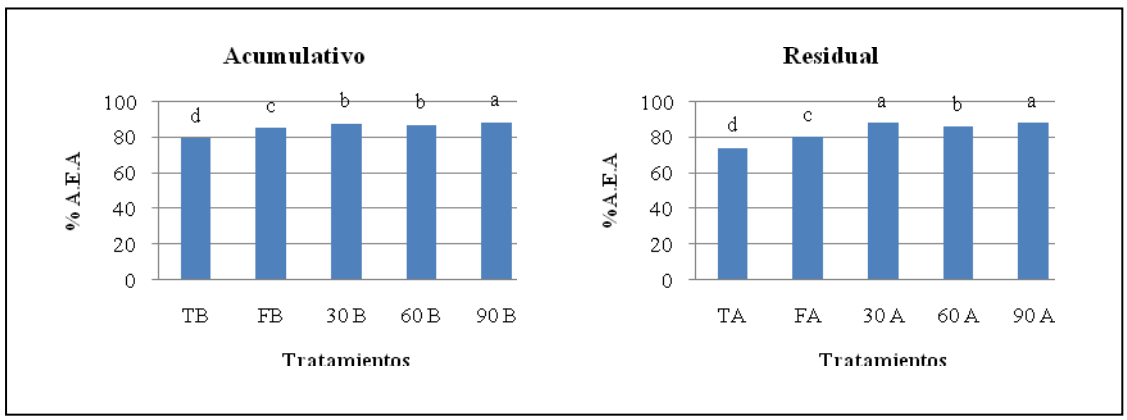


Figura 28. Estabilidad de agregados (% A.E.A) en tratamientos de efecto acumulativo y residual.

En general, hay un aumento en la estabilidad de los agregados con la aplicación de biosólidos, por lo tanto hay una relación positiva entre el contenido de MO del suelo y la estabilidad de los agregados, concordando con lo expuesto por Acevedo (2004). La concentración de la MO en el suelo es un indicador determinante de sus cualidades físicas, porque favorece la agregación y permite el desarrollo del sistema poroso secundario del suelo. La mayor estabilidad se traduciría en un aumento del diámetro medio de los agregados, favoreciendo el movimiento del agua y del aire.

Ferreras *et al*. (2005), realizaron un experimento en un suelo hortícola de Argentina, aplicando biosólidos y estiércol de caballo, conejo y pollo con dosis de 10 y 20 T ha^{-1}, obteniendo como resultado un incremento de los agregados en las parcelas con biosólidos. Cabe mencionar que algunos estudios han reportado que cuando se trabaja con dosis de biosólidos, es importante tener presente que altas tasas de aplicación pueden generar problemas de contaminación.

Según Wallace et al. (2007), el aumento de la agregación y la acumulación de carbono del suelo dentro de los agregados, luego de la aplicación de biosólidos, crea un potencial para mejorar el almacenamiento de carbono del suelo, retención de agua del suelo, disponibilidad de nutrientes, y en última instancia, la salud general del suelo.

Por otro lado, la biomasa microbiana es determinante en la formación de agregados y en la mineralización de nutrientes en las diferentes clases de tamaño de agregados. Mucha de la materia orgánica del suelo asociada con los macroagregados está relacionada con la fracción lábil.

5. CONCLUSIONES.

El análisis químico de suelo realizado a partir de muestras compuestas y a cuyos resultados no se le aplicó análisis estadístico, muestra un incremento en los nutrientes disponibles para las plantas en los tratamientos con biosólidos, además de un leve aumento en el contenido de materia orgánica y pH en el segundo muestreo, después de la aplicación de biosólidos.

En relación a los parámetros generales estudiados, al tercer año de incorporación de biosólidos al suelo, la hidrólisis de la FDA y los contenidos de CBM y NBM presentaron diferencias significativas ($p<0,05$) entre los tratamientos de efectos acumulativo, aumentando la actividad de la biomasa microbiana en comparación al tratamiento de efecto residual.

Las actividades enzimáticas que tuvieron mayor respuesta acumulativa, al tercer año de aplicación de biosólidos fueron la ureasa, fosfatasa ácida y la carboximetilcelulasa, en comparación al tratamiento de efecto residual. Las actividades enzimáticas que fueron inhibidas en las parcelas acumulativas fueron la β-glucosidasa y arilsulfatasa, presentando mayor actividad en las parcelas residuales.

En comparación a la temporada anterior se pueden observar el aumento de la actividad de los parámetros generales con valores más altos que el segundo año de evaluación. En el caso de las actividades enzimáticas, como la fosfatasa ácida, β-glucosidasa y arilsulfatasa tienden a ser menores en la actual temporada, mientras que la ureasa y carboximetilcelulasa obtienen valores más altos que el segundo año de evaluación.

6. RESUMEN

En la Región de la Araucanía ha habido un aumento de lodos proveniente de plantas de tratamientos de aguas servidas, que se caracterizan por un alto contenido de materia orgánica y nutriente, considerándose una alternativa para mejorar suelos degradados. El objetivo fue evaluar el efecto acumulativo y residual tras aplicar tres dosis de biosólidos sobre algunos parámetros biológicos de un suelo Andisol, de la comuna de Cunco.

Para evaluar los efectos biosólidos sobre el suelo se utilizaron como bioindicadores las actividades biológicas, las que se relacionan con la materia orgánica y el ciclado de nutrientes. Se establecieron parcelas testigo y con adición de 30, 60 y 90 mg ha^{-1} de biosólidos. El estudio contempló 3 años, estableciendo parcelas con adiciones anuales, acumulativas, y con adición sólo al inicio del primer año, residuales.

Los resultados indican un aumento en el contenido de la biomasa microbiana estableciendo que los biosólidos podrían proporcionar al suelo carbono y nitrógeno que serían incorporados en los ciclos biogeoquímicos y asimilados por la biomasa microbiana. La actividad de las enzimas evaluadas fueron mayores posterior a la aplicación de biosólidos (M2) para todos los tratamientos, disminuyendo para (M3) previo a la cosecha del cultivo. La mayor estabilidad de agregados se observó en los tratamientos con biosólidos el primer año. La variación temporal en la estabilidad de agregados se atribuye a variaciones estacionales de la humedad del suelo.

La utilización biosólidos de calidad aceptable a través del sistema suelo puede contribuir de forma importante a la conservación de los recursos naturales. Sin embargo, es importante se debe tener la precaución que los biosólidos no generen efectos nocivos al sistema suelo y la biota, para lo que se debe establecer las dosis adecuadas y su efecto acumulativo en el suelo.

7. SUMMARY

In the Araucanía Region has been an increase in plant sludge from wastewater treatment, characterized by a high content of organic matter and nutrients, considered an alternative to improve degraded soils. The objective was to evaluate the cumulative and residual effects after three doses of biosolids application on some soil biological parameters Andisol of Cunco.

To evaluate the effects soil biosolids on bioindicators were used as biological activities which are related to organic matter and nutrient cycling. Plots were established and with the addition of 30, 60 and 90 mg ha^{-1} of biosolids. The study looked at 3 years, establishing plots with annual additions, cumulative, and adding only the beginning of the first year plants.

The results indicate an increase in microbial biomass content of the biosolids setting could provide the soil carbon and nitrogen to be incorporated in biogeochemical cycles and assimilated by the microbial biomass. The activity of the enzymes evaluated were higher after application of biosolids (M2) for all treatments, decreasing to before harvesting the crop (M3). The greater water stable aggregates was observed in the biosolids treatments the first year. Temporal variation in aggregate stability was attributed to seasonal variations in soil moisture.

Using biosolids of acceptable quality through the soil system can contribute significantly to the conservation of natural resources. However, it is important you must take care that biosolids do not generate harmful effects to soil and biota system, for which it should establish the appropriate dose and the cumulative effect on the ground.

8. LITERATURA CITADA

Acevedo, E. 2004. Valorización de lodos provenientes de tratamiento de aguas servidas como mejorador de suelos degradados. U. de Chile –SAG. 33p.

Acevedo, E. Carrasco, A., León, O., Martínez, E. Silva, P. Castillo, G. Ahumada, I. Borie, G. y González, S. 2005. Informe: Criterio de calidad de suelos agrícola. SAG (Chile). 205p.

Acosta, Y. y Paolini, J. 2006. Dinámica de la biomasa microbiana (C y N) en un suelo de la península de Paraguaná tratado con residuos orgánicos. Venezuela. Multiciencias 6 (2): 180-187.

Adam, G. and Duncan, H. 2001. Development of a sensitive and rapid method for the measurement of total microbial activity using fluorescein diacetate (FDA) in a range of soils. Soil Biology and biochemistry. 33: 943-851.

Alvear, M. Rosas, A. Rouanet, J. and Borie, G. 2005. Effects of three soil tillage systems on some biological activities in an ultisol from southern Chile. Soil & Tillage Research 82:195-202.

Alvear, M. Pino, M. Castillo, C. Trasar-Cepeda, C. y Gil-Sotres, F. 2006. Efecto de la cero labranza sobre algunas actividades biológicas en un alfisol del sur de Chile. Rev. Cienc. Suelo Nutr. 6, 38-53.

Alvear, M. Reyes, F. Morales, A. Arriagada, C. y Reyes, M. 2007a. Actividad biológica y agregados estables al agua en dos tipos de formaciones vegetales de un bosque templado del centro-sur de Chile con perturbación antrópica. Ecología Austral. 17; 113-122p.

Alvear, M. Urra, C. Huaiquilao, R. Astorga, M. y Reyes F. 2007b. Actividades biológicas y estabilidad de agregados en un suelo del bosque templado chileno bajo dos etapas sucesionales y cambios estacionales Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal 7 (3): 38-50.

Alvear, M. Astorga M. y Reyes F. 2008. Efecto de los residuos vegetales provenientes de dos tratamientos silvícolas en una plantación de Pinus radiata D. Don sobre los cambios estacionales de las actividades biológicas del suelo. Revista de la Ciencia del Suelo y Nutrición Vegetal 8(1): 14-27.

Antolín, C. Pascual, I. García, C. Polo, A. and Sánchez-Díaz, M. 2005. Growth, yield and solute content of barley in soils treated with sewage sludge under semiarid Mediterranean conditions. Field Crops Research.94:224–237.

Araújo, A. y Monteiro, R. 2006. Microbial biomass and activity in a Brazilian soil amended with untreated and composted textile sludge. Chemosphere 64: 1043–1046.

Baltazar, A. y Cruz, F. 2009.Actividad arilsulfatasa y su relación con azufre en suelos del Parque Nacional Izta- Popo. Mexico

Barañao, P. y Tapia, L. 2004.Tratamiento de las aguas servidas: Situación en Chile. Ciencia y Trabajo. Chile 6 (13): 111-117.

Barbarick, K. Doxtader, K. Rédente, E. and Brobst, R. 2004. Biosolids effects on microbial activity in shrubland and grassland soils. Soil Science.169.3.176-187.

Barrientos, L. Rouanet, J. Parada, y A. Pinos, I. 2003. Los microorganismos y la fertilidad biológica del suelo.Tierra Adentro 48.

Bohme, L. Langer, U. and Bohme, F. 2005. Agriculture, ecosystems and environment 109 :141–15.

Borges, E. Reynaldo, I. Cabrera, J. Ramos,E. y Miranda, A. 2007.Aplicacion de biosólido en el cultivo de plántulas de tomate. Revista Ciencias Técnicas Agropecuarias. Cuba. 16 (001). 65-69.

Cartes, P. Jara, A. Demanet, R. and Mora, M. 2009. Urease activity and nitrogen mineralization kinetics as affected by temperature and urea input rate in southern chilean andisols. R.C.Suelo Nutr. Veg. 9 (1) 2009 (69-82)

Carrillo, L. 2003. Microbiologia agrícola. Capitulo 3.

Casado-Vela, J. Sellés, S. Navarro, J. Bustamante, M. Mataix, J. Guerrero, C. and Gomez, I. 2006. Evaluation of composted sewage sludge as nutritional source for horticultural soils. Waste Management, Volume 26, Issue 9, 2006, Pages 946-952.

Castro, C. Henriquez, O. y Freres, R. 2007. Posibilidades de aplicación de lodos o biosólidos a los suelos del sector norte de la Región Metropolitana de Santiago. Revista Geografía Norte Grande. Santiago. 37.

Celis, J., Sandoval, M., Zagal, E. y Briones, M. 2006. Efecto de la adición de biosolidos urbanos y de salmonicultura sobre la germinación de semillas de lechuga (*Lactuca sativa* l.) en un suelo patagónico. Revista de la ciencia del suelo y nutrición vegetal. 6 (3): 13-25.

Cerda, A. 1994. Métodos para la medición de los agregados del suelo. Cuertenario y Geomorfología (Hollanda). 8 (1-2):69-85.

Cerón, L. y Melgarejo, L. 2005. Enzimas del suelo: Indicadores de Salud y Calidad. Acta Biológica Colombiana 10, 5-18.

CONAMA (Comisión Nacional del Medio Ambiente). 2005. Reglamento para el manejo de lodos generados en plantas de tratamiento de aguas. 22p.

Contreras, S., Navarro, C., Corvalán, D., Y Arata, Paola. 2008. Evaluación de la potencialidad del uso de biosólidos originados en las Plantas de Tratamientos de Aguas Servidas en la fabricación de ladrillos. XXXI Congreso Interamericano AIDES. Santiago Chile.

Cortez, E. 2003. Fundamentos de ingeniería para el tratamiento de biosólidos generados por la depuración de aguas servidas de la región Metropolitana. Tesis para optar al Título de Ingeniero Civil. Universidad de Chile, Santiago. 102p.

Curiñir, N. 2006. Cuantificacion de los cambios ocurridos en algunos parámetros biológicos

Delgado, R. y España, M. 2000. Evaluación de la masa microbiana por los metodos de fumigación-incubación y fumigación-extracción y su relacion con la disponibilidad de nitrógeno en suelos de Venezuela. Agronomía Tropical. Venezuela. 50 (4): 537-551

Ecoamerica. 2007. Tratamiento biológico de aguas residuales. Revista Ecoamerica. Chile. 66: 18-22.

Ellies, A. Grez, y R. Ramirez, G. 1995. Potencial de humectación y estabilidad estructural de suelos sometidos a diferentes manejos. Agricultura técnica (Chile). 55 (3-4):220-225.

EPA. 2000. Folleto informativo de tecnología de biosólidos. Aplicación de biosólidos al terreno. Office of Water Washington, D.C., Estados Unidos. 832-F-00-064.

EPA. 2003. Environmental regulations and technology Control of pathogens and vector attraction in sewage sludge. Office of research and development national risk management research laboratory Center for Environmental Research Information,
Cincinnati. Estados Unidos. 625-R-92-013, 186p.

Escudey, M. Forster, J. Becerra, J. Quinteros, M.Torres, J. Arancibia, N. Galindo, G and Chang, A. 2006. Disposal of domestic sludge and sludge ash on volcanic soils. Journal of Hazardous Materials B139 550–555.

Esparza, J. 2004. Uso de lodo biológico proveniente del tratamiento de efluentes de la industria de la celulosa como mejorador de suelos degradados. Tesis Magíster en Ciencias de Recursos Naturales. Universidad de La Frontera. Temuco. 1-2p.

Epstein, E. 2003. Land application of sewage sludge and biosolids. Lewis Publishers. CRC PressLLC. Florida. Estados Unidos. 3-166p.

Faúndez, P. 2005. Actividad microbiológica global en suelos acondicionados con biosólidos cloacales frescos y compostados con residuos forestales. Memoria para optar al Título Profesional de Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile. Santiago.

Fernandes, S.A.P, Bettiol, W. and Cerri, C. 2005. Effect of sewage sludge on microbial biomass, basal respiration, metabolic quotient and soil enzymatic activity. Appl. Soil Ecol. 30, 65–77.

Fernández, J. Plaza, C. Juan C. García-Gil, J. and Polo, A. 2009. Biochemical properties and barley yield in a semiarid Mediterranean soil amended with two kinds of sewage sludge. Applied Soil Ecology. 42:18–24

Ferreras, L. Gómez, E. Toresani, S. Firpo, I. and Rotondo, R.2005. Effect of organic amendments on some physical, chemical and biological properties in a horticultural soil. Bioresource Technology. Volume 97, Issue 4. Pages 635-640.

Ferrari, J. Garcia, F. y Echeverria, H.1997. Evolución del carbono y nitrogeno de la biomasa microbiana durante el desarrollo del cultivo de trigo. Ciencia del suelo.15:64-70.

Franchini, J. Crispino, C. Souza, R. Torres, E. and Hungria, M. 2005. Microbiological parameters as indicators of soil quality under various soil management and crop rotation systems in southern Brazil. Soil and Tillage Research. 92:18–29.

Franzluebbers, A. Hons, F. and zuberer, D. 1994. Seasonal Management systems. Soil Biology and Biochemistry. 26 (11): 1469-1475.

Fresquez, P. y Dennis, G. 1990. Composition and fungal groups associated with sewage sludge atended grassland soils. Journal Arid Soil Residual Rehabil, Nº 4, p. 19-32.

Frioni, L. 1999. Procesos microbianos.Editorial de la Fundacion Universidad Nacional de Río Cuarto.Argentina. 332p.

Gallardo, F. Mora, M. and Diez, M. 2007. Kraft mill sludge to improve vegetal production in chilean Andisol. Water Sci.Technol. 55: 31-37.

Gallardo, F. Bravo, C. Briceño, G. and Diez, M. 2010.Use of sludge from kraft mill wastewater treatment as improver of volcanic soils: effect on soil biological parameters. Revista Ciencias del Suelo Nutrición Vegetal.10(1):48 – 61.

Garbisu, C. Becerril, J. Epelde, L. y Alkorta, I. 2007. Bioindicadores de la calidad del suelo: herramienta metodológica para la evaluación de la eficacia de un proceso fitorremediador. Ecosistemas.16 (2): 44-49.

García-Gil, J. 2001. Efectos residuales y acumulativos producidos por la aplicación de compost de residuos urbanos y lodos de depuradoras sobre agrosistemas mediterráneos degradados. Tesis Doctoral. Centro de Ciencias Medioambientales. Madrid. España. 284 p.

Ge, G. Li, Z. Fan, F. Chu, G. Hou, Z. and Liang, Y. 2010.Soil biological activity and their seasonal variations in response to long-term application of organic and inorganic fertilizers. Plant Soil 326:31–44.

Harris-Pierce. 1994. The effects of biosolids application on native ranfeland soils and vegetation. Colorado: M.S. thesis, Colorado State University Fort Collins.

Hojati, S. and Nourbalhsh, F. 2006. Enzyme activities and microbial biomass carbon in a soil amended with organic and inorganic fertilizer. J. Agron. Links 5:563-579.

Honorato, R. 1993. Manual de Edafología. Ediciones Universidad Católica de Chile. 195p.

Hungria, M. Franchini, J. Brandao-Junior, O. Kaschuk, G. and Aparecida, R. 2009. Soil microbial activity and crop sustainability in a long-term experiment with three soil-tillage and two crop-rotation systems. Applied Soil Ecology. 42: 288–296.

Iovieno, P. Morra, L. Leone, A. Pagano, L. and Alfani, A. 2009. Effect of organic and mineral fertilizers on soil respiration and enzyme activities of two Mediterranean horticultural soils. Biology and fertility of soils. 45: 555–561.

Kizilkaya, R. Bayrakli B. 2005. Effects of N-enriched sewage sludge on soil enzime activities. Applied soil ecology. Samsum, Turquia. 30; 192-202p.

Knight Piésold S.A. 1998. Caracterización, reutilización, tratamiento y disposición final de lodos provenientes de plantas de tratamiento, para la elaboración de una propuesta de normas técnicas de manejo. Contrato Nº07-0002-044.

Linden, D. Larson, W. Dowdy, R. Clapp, C. 1995. Agricultural utilization of sewage sludge. Minnesota Agricultural Experiment Station, University of Minnesota, Estados Unidos.606–1995p.

Lopez, R. 2006. Evaluación del efecto del molibdeno sobre algunos parámetros bioquímicos del suelo y la planta en Andisoles del sur de Chile. Tesis para optar el grado academico de doctor en Ciencias de Recursos Naturales.Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.131p.

Luna, G., Vega, J., Franco H, Vásquez, S., Trujillo, N. Ramírez E. y Dendooven L. 2002. Revista XX Aniversario de Biotecnología y Bioingeniería. Mexico.

Maldonado, I. 2009. Informe nacional agrometeorológico. NIA Quilamapu.

Malý, S. Královec, J. and Hampel, D.2009. Effects of long-term mineral fertilization on microbial biomass, microbial activity, and the presence of r- and K-strategists in soil. Biology and fertility of soils.45:753–760.

Mariscal, I. 2008. Recuperación de la calidad de Ultisoles mediterráneos degradados, mediante la aplicación de enmiendas y formas alternativas de uso. Tesis doctoral. Universidad Politécnica de Madrid. Madrid, España. 296p.

Marambio, C. y Ortega, R. 2003. Uso potencial de lodos derivados del tratamiento de aguas servidas en la producción de cultivos en Chile. Agronomía y Forestal UC (Chile). 12; 20- 24p.

Mendoza, J. Garrido, T. Castillo, G. y Ahumada, I. 2005. **A**plicación de biosólidos al suelo toxicidad y efecto sobre la movilidad y biodisponibilidad de metales pesados. Boletín Nº20 Simposio. Residuos Orgánicos y su uso en Sistemas Agroforestales. Santiago, Chile.14p.

Millar, D. 2007. Efecto de la aplicación de biosólidos provenientes de una planta de tratamiento de aguas servidas sobre las propiedades físicas de un suelo Andisol. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de La Frontera. Temuco. 74 p.

Mujica, F. Viky, C. Pérez, C. Ledezma, G. y Ortega, M. 2006. Propuesta técnica para el tratamiento y disposición final de los lodos provenientes de una planta potabilizadora. AIDIS; Asociación Interamericana de Ingeniería Sanitaria y Ambiental. Sección Uruguay. Rescatando antiguos principios para los nuevos desafíos del milenio. Montevideo, AIDIS p.1-5

Nuñez, M. 2007. Evaluación de algunas actividades biológicas, de un Andisol manejado con tres dosis de biosólidos cloacales en una siembra de trigo. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de La Frontera. Temuco. 94p.

Ochoa, V. Hinojosa, B. Gómez-Muñoz, B. y García-Ruiz, R. 2007.Actividades enzimáticas como indicadores de calidad del suelo en agroecosistemas ecológicos. Iniciación a la investigación (España) 2

Oropeza, N. 2006. Lodos residuales: estabilización y manejo. Revista de la División de Ciencias e Ingeniería de la Universidad de Quintana Roo**:** Caos Conciencia. Mexico 1: 51-58.

Pengue, W. 2005. Agricultura industrial y transnacionalización en America Latina: La transgénesis de un continente. Programa de las Naciones Unidas para el medio ambiente. México D.F. México.220 p.

Perez, C. 2001. Estudio de prospección de los cambios en las actividades biológicas en un suelo Andisol sometidos a distintos grados de intervención agrícola. Tesis para optar al titulo de Inginiero Agrónomo. Universidad de la Frontera. Chile.

Perotti, E. Pidello, A. Leyendeker, L. Trasar-cepeda, C. Leirós, M. and Gil-sotres, F. 2008. Behaviour of enzymatic activities and root elongation in Argiudoll soils from the Argentine Humid Pampa treated with biosolids. Revista Argentina de Microbiología 40: 120-123.

Polo, A. 2005. Sistemas de tratamientos de lodos de depuradora. Curso Internacional: Condicionantes de los lodos de depuradoras urbanas para su aplicación en suelos y su normativa legal. Situación actual en la Unión Europea y en España. Temuco, Chile.

Reynolds, K. 2002. Tratamiento de aguas residuales en Latinoamérica: Identificación del problema. Agua Latinoamericana: De la llave 2 (5).

Reyes, F.2003. Prospección de actividades biológicas a nivel de rizósfera en renoval de Roble y sobre el Carbono y Fósforo Biomásico, en un Andisol de la IX región. Tesis para optar al título de Ingeniero Forestal. Universidad de La Frontera. Temuco. Chile.

Rigby, H. Perez-Viana, F. Cass, J. Rogers, M. and Smith, S.R. 2009.The influence of soil and biosolids type, and microbial immobilisation on nitrogen availability in biosolids-amended agricultural soils – implications for fertiliser recommendations. Soil Use and Management.25:395–408.

Rivas, Y. Oyarzún, C. Godoy, R. y Valenzuela, E. 2009. Mineralización del nitrógeno, carbono y actividad enzimática del suelo en un bosque de Nothofagus obliqua (Mirb) Oerst y una plantación de Pinus radiata D. Don. del centro-sur de Chile. Revista Chilena de Historia Natural.82: 119-134.

Ramila, J., Rojas, S. 2008. Alternativas de uso y disposición de biosólidos y su impacto en las tarifas de agua. Seminario para optar al Título Ingeniero Comercial Mención Administración. Universidad de Chile. Santiago. Chile. 143p.

Rojas, C.1995. Interpretacion de la disponibilidad de Fósforo en los suelos volcánicos.Centro Regional de Investigacion INIA La Platina. Pp 20.

Ros, M. Pascual, JA. Garcia, C. Hernandez, M. and Insam, H. 2006. Hydrolase activities, microbial biomass and bacterial community in a soil after long-term amendment with different composts. Soil Biol. Biochem. 38:3443–3452.

Sadzawka, A. Carrasco, M. Grez, R. y Mora, M. 2006. Acidificación de los suelos volcánicos de Chile. INIA.

Sánchez-Monedero, M. Mondini, C. Cayuela, M. Roig, A. Contin, M. and De Nobili, M. 2008. Fluorescein diacetate hydrolysis, respiration and microbial biomass in freshly amended soils. Biol. Fertil. Soils 44:885–890.

Santander, G. 2005. **E**fecto de la aplicación de residuos sólidos de alto impacto en la actividad biológica de suelos de uso forestal. Memoria de título para optar al título de Bioquímico. Universidad de Chile. Santiago, Chile. 61p

Segovia, M. 2008. Evaluación de algunas actividades biológicas en un suelo Andisol, manejado con diferentes biosólidos cloacales en trigo, al segundo año de aplicación. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de La Frontera.

Seoónez, M. 2004. Depuración de las aguas residuales por tecnologias ecologicas y de bajo costo. Mundi prensa.

Singh, R. and Agrawal, M. 2008. Potential benefits and risks of land application of sewage sludge. Waste Management. PWS Publishing (USA), (573): 20; 347-358p.

Smith, S. 2009. A critical review of the bioavailability and impacts of heavy metals in municipal solid waste composts compared to sewage sludge. Environment International.35:142–156.

Soto, C. 2008. Evaluación de algunas actividades biológicas generales en un Andisol, manejado con diferentes dosis de biosólidos en una sementera de trigo, al segundo año de aplicación. Tesis Ingeniero Agrónomo. Universidad de La Frontera. Temuco.70 p.

Superintendencia de Servicios Sanitarios (SISS).2006. Informe situacion del abastecimiento de agua potable

Tarango, S. and Orrantia, E. 2008. Use of biosolids in pecan nutrition. XXXI Congreso interamericano de ingeniería sanitaria y ambiental. Santiago. Chile.10p

Tejeda, M. and Gonzalez, J.L. 2003. Effects of the application of a compost originating from crushed cotton gin residues on wheat yield under dryland conditions. European Journal of Agronomy 19:357-368.

Toro, F. 2005. Áreas potenciales para la aplicación de biosólidos en Plantaciones Forestales de la VI Región de Chile. Memoria para optar al Título de Ingeniero Forestal. Universidad de Chile. Santiago. Chile. 3-21 p.

Liu,W., Xu, W., and Wan, S. 2007. Responses of microbial biomass and respiration of soil to topography, burning, and nitrogen fertilization in a temperate steppe. Biol Fertil Soils 44:259–268

Vallejos, S. 2004. Etapas del Tratamiento de Aguas Servidas. Hanna instruments. Disponible en http://www.hannachile.com/noticias-articulos-y-consejos/articulos/199-etapas-tratamiento-aguas-servidas Leído el 10 de noviembre de 2009.

Wallace, B. Krzic, M. Forge, T. Broersma, K. and Newman, R. 2007. Biosolids increase soil aggregation and protection of soil carbon five years after application on a crested Wheatgrass pasture.

Warman, P. and Termeer, W. 2004. Evaluation of sewage sludge, septic waste and sludge compost applications to corn and forage: yields and N, P and K content of crops and soils. Bioresource Technology, Volume 96. 95-96 p.

Zagal, E. and Cordova, C. 2005. Soil Organic Matter Quality Indicators in a Cultivated Andisol. Agricultura Técnica (Chile). 65 (2): 186-197.

Mes	Precipitación (mm)	Tº mínima	Tº máxima	Tº media
Marzo	8,2	-1,7	32,2	15,4
Abril	68,8	-2,1	26,4	10,7

9. ANEXOS

Anexo 1. Precipitación total mensual (mm), Temperaturas, mínima, máxima y media (ºC), temporada 2008-2009.

Mayo	219	-6	19,8	8,9
Junio	155	-1,6	17,8	7,6
Julio	215	-2	17,4	8,3
Agosto	365	-3,1	15,4	7,5
Septiembre	49,9	-2,9	27,5	9,7
Octubre	25	-1,7	26,1	10,9
Noviembre	43	1,6	30,1	14
Diciembre	27,4	2,2	34,3	16,5
Enero	16,8	1,6	33,4	16,5
Febrero	35,5	1,8	32,7	15,9
Marzo	12			

Fuente: INIA Carillanca, informe nacional agrometeorológico (2009)

Anexo 2. Análisis químico de suelo.

ANALISIS QUIMICO DE SUELO

Sr/Sra (Razón Social): Itilier Salazar
Predio : s/n
R.U.T : 87.912.900-1
Dirección : Francisco Salazar Nº 01145
Ciudad : Temuco
Localidad : Las Hortensias

11 marzo 2008

Muestra /Potrero	TB	TFB	T 30 B	T 60 B	T 90 B
N (mg/kg)	31	36	30	28	29
P (mg/kg)	5	7	23	77	94
K (mg/kg)	20	63	94	129	145
pH (en agua)	6,06	5,56	5,89	6,76	7,01
Materia orgánica (%)	16	18	18	20	20
K (cmol+/kg)	0,05	0,16	0,24	0,33	0,37
Na (cmol+/kg)	0,03	0,17	0,03	0,05	0,06
Ca (cmol+/kg)	4,69	2,84	15,03	24,48	30,78
Mg (cmol+/kg)	0,29	0,47	0,64	1,23	1,5
Al (cmol+/kg)	0,01	0,13	0,03	0,03	0,03
Saturación de Al (%)	0,2	3,45	0,19	0,11	0,09
CICE (cmol+/kg)	5,07	3,77	15,97	26,12	32,74
S. Bases (cmol+/kg)	5,06	3,64	15,94	26,09	32,71
B (ppm)	0,2	0,16	0,5	0,62	0,64
Zn (ppm)	1,29	1,79	6,86	16,02	16,23
Cu (ppm)	1,34	1,45	5,08	12,15	13,5
Fe (ppm)	40	34	39	64	66
Mn (ppm)	0,12	0,42	3,02	3,62	5,12
S (ppm)	18	14	64	85	93
Al Ext. (ppm)	763	856	457	226	212
pH Ca Cl2	5,58	4,83	5,47	6,44	6,61

METODOLOGIA
P 8,5 (Olsen; S disponible: extracción con Ca (H2PO4) 20,01 mol/L; Ca, Mg, K y Na intercambiables: extracción con CH3COONH4 1 mol/L a pH 7,0; Al intercambiable: extracción con KCl 1 mol/L; CICE: Ca+Mg+K+Na+Al intercambiables; saturación de Al: (Al intercambiable *100)/CICE; Técnicas analiticas según normas de la CNA de la Sociedad Chilena de la Ciencia del Suelo

11 marzo 2008

Muestra /Potrero	TA	TFA	T 30 A	T 60 A	T 90 A
N (mg/kg)	35	37	36	36	38

P (mg/kg)	6	9	14	8	12
K (mg/kg)	43	63	55	47	51
pH (en agua)	5,44	5,42	5,49	5,49	5,37
Materia orgánica (%)	17	18	17	16	17
K (cmol+/kg)	0,11	0,16	0,14	0,12	0,13
Na (cmol+/kg)	0,05	0,17	0,06	0,01	0,03
Ca (cmol+/kg)	2,6	2,56	7,56	4,59	6,25
Mg (cmol+/kg)	0,46	0,43	0,46	0,31	0,39
Al (cmol+/kg)	0,16	0,18	0,07	0,06	0,08
Saturación de Al (%)	4,73	5,14	0,84	1,18	1,16
CICE (cmol+/kg)	3,38	3,5	8,29	5,09	6,88
S. Bases (cmol+/kg)	3,22	3,32	8,22	5,03	6,8
B (ppm)	0,18	0,22	0,22	0,38	0,32
Zn (ppm)	2,08	2,73	4,2	1,25	2,71
Cu (ppm)	1,88	2,15	3,22	1,34	2,41
Fe (ppm)	35	35	37	32	36
Mn (ppm)	3,71	3,49	5,09	0,14	1,3
S (ppm)	12	13	41	30	37
Al Ext. (ppm)	871	876	658	712	716
pH Ca Cl2	4,81	4,8	4,92	4,96	4,99

28 marzo 2009

Muestra /Potrero	**TB**	**TFB**	**T 30 B**	**T 60 B**	**T 90 B**
N (mg/kg)	32	37	33	35	34

P (mg/kg)	7	13	41	89	46
K (mg/kg)	66	164	145	227	156
pH (en agua)	5,96	5,42	6,27	6,92	6,37
Materia orgánica (%)	18	19	21	20	19
K (cmol+/kg)	0,17	0,42	0,37	0,58	0,4
Na (cmol+/kg)	0,14	0,12	0,07	0,03	0,06
Ca (cmol+/kg)	10,95	4,58	24,84	30,54	28,04
Mg (cmol+/kg)	0,53	0,48	0,78	0,94	0,98
Al (cmol+/kg)	0,04	0,12	0,04	0,03	0,03
Saturación de Al (%)	0,34	2,1	0,15	0,09	0,1
CICE (cmol+/kg)	11,83	5,72	26,1	32,12	29,51
S. Bases (cmol+/kg)	11,79	5,6	26,06	32,09	29,48
B (ppm)	0,21	0,2	0,44	0,49	0,49
Zn (ppm)	2,02	2,85	10,2	14,9	9,66
Cu (ppm)	1,88	2,08	8,7	12,3	8,31
Fe (ppm)	47,4	42,9	76	98	77,2
Mn (ppm)	2,11	2,15	4,58	5,47	5,13
S (ppm)	16	9	59	56	98
Al Ext. (ppm)	1065	1103	493	363	618
pH Ca Cl2	5,44	4,85	5,97	6,58	6,1

28 marzo 2009

Muestra /Potrero	**TA**	**TFA**	**T 30 A**	**T 60 A**	**T 90 A**
N (mg/kg)	36	38	35	32	37

P (mg/kg)	6	9	19	10	23
K (mg/kg)	39	98	94	78	86
pH (en agua)	5,39	5,33	5,56	5,49	5,69
Materia orgánica (%)	18	19	19	15	19
K (cmol+/kg)	0,1	0,25	0,24	0,2	0,22
Na (cmol+/kg)	0,1	0,15	0,03	0,05	0,03
Ca (cmol+/kg)	2,32	3,05	10,47	6,15	11,32
Mg (cmol+/kg)	0,41	0,44	0,46	0,37	0,48
Al (cmol+/kg)	0,14	0,15	0,05	0,06	0,06
Saturación de Al (%)	4,56	3,71	0,44	0,88	0,5
CICE (cmol+/kg)	3,07	4,04	11,25	6,83	12,11
S. Bases (cmol+/kg)	2,93	3,89	11,2	6,77	12,05
B (ppm)	0,24	0,19	0,26	0,22	0,24
Zn (ppm)	0,94	1,82	5,39	0,69	6,13
Cu (ppm)	1,13	1,65	4,76	0,84	5,23
Fe (ppm)	32,5	34,5	39,5	31	46,8
Mn (ppm)	0,81	1,59	2,93	0,78	4,68
S (ppm)	10	10	50	29	48
Al Ext. (ppm)	1114	1009	753	856	698
pH Ca Cl2	4,7	4,71	5,19	5,01	5,32

Anexo 3a. Cuadro de resultados de los tres muestreos, efecto acumulativo

Muestra	CBM mg C K gss^{-1}	NBM mg N k gss^{-1}	FDA ug F gss^{-1}	Ureasa µmoles de NH3 gss^{-1}	CMC-asa µmoles glc hr^{-1}	B- Glucosidasa umoles de PNF gss^{-1}	Fosfatasa Acida µmoles PNF gss^{-1}	Arilsulfatasa µmoles PNF gss^{-1}	% AEA
TB 1	1817,22	95,40	88,31	1,68	1,85	15,93	48,72	29,88	81,90
TB 1	1799,54	95,00	89,60	1,44	1,74	15,93	47,98	28,94	81,30

TB 1	1721,52	89,00	87,98	1,91	1,80	14,81	48,32	29,05	81,21
TB 2	2093,59	107,88	87,75	1,89	2,07	6,23	54,53	35,49	74,80
TB 2	2195,32	121,62	88,17	1,91	2,11	7,00	53,97	35,50	75,11
TB 2	2234,01	135,36	88,00	1,87	2,18	6,10	54,22	35,86	76,01
TB 3	1584,30	85,12	79,11	3,11	1,64	1,35	52,17	32,25	80,20
TB 3	1501,24	83,30	78,94	3,10	1,54	2,10	52,75	31,90	81,32
TB 3	1500,98	81,19	78,18	3,12	1,51	1,90	52,06	31,60	81,76
FB 1	2035,08	98,00	76,77	0,94	1,77	11,37	46,26	33,34	87,40
FB 1	2046,05	92,00	78,48	0,89	1,70	12,06	46,87	33,48	87,54
FB 1	1999,65	95,00	75,06	0,99	1,70	11,46	46,03	35,02	87,32
FB 2	2099,76	179,95	98,20	1,94	3,41	8,20	48,14	35,98	87,20
FB 2	2147,67	175,68	97,87	1,98	3,35	8,24	48,34	35,08	87,56
FB 2	2199,56	184,22	97,00	1,90	3,28	8,11	48,76	35,08	87,98
FB 3	1804,31	103,37	72,53	3,37	2,45	2,03	65,03	17,98	80,40
FB 3	1896,87	101,43	71,97	3,34	2,35	2,38	64,98	16,83	80,26
FB 3	1832,78	105,31	72,19	3,40	2,31	2,54	63,54	16,43	79,95
30B 1	1886,97	118,92	73,88	1,26	1,67	17,68	34,99	12,87	92,90
30B 1	1799,65	121,07	73,00	1,12	1,76	18,07	35,09	13,12	93,09
30B 1	1886,97	116,76	74,18	1,39	1,75	17,05	35,65	13,87	93,19
30B 2	1986,97	303,67	108,22	2,04	1,85	9,80	50,30	19,97	79,00
30B 2	2086,98	304,77	106,56	1,90	1,80	9,77	51,48	20,08	80,42
30B 2	2106,35	302,57	109,88	2,18	1,76	8,99	51,21	20,62	79,91
30B 3	1787,26	67,82	77,50	3,19	1,21	1,67	77,08	5,57	89,80
30B 3	1832,54	57,84	76,98	3,19	1,33	1,83	76,09	5,13	89,76
30B 3	1798,04	77,80	77,68	3,20	1,36	1,80	76,00	4,98	89,99
60B 1	1650,43	156,10	69,20	1,43	1,92	20,71	45,94	13,54	91,40
60B 1	1899,83	189,48	70,32	1,37	1,89	18,97	44,65	13,97	91,60
60B 1	1787,12	172,80	70,19	1,48	1,80	19,77	45,00	13,43	91,30
60B 2	2379,36	360,87	110,47	1,83	10,11	4,86	67,69	29,77	81,10
60B 2	2379,09	322,05	114,64	1,76	11,58	4,77	65,88	30,08	79,87
60B 2	2397,04	399,68	118,31	1,90	11,27	4,99	66,79	29,14	79,98
60B 3	1099,76	80,55	76,84	3,33	0,90	1,83	74,62	6,10	89,10
60B 3	1026,78	92,28	78,13	3,32	1,19	2,00	73,98	5,94	88,90
60B 3	1087,54	68,82	78,31	3,33	1,00	1,03	74,07	6,50	90,03
90B 1	1480,98	146,70	44,14	1,34	1,58	16,63	40,30	12,10	94,60
90B 1	1465,00	142,34	45,90	1,28	1,70	15,92	39,08	11,98	95,01
90B 1	1516,00	151,05	46,09	1,39	1,70	16,04	40,43	12,62	94,86
90B 2	2814,54	268,82	116,54	1,39	5,65	6,63	43,54	29,64	80,65
90B 2	2887,09	264,34	109,96	1,44	6,77	7,18	44,04	28,98	78,95
90B 2	2945,76	273,25	123,13	1,41	5,95	6,37	43,99	28,91	79,90
90B 3	1730,80	152,27	65,28	3,24	1,53	1,62	65,75	4,77	90,40
90B 3	1630,65	167,42	66,35	3,17	1,65	2,09	64,69	3,97	90,36
90B 3	1890,34	185,37	67,17	3,31	1,51	1,99	65,09	4,05	90,51

T, F, 30, 60 y 90, representan los distintos tratamientos y 1, 2, 3 son los muestreos.

Anexo 3b. Cuadro de resultados de los tres muestreos, efecto residual.

Muestra	CBM mg C Kg.s.s^{-1}	NBM mg N kg.s.s^{-1}	FDA ug F g.s.s^{-1}	Ureasa µmoles de NH3 g.s.s^{-1}	CMC-asa µmoles glc hr^{-1}	B- Glucosidasa umoles de PNF g.s.s.$^{-1}$	Fosfatasa Acida µmoles PNF g.s.s^{-1}	Arilsulfatasa µmoles PNF g.s.s.$^{-1}$	% AEA

TA 1	2063,16	70,76	83,54	1,57	2,28	16,97	30,79	25,76	83,40
TA 1	1999,65	64,21	84,70	1,52	2,24	17,08	29,98	24,54	83,10
TA 1	1845,34	77,32	88,09	1,63	2,26	17,15	30,49	24,21	83,50
TA 2	1298,16	77,12	93,08	1,65	1,39	15,93	53,80	36,00	81,00
TA 2	1354,54	80,23	103,35	1,66	1,48	15,27	53,97	35,90	81,11
TA 2	1299,65	74,02	98,22	1,64	1,40	15,94	54,08	36,78	81,34
TA 3	1962,10	46,69	64,73	3,46	1,09	6,26	74,25	22,65	57,30
TA 3	2065,49	48,66	60,82	3,46	0,94	6,94	74,99	23,70	57,50
TA 3	1999,58	44,73	68,65	3,47	0,96	6,48	75,08	23,40	57,40
FA 1	1971,71	165,14	71,75	1,53	1,86	15,77	29,81	25,98	71,60
FA 1	1987,10	163,06	70,66	1,59	1,77	15,90	29,21	26,04	71,10
FA 1	1954,30	167,23	70,19	1,48	1,88	15,53	28,95	26,09	71,40
FA 2	2099,64	262,87	100,82	1,25	2,85	11,37	59,40	29,90	80,90
FA 2	2117,70	243,16	107,41	1,33	2,90	11,00	60,00	30,65	81,00
FA 2	2056,54	282,58	99,24	1,17	2,80	11,89	58,97	31,08	80,80
FA 3	1758,50	147,00	63,54	3,23	1,39	8,98	57,80	24,90	88,60
FA 3	1805,40	168,48	59,52	3,26	1,35	8,20	57,99	25,20	89,00
FA 3	1794,80	125,52	67,56	3,21	1,40	8,72	58,64	25,30	88,40
30A 1	1690,89	103,67	82,71	1,00	1,02	16,11	46,52	28,98	91,10
30A 1	1704,70	98,98	83,95	1,01	1,08	16,56	46,93	27,93	91,30
30A 1	1610,60	107,51	80,95	0,99	1,11	16,37	45,99	28,05	91,00
30A 2	1690,80	116,98	97,88	1,44	1,69	17,68	55,10	33,45	80,40
30A 2	1645,30	119,54	92,91	1,37	1,70	18,08	55,37	34,08	80,10
30A 2	1689,30	115,64	96,46	1,51	1,70	17,49	55,17	34,87	80,30
30A 3	2084,10	248,33	57,77	3,37	1,59	9,98	70,99	26,90	92,20
30A 3	2106,40	267,70	53,70	3,39	1,39	9,80	71,63	27,20	92,10
30A 3	2035,30	228,96	61,83	3,35	1,40	9,74	70,41	27,50	92,60
60A 1	2270,06	156,07	73,30	1,12	1,00	14,67	40,90	29,88	81,60
60A 1	2301,50	170,25	71,68	1,11	1,05	14,95	41,04	28,43	81,40
60A 1	2289,30	141,89	75,92	1,13	0,95	15,09	40,30	28,05	81,80
60A 2	2270,06	102,57	83,24	1,33	1,96	20,71	54,22	35,98	86,30
60A 2	2199,54	109,94	90,68	1,28	2,00	21,04	53,93	36,20	86,10
60A 2	2265,70	99,20	88,30	1,37	1,90	20,50	54,20	36,98	86,40
60A 3	1862,30	206,45	71,15	3,35	1,06	4,60	65,35	33,43	89,20
60A 3	1908,34	202,74	63,44	3,33	0,89	4,86	65,44	32,98	90,00
60A 3	1843,57	200,15	68,85	3,37	0,95	5,10	66,09	33,08	89,50
90A 1	1709,14	153,96	82,19	1,00	0,31	14,55	33,83	25,32	87,10
90A 1	1710,45	148,71	80,61	0,97	0,40	15,11	34,10	24,96	86,90
90A 1	1793,60	159,21	81,42	1,02	0,41	14,39	33,94	24,65	88,00
90A 2	1709,14	126,58	92,19	1,24	2,31	17,14	52,24	30,04	87,00
90A 2	1699,50	143,40	90,61	1,23	2,50	16,63	51,99	29,87	87,00
90A 2	1682,80	109,76	94,77	1,24	2,59	16,99	52,07	29,36	87,10
90A 3	2069,30	197,25	72,10	3,44	0,92	7,24	68,17	27,90	89,40
90A 3	2109,50	181,66	71,74	3,40	0,94	7,18	68,34	27,89	90,00
90A 3	2098,76	212,84	72,46	3,47	0,89	8,03	67,95	28,05	89,70

T, F, 30, 60 y 90, representan los distintos tratamientos y 1, 2, 3 son los muestreos.

Anexo 4. Diferencias entre tratamientos de las distintas actividades biológicas y agregados estables al agua.

Tratamientos	Pasa	ß-gluco	Ureasa	Aril	CMCasa	AEA (%)
Acumulativo						
TB	131,8a	14	1,23	37,1a	0,82a	81,2
FB	127,7a	17	1,08	40,5a	0,79a	76,8
30 B	75,6b	16	0,87	26,2a	0,65a	83,5
60 B	52,1c	14	1,09	27,5a	0,83a	92,0
90 B	61,7bc	10	1,45	29,9a	0,62a	88,2
Residual						
TA	132,8	13	1,02	38,6a	0,76	81,3a
FA	127,0	13	1,05	39,1a	0,75	81,3a
30 A	98,1	15	0,97	33,1a	0,7	82,8a
60 A	106,7	15	0,92	38,7a	0,62	82,6a
90 A	100,4	13	1,43	37,1a	0,71	85,2a

Pasa: Fosfatasa ácida (µmoles de PNF g.s.s.$^{-1}$); ß-gluco: ß-glucosidasa (µmoles de PNF g.s.s.$^{-1}$); Ureasa (µmoles NH_3 g.s.s.$^{-1}$); Aril: Arilsulfatasa (µmoles PNF g.s.s.$^{-1}$); CMCasa: Carboximetilcelulasa (µmoles glucosa hr^{-1}); AEA%: Agregados estables al agua (%).

TB, FB, 30B, 60B y 90B, representan los tratamientos acumulativos y TA, FA, 30A, 60A y 90A son los tratamientos residuales. Letras distintas indican diferencia significativa ($p<0,05$) según Test de Tukey. Los valores sin letra fueron analizados a través del Test de Kruskal Wallis.

Fuente: Segovia, 2008.

ANEXO 5a. Tabla de anova propiedades biológicas efecto acumulativo.

Variable dependiente: CBM

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	1,634E8	1	1,634E8	39481,064	,000
Tratamiento	541580,303	4	135395,076	32,715	,000
Muestreo	4316746,185	2	2158373,093	521,515	,000
Tratamiento * Muestreo	2458676,226	8	307334,528	74,259	,000
Error	124159,786	30	4138,660		
Total	1,708E8	45			
Total corregida	7441162,500	44			

a. R cuadrado = ,991 (R cuadrado corregida = ,987)

Variable dependiente: NBM

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	1118410,562	1	1118410,562	6507,217	,000
tratamiento	72136,621	4	18034,155	104,928	,000
muestreo	184109,161	2	92054,581	535,599	,000
tratamiento * muestreo	71719,986	8	8964,998	52,161	,000
Error	5156,170	30	171,872		
Total	1451532,501	45			
Total corregida	333121,939	44			

a. R cuadrado = ,985 (R cuadrado corregida = ,977)

Variable dependiente: FDA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	15620,744[a]	14	1115,767	240,872	,000
Intersección	313323,108	1	313323,108	67640,299	,000
tratamiento	748,541	4	187,135	40,399	,000
muestreo	10532,821	2	5266,410	1136,914	,000
tratamiento * muestreo	4339,383	8	542,423	117,098	,000
Error	138,966	30	4,632		
Total	329082,818	45			
Total corregida	15759,710	44			

a. R cuadrado = ,991 (R cuadrado corregida = ,987)

Variable dependiente: UREASA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	204,718	1	204,718	26510,521	,000
Tratamiento	,308	4	,077	9,956	,000
Muestreo	29,746	2	14,873	1926,009	,000
Tratamiento * muestreo	1,395	8	,174	22,581	,000
Error	,232	30	,008		
Total	236,398	45			
Total corregida	31,680	44			

a. R cuadrado = ,993 (R cuadrado corregida = ,989)

Variable dependiente: CARBOXIMETILCELULASA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	335,639	1	335,639	5045,764	,000
Tratamiento	52,891	4	13,223	198,780	,000
Muestreo	103,644	2	51,822	779,056	,000
Tratamiento * muestreo	124,984	8	15,623	234,864	,000
Error	1,996	30	,067		
Total	619,153	45			
Total corregida	283,514	44			

a. R cuadrado = ,993 (R cuadrado corregida = ,990)

Variable dependiente: β_GLUCOSIDASA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	3171,285	1	3171,285	16340,303	,000
Tratamiento	26,380	4	6,595	33,981	,000
Muestreo	1564,905	2	782,452	4031,649	,000
Tratamiento * muestreo	121,002	8	15,125	77,934	,000
Error	5,822	30	,194		
Total	4889,394	45			
Total corregida	1718,109	44			

a. R cuadrado = ,997 (R cuadrado corregida = ,995)

Variable dependiente: FOSFATASA ACIDA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	131874,798	1	131874,798	436078,605	,000
Tratamiento	812,663	4	203,166	671,821	,000
muestreo	4180,185	2	2090,093	6911,440	,000
Tratamiento * muestreo	1522,797	8	190,350	629,441	,000
Error	9,072	30	,302		
Total	138399,516	45			
Total corregida	6524,718	44			

a. R cuadrado = ,999 (R cuadrado corregida = ,998)

Variable dependiente: ARILSULFATASA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Modelo corregido	5618,095[a]	14	401,292	1694,612	,000
Intersección	20112,588	1	20112,588	84933,147	,000
Tratamiento	2762,803	4	690,701	2916,750	,000
Muestreo	2197,497	2	1098,749	4639,889	,000
Tratamiento * muestreo	657,794	8	82,224	347,224	,000
Error	7,104	30	,237		
Total	25737,786	45			
Total corregida	5625,199	44			

a. R cuadrado = ,999 (R cuadrado corregida = ,998)

Variable dependiente: % A.E.A.

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	328670,614	1	328670,614	1377175,626	,000
Tratamiento	481,684	4	120,421	504,581	,000
Muestreo	629,845	2	314,922	1319,569	,000
Tratamiento * muestreo	402,151	8	50,269	210,633	,000
Error	7,160	30	,239		
Total	330191,453	45			
Total corregida	1520,839	44			

a. R cuadrado = ,995 (R cuadrado corregida = ,993)

ANEXO 5b. Tabla de anova propiedades biológicas efecto residual.

Variable dependiente: CBM

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	1,624E8	1	1,624E8	85076,825	,000
Tratamiento	788900,915	4	197225,229	103,329	,000
muestreo	212602,206	2	106301,103	55,693	,000
Tratamiento * muestreo	1757329,636	8	219666,205	115,086	,000
Error	57261,158	30	1908,705		
Total	1,652E8	45			
Total corregida	2816093,916	44			

a. R cuadrado = ,980 (R cuadrado corregida = ,970)

Variable dependiente: NBM

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	950110,918	1	950110,918	6776,494	,000
Tratamiento	81185,403	4	20296,351	144,760	,000
Muestreo	12528,687	2	6264,343	44,679	,000
Tratamiento * muestreo	73072,318	8	9134,040	65,147	,000
Error	4206,206	30	140,207		
Total	1121103,531	45			
Total corregida	170992,613	44			

a. R cuadrado = ,975 (R cuadrado corregida = ,964)

Variable dependiente: FDA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	286190,515	1	286190,515	28998,815	,000
Tratamiento	253,497	4	63,374	6,422	,001
Muestreo	6809,530	2	3404,765	344,994	,000
Tratamiento * muestreo	939,563	8	117,445	11,900	,000
Error	296,071	30	9,869		
Total	294489,176	45			
Total corregida	8298,661	44			

a. R cuadrado = ,964 (R cuadrado corregida = ,948)

Variable dependiente: UREASA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	179,729	1	179,729	112308,521	,000
Tratamiento	,661	4	,165	103,211	,000
Muestreo	42,543	2	21,271	13291,937	,000
Tratamiento * muestreo	,777	8	,097	60,671	,000
Error	,048	30	,002		
Total	223,757	45			
Total corregida	44,028	44			

a. R cuadrado = ,999 (R cuadrado corregida = ,998)

Variable dependiente: CARBOXIMETILCELULASA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	102,518	1	102,518	23115,068	,000
Tratamiento	3,448	4	,862	194,383	,000
Muestreo	7,455	2	3,727	840,431	,000
Tratamiento * muestreo	7,973	8	,997	224,706	,000
Error	,133	30	,004		
Total	121,528	45			
Total corregida	19,009	44			

a. R cuadrado = ,993 (R cuadrado corregida = ,990)

Variable dependiente: β_GLUCOSIDASA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	7892,043	1	7892,043	81554,731	,000
Tratamiento	34,407	4	8,602	88,890	,000
Muestreo	753,361	2	376,681	3892,541	,000
Tratamiento * muestreo	160,093	8	20,012	206,796	,000
Error	2,903	30	,097		
Total	8842,808	45			
Total corregida	950,765	44			

a. R cuadrado = ,997 (R cuadrado corregida = ,996)

Variable dependiente: FOSFATASA ACIDA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	125914,517	1	125914,517	902715,721	,000
Tratamiento	358,260	4	89,565	642,116	,000
Muestreo	7469,993	2	3734,996	26777,213	,000
Tratamiento * muestreo	838,563	8	104,820	751,486	,000
Error	4,185	30	,139		
Total	134585,517	45			
Total corregida	8671,000	44			

a. R cuadrado = 1,000 (R cuadrado corregida = ,999)

Variable dependiente: ARILSULFATASA

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	38140,563	1	38140,563	142082,581	,000
Tratamiento	188,785	4	47,196	175,817	,000
Muestreo	419,503	2	209,752	781,374	,000
Tratamiento * muestreo	136,937	8	17,117	63,765	,000
Error	8,053	30	,268		
Total	38893,841	45			
Total corregida	753,278	44			

a. R cuadrado = ,989 (R cuadrado corregida = ,984)

Variable dependiente: % A.E.A

Origen	Suma de cuadrados tipo III	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Intersección	311509,120	1	311509,120	4536100,185	,000
Tratamiento	1312,780	4	328,195	4779,076	,000
Muestreo	2,601	2	1,301	18,941	,000
Tratamiento * muestreo	2062,446	8	257,806	3754,088	,000
Error	2,060	30	,069		
Total	314889,008	45			
Total corregida	3379,888	44			

a. R cuadrado = ,999 (R cuadrado corregida = ,999)