

**GUILLERMO PANEQUE GUERRERO**

**Catedrático de Química Agrícola de la Facultad  
de Ciencias de la Universidad de Córdoba**

**MATERIA ORGANICA DEL SUELO:  
QUIMICA, MORFOLOGIA Y BIOLOGIA**

**DISCURSO DE APERTURA DEL CURSO ACADEMICO 1978-79  
EN LA UNIVERSIDAD DE CORDOBA**

**CORDOBA, 1978**

GUILLERMO PAREDES GUERRERO  
Catedrático de Química Orgánica de la Facultad  
de Ciencias de la Universidad de Córdoba

MATERIA ORGANICA DEL NITRO.  
QUIMICA MONOMOLECULAR Y BIOMOLECULAR

ENCUERO DE APERTURA DEL CURSO ACADÉMICO 1974-75  
EN LA UNIVERSIDAD DE CORDOBA

**EDITA:** Servicio de Publicaciones de la  
Universidad de Córdoba

**Depósito legal:** CO, 422-1978

CORDOBA, 1974

Magfco. y Excmo. Sr. Rector  
Excmos. e Ilmos. Sres.  
Claustro Universitario  
Alumnos  
Señoras y Señores:

El turno tradicionalmente establecido por las Universidades españolas entre sus centros, y la circunstancia de ser el Catedrático de número más antiguo de la joven Facultad de Ciencias de esta Universidad han determinado que este año me corresponda el inmenso honor de pronunciar el discurso del acto de apertura del Curso Académico 1978-79.

No vengo aquí, pues, por méritos personales. Por ello, antes de comenzar la lección quiero ser franco y resaltar sinceramente la enorme preocupación que he sentido desde el mismo día que acepté este honor.

Preocupación por dirigirme a un muy cualificado auditorio y en un acto tan solemne para mí, a pesar de haberlo vivido durante muchos años, primero como estudiante, después como Doctor e investigador y finalmente como Profesor, en mis queridas Universidades de Sevilla, Granada y Córdoba.

Otra consideración que deseo hacer es la reflexión que sobre el pasado y el futuro entraña el acto de apertura de Curso y, por lo general, el mismo discurso inaugural. Es precisamente en relación con el contexto del discurso académico donde quiero esbozar unas pocas consideraciones que, de algún modo, sirvan para mejor comprender las razones que me asisten traer a este selecto auditorio problemas que el discurso encierra.

Frecuentemente, una lección inaugural invita mirar atrás en campos científicos, aspectos académicos y motivos humanos. Atraído desde siempre por problemas científicos en relación con la Naturaleza, he querido exponer en el discurso una síntesis de los principales aspectos quísmicos, morfológicos y biológicos de la materia orgánica del suelo.

Creo que todavía por mucho tiempo, los suelos, y más correctamente las

tierras, seguirán representando los soportes más valiosos de la producción agrícola total. Y entiendo que, en la actualidad la Química y la Biología proporcionan las respuestas más acertadas a numerosos problemas de los procesos de germinación, nutrición, crecimiento, calidad, etc. de los cultivos. Mi ya larga actividad investigadora y docente, en campos de la Química Agrícola y de la Edafología, conecta con el tema que para este discurso he desarrollado.

Entiendo, así mismo, que el pasado de una parcela de la Ciencia relacionada con nuestra actividad, obliga a conocer el trabajo de los que nos precedieron y considerar de algún modo los esfuerzos realizados. El estudio crítico de los aspectos conocidos y nuevas contribuciones a problemas implicados ocupan el presente de nuestra labor docente e investigadora.

Cuando tomamos la responsabilidad de despertar en jóvenes universitarios vocación y entusiasmo para estudiar cuestiones previamente establecidas, ó que nosotros hemos descubierto, y ensayar soluciones adecuadas al cortejo de problemas que nos rodea, estamos trabajando para un futuro esperanzador.

Como homenaje, pleno de afecto y gratitud, a quienes hicieron posible nuestra formación universitaria, científica y docente; y con el deseo, al mismo tiempo, de despertar interés por problemas científicos de especialización químico- y biológicoagrícola, que estimo de gran importancia para nuestra Andalucía, permitidme desarrollar esta lección inaugural sobre aspectos químicos, morfológicos y biológicos de la materia orgánica del suelo.

## I. INTRODUCCION

### 1. Principales etapas históricas de la Química del humus.

La observación de que los restos de vegetales y animales más o menos descompuestos aumentan la fertilidad de los suelos es tan antigua como la práctica agrícola. Así mismo, la participación de la materia orgánica en los procesos de génesis y evolución de las formaciones edáficas recibe especial atención desde los comienzos de la Ciencia del Suelo. También el estudio de los compuestos orgánicos llamados sustancias húmicas cobra especial interés en nuestros días, cuando gran parte de la actividad científica se orienta a la conservación del medio natural y a lograr al mismo tiempo mayor producción de alimentos. Por otro lado, el reciente desarrollo científico y tecnológico ha permitido, a muchos investigadores de muy distintas disciplinas, profundizar más en el conocimiento de las sustancias húmicas, sus estructuras y funciones en la biosfera.

Dada la complejidad de los sistemas que en la Naturaleza constituyen dichas sustancias, su estudio ha de ser comprensivo, y considerar diversos factores como clima, suelo, organismos, ambiente físicoquímico, etc., que intervienen en la evolución de las mismas. Establecido el papel de cada uno de los principales factores de la formación y evolución de las sustancias húmicas, así como sus estructuras y funciones, será posible contribuir en gran medida a la resolución de dos grandes cuestiones que la materia orgánica del suelo presenta: conservación del medio y aumento de la producción y calidad de los alimentos.

El enorme interés científico y práctico que estos especiales componentes orgánicos de la biosfera presentan, justifica el esfuerzo ininterrumpido que significan más de dos siglos de investigación científica en esta línea de estudio.

En efecto, aparte de las consideraciones aportadas por filósofos de la antigüedad y por científicos preocupados especialmente en la búsqueda del "principio" de vegetación, es hacia mitad del S. XVIII cuando KULBEL, 1741, hace la indicación de que tal principio es un "magma inguinsum" que puede obtenerse del humus (CARPENA, 1969). A las décadas siguientes (1761-1782) pertenecen las interesantes aportaciones de WALLERIUS, LOMONOSOV'S y KOMOV, (KONONOVA, 1966). Con estos trabajos las ideas sobre sustancias húmicas comienzan a ser más definidas, y en particular se inicia una línea experimental que continúa hasta nuestros días. Según KONONOVA (1966), ACKARD, en 1786, parece ser el primero en aislar sustancias húmicas de turba por tratamiento con soluciones alcalinas; por acidificación posterior las sustancias húmicas se separan en forma de precipitado amorfo; VAUQUELIN, THOMSON, y otros, siguen posteriormente los métodos de extracción.

De SAUSSURE en 1804 consigue demostrar la distinta composición de las sustancias húmicas con respecto a los residuos vegetales originarios, indicando que aquellas tienen más carbono y menos hidrógeno. Con ello ponía de manifiesto indirectamente la complejidad del proceso de humificación. Así mismo, dicho investigador fue el primero en indicar que las sustancias húmicas son directamente asimiladas por las plantas (KONONOVA, 1966; CARPENA, 1969).

Esta teoría, desarrollada posteriormente por THAER, en el sentido de que la fertilidad del suelo depende en gran medida de la acumulación de humus en el mismo, fue de aceptación general hasta la aparición de los trabajos de BOUSSINGAULT (1841) y LIEBIG (1840), fundadores de la teoría de la nutrición mineral de las plantas, que recibe el interés y la aceptación de numerosos químicos agrícolas y fisiólogos vegetales. No obstante, como tendremos ocasión de indicar, los efectos indirectos y directos de las sustancias húmicas en la producción vegetal ocupan actualmente la atención de numerosos investigadores.

Siguiendo a KONONOVA (1966) puede resumirse que al final del S. XVIII y comienzos del XIX se establecen las bases de que las sustancias húmicas son compuestos naturales peculiares, se llevan a cabo las primeras etapas del estudio de su naturaleza química, se apunta su papel en la nutrición de las plantas, y se establecen métodos de obtención a partir de residuos de vegetales con soluciones alcalinas y ácidas.

En la primera mitad del S. XIX hay que destacar el trabajo de SPRENGEL (1837), uno de los primeros estudios comprensivos de la naturaleza y propiedades de las sustancias húmicas. BERZELIUS en sus estudios sobre sustancias húmicas, muestra la existencia de compuestos de color amarillo capaces de formar sales con el hierro, que denominó ácidos crénico y apocrénico, *de gran solubilidad y movilidad en comparación con las sales de los ácidos húmicos*; las investigaciones de BERZELIUS fueron continuadas por sus contemporáneos y seguidores MULDER y GERMAN (KONONOVA, 1966).

Corresponden también a este período otros estudios que, como los anteriores, se caracterizan por una aplicación de los conocimientos químicos a la investigación de la naturaleza del humus. En este tiempo se aíslan distintas sustancias que se intentan acoplar en esquemas de clasificación, pensándose que el humus está formado por compuestos químicos individuales. Finalmente, se aplican métodos químicos para reproducir la humificación de materiales vegetales.

A final del S. XIX se iniciaron estudios sobre propiedades coloidales de las sustancias húmicas, de acuerdo con el desarrollo de la Coloidequímica. VAN BEMMELEN, en 1888, concluye que los ácidos crénico, apocrénico, úlmico, húmico y también la humina y la ulmina no son sustancias homogéneas, y que la fórmulas usadas para representarlas no tienen un significado real. Teniendo como base algunos de los resultados del estudio de VAN BEMMELEN, otros autores consideran que las propiedades del humus se deben fundamentalmente a sus características coloidales. Es evidente que el conocimiento que se adquiere del humus, por medio de estudios químicos y determinaciones de propiedades fisicoquímicas, alcanza mayor complejidad (KONONOVA, 1966; CARPENA, 1969).

Por este tiempo el origen de las sustancias húmicas sigue siendo estudiado desde un punto de vista químico, considerándose su formación fundamentalmente como una oxidación y deshidratación de constituyentes de las plantas. La función del humus en el suelo continúa siendo oscura, existiendo la teoría de la nutrición de las plantas por el humus de THAER, y la de LIEBIG, según la cual la nutrición de las plantas es mineral. Para LIEBIG, el  $\text{CO}_2$  que se desprende de la descomposición del humus promueve la solubilidad de compuestos inorgánicos del suelo esenciales para la nutrición de las plantas (KONONOVA, 1966; RUSSELL, 1968; CARPENA, 1969).

GRANDEAU, en 1872, presenta una nueva teoría, la de la nutrición órgano-mineral de las plantas: los ácidos húmicos son agentes especiales entre las plantas y el suelo que promueven la conversión de compuestos inorgánicos insolubles y difícilmente solubles en formas asimilables. Puede pensarse que esta teoría intentaba reconciliar las dos anteriores, haciendo uso de algunas de las más recientes propiedades por aquel entonces descubiertas en las sustancias húmicas (KONONOVA, 1966).

Nuevas ideas acerca de la naturaleza y origen de las sustancias húmicas y sus funciones aparecen con los primeros trabajos sobre microbiología del suelo. Así por ejemplo, se establece el hecho importante de que la formación del humus no es un proceso químico o físico, sino biológico. No obstante, la participación de los organismos en la formación de sustancias húmicas no empieza a conocerse más a fondo hasta estudios posteriores, como se tendrá ocasión de exponer más adelante.

El desarrollo de la Microbiología y de la Edafología, en los últimos años del siglo pasado, fue de gran importancia para establecer sobre bases correctas los importantes problemas que la formación del humus encierra.

A finales del siglo pasado y comienzos del actual, se pensaba por algunos investigadores que el humus era una compleja e indeterminada mezcla de sustancias orgánicas, de naturaleza no específica, que representaba productos de descomposición de residuos de plantas. Sin embargo, otros creían -siguiendo las ideas de MULDER (1861)-, que algunos compuestos orgánicos, tales como ácido fúlvico, ácido húmico y algunos más, solo existen en el suelo. SCHREINER y SHOREY (1910) analizaban la materia orgánica del suelo usando los métodos normales de Química orgánica; aislaban un compuesto después de otro y lo identificaban por su estructura química. ODEN (1919) en la otra línea, realizaba importantes avances consiguiendo clasificar las sustancias húmicas en diversos grupos (ácido fúlvico, ácido húmico, ácido himatomelánico, etc.) (KONONOVA, 1966; SALFELD, 1975; PIERCE y FELBECK, 1975).

El origen de las sustancias húmicas, los procesos de su formación y el papel de los microorganismos en los procesos correspondientes se plantea de nuevo. Para MAILLARD (1916), que intentó sintetizar sustancias húmicas por medio de la reacción entre aminoácidos e hidratos de carbono, la condensación es un proceso puramente químico y el papel de los microorganismos en la formación del humus se limita al primer estadio, hidrólisis de las proteínas a péptidos y aminoácidos y de polisacáridos a azúcares simples.

BELJERINCK (1900) había informado sobre la distribución de estreptomicetos en restos de plantas muertas y en las superficies de raíces, haciendo notar la importancia de la especie cromógena para la formación de humus; cuando se les cultivaba en medio con peptona segregaban un producto pardo oscuro a negro. MUNTER y KRAINSKY (1914) confirmaron el efecto de una fuente de nitrógeno en la formación de materia coloreada. En 1898 BERTRAND había mostrado que la oxidación de la tirosina y de ciertos polifenoles por oxidasas convertían estas sustancias en productos oscuros de condensación (KONONOVA, 1966).

Sin duda alguna, los trabajos de TRUSOV, en 1916, representaron una contribución importante en el estudio de la formación de las sustancias húmicas. Su esquema ha sido confirmado posteriormente. Según TRUSOV, los diferentes compuestos orgánicos de las plantas pueden servir como fuente directa o indirecta de humus; dichos compuestos sufren un proceso hidrolítico que conduce a la formación de sustancias más simples de naturaleza aromática; la oxidación de estas proporciona quinonas que posteriormente sufren una condensación con la formación de productos coloreados oscuros. También merece especial mención el trabajo de SHMUK, en 1924, sobre naturaleza, estructura y propiedades de las sustancias húmicas. Demuestra la presencia de grupos carboxílicos y fenólicos en la estructura de los ácidos húmicos, e indica que su contenido en nitrógeno es de origen secundario, siendo la fuente del mismo el plasma de los microorganismos (KONONOVA, 1966).

Según todo lo espuesto, las conclusiones generales más importantes alcanzadas por los trabajos mencionados podrían ser las siguientes:

En el suelo existen sustancias húmicas como productos naturales, cuyas fuentes son posiblemente diversos componentes de las plantas. En el proceso de formación de dichas sustancias pueden señalarse dos etapas, una de descomposición de los componentes vegetales en compuestos más simples y otra de síntesis de sustancias húmicas complejas. Los microorganismos actúan, mediante una acción enzimática, tanto en los procesos de degradación como en los de síntesis.

## 2. *Balance de la materia orgánica del suelo.*

Es observación muy antigua que la materia orgánica de toda índole -vegetal y animal-, usualmente no se acumula en el suelo en condiciones naturales. El estudio sistemático de las formaciones edáficas más importantes de todo el mundo pudo establecer bien, que en todas ellas, después de un período de tiempo, las adiciones anuales de materia orgánica están en equilibrio con las pérdidas que en el mismo tiempo se producen.

Los restos orgánicos, desde su llegada al suelo, son descompuestos más o menos rápidamente por la actividad biológica, en la que casi toda la flora y la fauna que vive en el suelo o sobre el suelo juega un papel directo o indirecto (DUCHAUFOR, 1975; ALLISON, 1973; FLAIG, 1973).

La materia orgánica fresca se transforma poco a poco por un proceso fundamentalmente de biodegradación, dando lugar por una parte a compuestos minerales solubles o gaseosos (mineralización) y por otra a complejos coloidales de color oscuro llamados sustancias húmicas (humificación). Estas sustancias, relativamente estables y resistentes a la acción microbiana, experimentan también, aunque más lentamente, procesos de degradación de distinta intensidad. Algunos autores engloban en el complejo y continuo proceso de humificación, que ocurre constantemente en la naturaleza, tanto la degradación de sustancias orgánicas de restos vegetales y animales, como la formación de sustancias húmicas.

Sin analizar de momento la extraordinaria importancia que para el conjunto de la biosfera representa el proceso de la humificación, y limitándonos al balance global de la materia orgánica del suelo, JENKINSON (1966; 1975; JENKINSON y RAYNER, 1977) llama "turnover" de la materia orgánica al proceso por el cual las pérdidas de materia orgánica son iguales a las ganancias, considerándolo como un flujo de material orgánico a través de la materia orgánica de un suelo dado. Desde el punto de vista de la ecología y dinámica de los suelos es interesante señalar que tanto la velocidad de adición de materia orgánica como la de descomposición cambia conforme las condiciones ambientales y de uso se modifican, como por ejemplo la transformación de un suelo virgen a cultivado, o cambiando el sistema de agricultura. Una vez

que se alcanza un nuevo equilibrio dinámico entre pérdidas y ganancias, la materia orgánica se sitúa en un distinto nivel (FLAIG, 1975).

Numerosas experiencias de campo y de laboratorio ponen de manifiesto que, cuando se adiciona materia vegetal al complejo sistema que forma el suelo conteniendo materia orgánica efectivamente descompuesta, sufre una descomposición acelerada. El fenómeno se debe a una especie de "acción de cebo" (*priming action*), y ha sido investigado últimamente con materia vegetal marcada. Por otra parte, y en relación con el mencionado "flujo" los estudios edafológicos han mostrado la influencia de numerosos factores que intervienen en el mismo (condiciones climáticas, asociaciones vegetales, composición y propiedades de los constituyentes del suelo, sistema de agricultura, etc.). A este respecto conviene tener presente que cada suelo posee una microflora que le es propia, en la que la actividad de diversas especies se manifiesta más o menos según el ritmo estacional de factores del medio. BACHELIER (1973) indica que ha podido observar desde hace tiempo que al lado del clima y de la riqueza mineral de los suelos, la microflora tiene un papel muy activo en la definición del circuito húmico.

En definitiva, numerosos factores gobiernan el balance de la materia orgánica total del suelo, y también la formación y evolución de las sustancias húmicas características de aquella. En la actualidad el estudio de los sistemas que forman la materia orgánica total de los suelos y su dinámica, y el estudio de las estructuras y funciones en la biosfera de las sustancias húmicas son objetivos científicos de distintos grupos de investigadores (POVOLEDO y GOLTERMAN, 1975; SALFELD y SOCHTIG, 1975).

## II. BIOSINTESIS DE SUSTANCIAS HUMICAS

### 1. Degradación y evolución de ligninas.

Las sustancias orgánicas más importantes que toman parte en el proceso de la humificación son carbohidratos, proteínas y compuestos fenólicos, sustancias que son utilizadas en el metabolismo microbiano como fuentes de carbono y nitrógeno y para la formación de sustancias húmicas.

En opinión de FISCHER y SCHRADER (1921; 1932) la lignina complejada con las proteínas de origen microbiano representa la fuente principal de las sustancias húmicas. La semejanza entre las estructuras aromáticas de la lignina y las encontradas en fracciones de humus, así como la relativa resistencia de la lignina a la degradación enzimática, determinó la gran aceptación de la teoría, desarrollada posteriormente por WAKSMAN, del complejo ligno-proteína como fuente principal de las sustancias húmicas (CARPENA, 1969; KONONOVA, 1966).

En la actualidad, sin embargo, está completamente demostrado que la lignina y sus productos de degradación, y los fenoles sintetizados por los microorganismos son las fuentes más importantes de los compuestos fenólicos que participan en la formación de sustancias húmicas. Respecto a los primeros existe en la bibliografía numerosa información de que tanto en la materia vegetal humificada, como en la turba y en los suelos se han identificado productos de degradación de lignina de pesos moleculares bajos.

La lignina es básicamente un polímero formado de derivados sustituidos del fenil propano; la de coníferas está fundamentalmente constituida por condensación del alcohol coniferílico; la de árboles de hojas caducas contiene dos "monómeros", y la de gramíneas tres: alcohol coniferílico, sinapílico y p. cumarílico. El contenido de lignina en plantas varía entre el 10 y el 30 p. 100, según la especie (FLAIG, 1973; FLAIG et al., 1975).

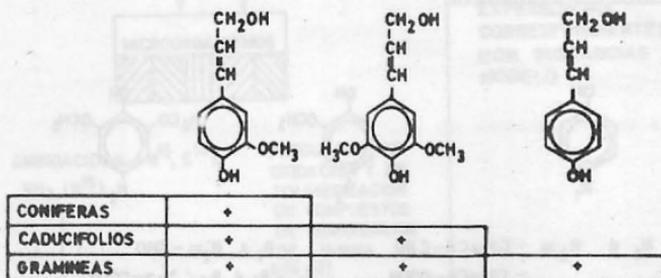


FIG. 1. MONOMEROS DE DIFERENTES LIGNINAS (W. FLAIG, 1973)

Las plantas jóvenes, con un bajo contenido en lignina, se descomponen más fácilmente que las más viejas y leñosas, con mayor contenido metoxílico. El proceso natural de lignólisis no es bien conocido, aunque se sabe que transcurre de modo distinto según las condiciones ecológicas. En medio bien aireado y activo se debe fundamentalmente a hongos basidiomicetos (*Clavaria*, *Clitocybe*, *Lepiote*, *Armillaria*); en medio ácido son hongos lignívoros acidófilos los que degradan lignina a monómeros solubles, que pueden polimerizar; en medios mal aireados (turberas) la descomposición es lenta y se acumulan compuestos próximos a la lignina (DUCHAUFOR, 1975).

Se conoce que la lignina se degrada en el suelo por procesos en los que intervienen enzimas de oxidación. Un avance significativo en el estudio de este proceso ha representado el uso de compuestos marcados en diferentes átomos de carbono, la síntesis de diversos tipos de lignina y el estudio de su

descomposición microbiana. Por este camino ha sido posible elucidar distintos pasos de la degradación de la lignina durante la humificación (MARTIN y HAIDER, 1971; FLAIG, 1973).

Según FLAIG (1973), numerosos estudios sobre los procesos de humificación se han realizado utilizando paja, material vegetal relativamente rico en celulosa y lignina y pobre en proteína. Las condiciones durante la humificación y la descomposición del material original influyen en las transformaciones de la lignina, encontrándose que el contenido en grupos metoxilos decrece y el de nitrógeno aumenta con el tiempo de alteración; la separación de metoxilos parece precede a la introducción de grupos nitrogenados. La velocidad de descomposición de diferentes unidades estructurales de distintos tipos de lignina durante la degradación se ha investigado también.

Como ya se ha indicado, durante la transformación de lignina en sustancias húmicas los procesos oxidativos juegan un papel importante, encontrándose como productos de degradación más destacados ácidos fenolcarboxílicos o ácidos fenolcinámicos.

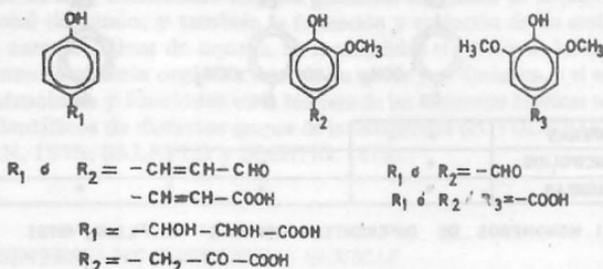


FIG. 2. PRODUCTOS DE DEGRADACION DE LIGNINA (W. FLAIG, 1973)

Los grupos reactivos se forman por desmetilación y son muy importantes para ulteriores reacciones de los productos de degradación de las ligninas (fracciones de lignina) con otros compuestos, como aminoácidos, o para una degradación por procesos enzimáticos con rotura del anillo aromático de ácidos fenolcarboxílicos.

El número de grupos hidroxílicos tiende a crecer después de la degradación, así como el contenido en grupos carboxílicos y la capacidad de cambio catiónico. Investigaciones sobre el proceso de la degradación de lignina muestran que el contenido en grupos carbonilos -determinados con 2-4 dinitrofenil hidracina- incrementa, lo cual puede ser debido a un aumento de grupos

carbonilos en las cadenas laterales y quizás también a oxidaciones de grupos hidroxil fenólicos a quinonas durante la humificación (FLAIG, 1973).

Sin duda alguna, y de acuerdo con lo anteriormente apuntado, la bioquímica de la materia orgánica del suelo ha hecho notables progresos combinando el uso de instrumentos para las medidas químico-físicas y el uso de isótopos radiactivos y estables ( $C^{14}$ ,  $N^{15}$  y  $H^3$ ). Con estas técnicas, una de las metas alcanzadas ha sido conocer la participación de los constituyentes de las plantas en la formación de sustancias húmicas.

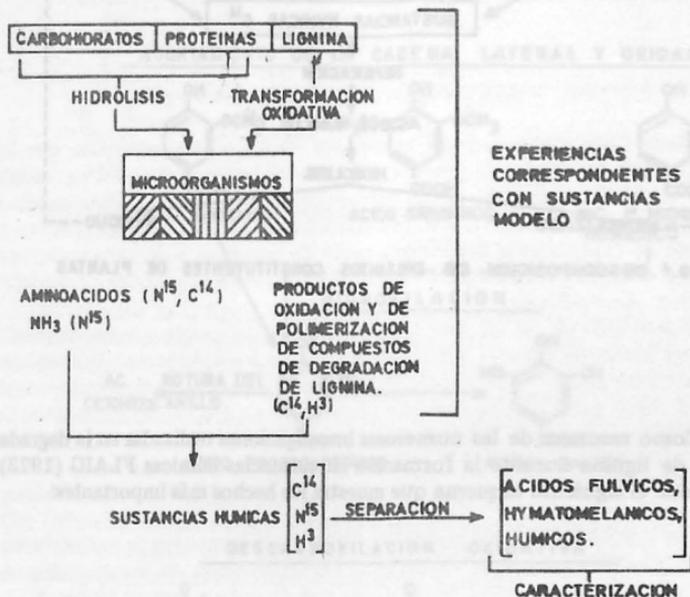


FIG.3. USO DE ISOTOPOS EN ESTUDIOS DE MATERIA ORGANICA DEL SUELO. (FLAIG, 1973)

La glucosa no se inmoviliza en el suelo como tal, es descompuesta más rápidamente que la hemicelulosa y ésta más que la celulosa; la velocidad de descomposición depende de las condiciones de la experimentación. Cuando se extraen y fraccionan las sustancias húmicas del suelo incubado, en el hidrolizado de los ácidos húmicos se encuentra la mayor parte de la actividad,

en especial en los aminoácidos. Si se añade al suelo lignina marcada, la mayor actividad se encuentra en el residuo de la hidrólisis de los ácidos húmicos, donde además se identifican productos de degradación de lignina, p. hidroxi-benzaldehído, vainillina y aldehído siríngico. Se comprueba también en experiencias de este tipo que la lignina se descompone más lentamente que la celulosa.

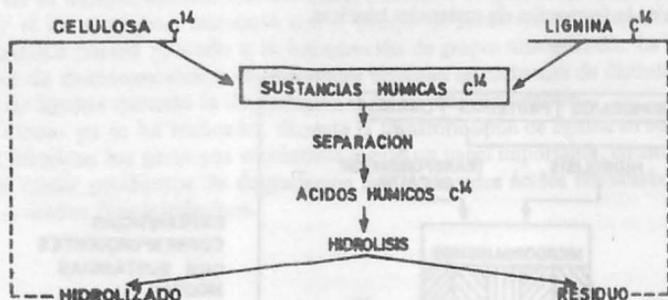
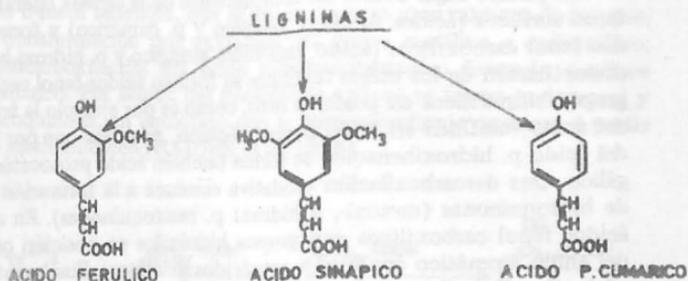
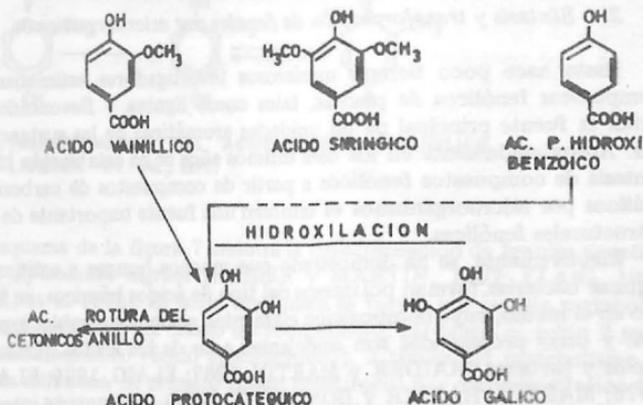


FIG.4. DESCOMPOSICION DE DISTINTOS CONSTITUYENTES DE PLANTAS

Como resumen de las numerosas investigaciones realizadas en la degradación de lignina durante la formación de sustancias húmicas FLAIG (1973), propone el siguiente esquema que muestra los hechos más importantes:



**ACORTAMIENTO DE LA CADENA LATERAL Y OXIDACION**



**DESCARBOXILACION OXIDATIVA**

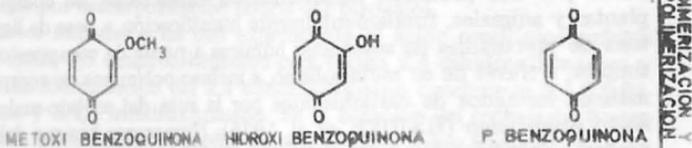


FIG. 5. TRANSFORMACION DE PRODUCTOS DE DEGRADACION DE LIGNINAS. (W. FLAIG, 1973)

En primer lugar ocurre un acortamiento de la cadena lateral de los ácidos fenol acrílicos (ácidos ferúlico, sinápico y p. cumárico) y formación de ácidos fenol carboxílicos (ácido vainílico, siringico y p. hidroxibenzoico). Por desmetilación de los éteres fenólicos se forman ácidos fenol carboxílicos con grupos hidroxílicos en posición *orto*, como es por ejemplo la transformación del ácido vainílico en ácido protocatéquico, mientras que por hidroxilación del ácido p. hidroxibenzoico se forma también ácido protocatéquico y ácido gálico. Una descarboxilación oxidativa conduce a la formación de derivados de hidroquinonas (metoxi-, e hidroxip. benzoquinonas). En el caso de los ácidos fenol carboxílicos con grupos hidroxilos en posición *orto*, la rotura del anillo aromático conduce a cetoácidos alifáticos. Finalmente, como más adelante se describe, ocurren reacciones de dimerización y polimerización.

## 2. Síntesis y transformación de fenoles por microorganismos.

Hasta hace poco tiempo numerosos investigadores estimaban que los compuestos fenólicos de plantas, tales como lignina y flavonoides, constituían la fuente principal de las unidades aromáticas de las sustancias húmicas. Aproximadamente en los diez últimos años se ha establecido bien que la síntesis de compuestos fenólicos a partir de compuestos de carbono no aromáticos por microorganismos es también una fuente importante de unidades estructurales fenólicas.

Efectivamente, se ha demostrado que muchos hongos y actinomicetos y algunas bacterias forman polímeros del tipo de ácidos húmicos, en las células y/o en el medio, cuya composición elemental, acidez de cambio, espectros de I.R. y otras propiedades son semejantes a las de los ácidos húmicos de los suelos y turberas (HAIDER y MARTIN, 1967; FLAIG, 1975; FLAIG, et al. 1975; MARTIN, HAIDER y BONDIETTI, 1975). Algunos de estos polímeros fúngicos parecen estar constituidos principalmente de unidades fenólicas del tipo resorcinol.

Los microorganismos pueden contribuir a la formación de sustancias húmicas por dos procesos, transformación extracelular de componentes de plantas y animales, fundamentalmente humificación a base de lignina, y síntesis de precursores de sustancias húmicas a partir de compuestos alifáticos simples, a través de su metabolismo, e incluso polímeros de compuestos aromáticos formados de carbohidratos por la ruta del acetato-malonato o del ácido shiquímico (HAIDER et al. 1975). Numerosos hongos del grupo imperfecto sintetizan fenoles a partir de compuestos no aromáticos, que posteriormente los transforman en polímeros de color oscuro dentro y fuera de las células. Entre dichos fenoles se encuentran como más importantes el ácido orsellínico y el ácido 6-metil-salicílico. Por descarboxilación, oxidación de los grupos metílicos e introducción posterior de grupos hidroxílicos se forman otros fenoles.

El ácido 6-metil salicílico, que se forma por un gran número de hongos, sufre una transformación por oxidación del grupo metílico a carboxílico; posterior descarboxilación del ácido m-hidroxibenzoico formado conduce al ácido genticílico. Por acción del *Penicillium urticae* se forma metacresol y 2-metil-hidroquinona, en equilibrio con la correspondiente quinona, a partir del ácido 6-metil salicílico (HAIDER et al. 1975).

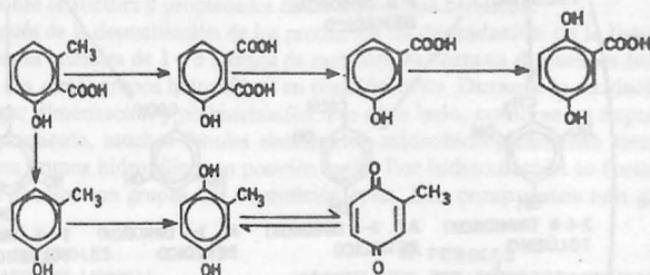


FIG. 6. TRANSFORMACION DEL ACIDO 6-METIL SALICILICO.  
(HAIDER ET AL., 1975)

El esquema de la figura 7 muestra la transformación de fenoles sintetizados por *Epicoccum nigrum* (HAIDER y MARTIN, 1967; FLAIG, 1973; HAIDER, et al 1975). El ácido orsellínico se forma por la ruta metabólica del acetato-malonato del citado microorganismo, así como el ácido 2-metil-3-5 dihidroxibenzoico (ácido cresorsellínico), a través del metabolismo de los ácidos alifáticos. El primero (ácido orsellínico) por descarboxilación forma orcinol (3,5 di-hidroxi tolueno) del cual por posterior oxidación del grupo metílico se forma resorcinol, que se encuentra sólo muy raramente. Por hidroxilación del orcinol se forma 6-metil-hidroxi-hidroquinona (2,3,5 trihidroxil-tolueno) y 3,4,5 trihidroxil-tolueno; este por oxidación forma ácido gálico, que por descarboxilación podría dar pirogalol.

Reacciones similares a las que experimenta el ácido orsellínico sufriría el ácido 2-metil, 3,5 dihidroxibenzoico para formar 2,4 dihidroxibenzoico y resorcinol. La hidroxilación del 2,4 dihidroxitolueno conduce al 2,4,6 trihidroxitolueno y 2,4,5 trihidroxitolueno. En la solución del cultivo del hongo se identifican en cantidades pequeñas sustancias tales como ácidos p. hidroxibenzoico, protocatéquico, gálico y p. hidroxil cinámico, que se forman a través del metabolismo de carbohidratos. No se encuentran, sin embargo, derivados metoxílicos, tales como ácido vainílico o ácido siríngico. La 5 y 6 metil hidroxil hidroquinona (2,4,5 - y 2,3,5 - trihidroxil tolueno), así como el pirogalol y los compuestos metilados y carboxilados correspondientes son responsables de la formación de sustancias de alto peso molecular semejantes a los ácidos húmicos en el medio de cultivo del *Epicoccum nigrum*, ya que

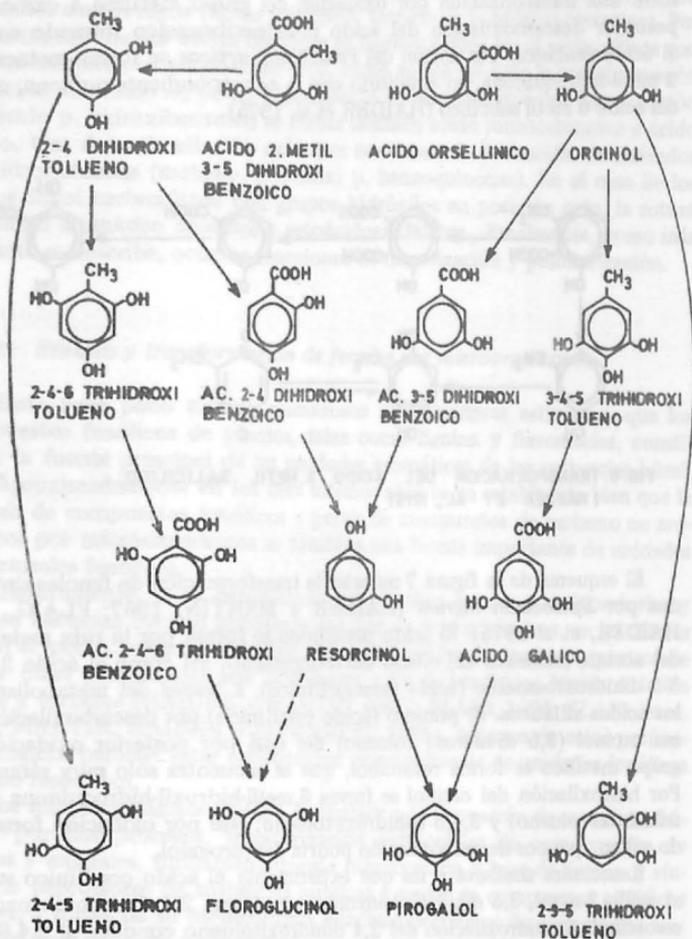


FIG. 7. SINTESIS Y TRANSFORMACION DE FENOLES POR MICROORGANISMOS (*Epicoccum nigrum*) (HAIDER Y MARTIN, 1967)

los compuestos del resorcinol no reaccionan con aminoácidos bajo estas condiciones y no forman aquellos compuestos nitrogenados semejantes a las sustancias húmicas.

Entre los diferentes fenoles separados de los ácidos húmicos, aislados del suelo o sintetizados por microorganismos existen dos tipos de interés en estudios sobre estructura y propiedades de las sustancias húmicas.

Después de la desmetilación de los productos de degradación de la lignina con cadenas laterales de 1 a 3 átomos de carbono, se forman diferentes fenoles con dos o más grupos hidroxílicos en posición *orto*. Durante la oxidación tiene lugar dimerización y polimerización. Por otro lado, como se ha expuesto anteriormente, muchos fenoles sintetizados microbiológicamente tienen dos o tres grupos hidroxílicos en posición *meta*. Por hidroxilación se forman también fenoles con grupos OH en posición *orto*. Los compuestos con gru-

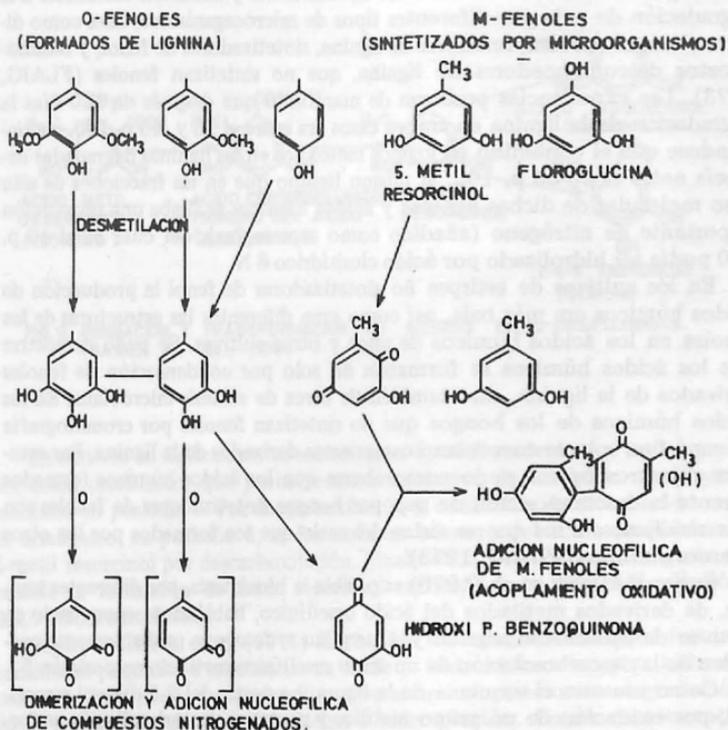


FIG. 8. TRANSFORMACION DE POLIFENOLAS BAJO CONDICIONES OXIDANTES. (FLAIG, 1973)

por OH en *orto* o *meta* posición difieren ampliamente en su reactividad. FLAIG, 1973, esquematiza del siguiente modo la transformación de *orto* y *meta* polifenoles bajo condiciones oxidantes.

Como se mencionó con anterioridad se han realizado estudios de la degradación bioquímica de "ligninas sintéticas", con átomos de carbono marcados, en cultivos de *Pleurotus ostreatus* y *Stachybotrys chartarum*. Por lo general los átomos de carbono de los grupos metoxilos y carbinol se eliminan más rápidamente que los otros átomos de carbono, habiéndose comprobado una relativa alta actividad de los ácidos húmicos sintetizados después de la adición de compuestos marcados en el anillo. Se demuestra que los constituyentes aromáticos de la lignina o sus productos fenólicos de degradación, participan en la formación de ácidos húmicos, así como productos de degradación con un átomo de carbono en la cadena lateral pueden tomar parte en la formación de sustancias húmicas (FLAIG, 1973).

De gran interés son los estudios de GRABBE y HAIDER referentes a la degradación de paja por diferentes tipos de microorganismos, tales como diversos hongos descomponedores de lignina, sintetizadores de fenol, y basidiomicetos descomponedores de lignina, que no sintetizan fenoles (FLAIG, 1973). Las experiencias pusieron de manifiesto que después de 120 días la degradación de la lignina en ambos casos era entre el 25 y 40 p. 100, encontrándose que el contenido en grupos metoxilos en las ligninas degradadas decrecía entre el 50-60 p. 100, al mismo tiempo que en las fracciones de alto peso molecular de dichas ligninas y ácidos húmicos se fijaba una proporción importante de nitrógeno (añadido como asparagina), del cual 30 al 40 p. 100 podía ser hidrolizado por ácido clorhídrico 6 N.

En los cultivos de estirpes no sintetizadoras de fenol la producción de ácidos húmicos era más baja, así como eran diferentes las estructuras de los fenoles en los ácidos húmicos de unos y otros cultivos. Se pudo demostrar que los ácidos húmicos se formaban no solo por condensación de fenoles derivados de la lignina, sino también de otros de síntesis microbiana. En los ácidos húmicos de los hongos que no sintetizan fenoles por cromatografía en capa fina solo se encuentran compuestos derivados de la lignina. Por estudios espectroscópicos pudo comprobarse que los ácidos húmicos formados durante la descomposición de paja por hongos sintetizadores de fenoles son más semejantes a los que se aislan del suelo que los formados por los otros microorganismos (FLAIG, 1973).

Según HAIDER et al. (1975) es posible la biosíntesis, por diferentes hongos, de derivados metilados del ácido orsellínico, habiéndose encontrado en cultivos de *Epicoccum nigrum* y *Aspergillus sydowi* que probablemente proceden de la descarboxilación de un ácido orsellínico metilado en posición 3.

Como muestra el esquema de la figura 9 a partir del 2,5 dimetil resorcinol, por oxidación de un grupo metílico y posterior descarboxilación se formaría 2 metil resorcinol, y por hidroxilación 2,3,6 trihidroxitolueno. Así mismo es posible la hidroxilación del 2,5 dimetil resorcinol para formar 2,3,5 trihidroxi 1-4 dimetilbenceno.

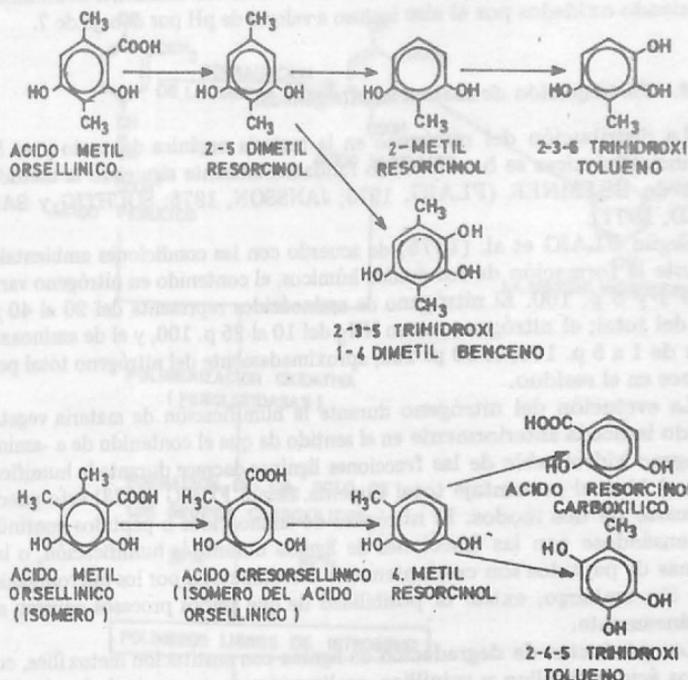


FIG. 9. FORMACION Y TRANSFORMACION DE ACIDOS METIL-ORSELLINICOS. (HAIDER ET AL., 1975)

En cultivos en *Epicoccum* se encontraron 4-metil resorcinol y un isómero del ácido orsellínico, que probablemente se deriva de un ácido orsellínico metilado en posición 5. Por descarboxilación y oxidación de dicho ácido metil orsellínico, en posición 5, se formaría un isómero del ácido orsellínico y 4-metil resorcinol por descarboxilación. Finalmente, por oxidación de este es posible la formación de ácido resorcinol carboxílico, y por hidroxilación 2,4,5 trihidroxitolueno.

Según HAIDER et al. (1975) muchos de los hongos estudiados forman cantidades pequeñas a moderadas de ácido p. hidroxicinámico y p. hidroxibenzoico, que pueden experimentar diversas transformaciones: degradación de la cadena lateral, descarboxilación e hidroxilación. Como consecuencia de estas transformaciones se forma ácido cafeico, ácido protocatequico, ácido gálico y pirogalol, así como ácido 2,3,4 trihidroxibenzoico.

Algunos de los fenoles de síntesis microbiana son altamente autooxidantes, siendo oxidados por el aire incluso a valores de pH por debajo de 7.

### 3. Participación de sustancias nitrogenadas.

La distribución del nitrógeno en la materia orgánica del suelo y en las sustancias húmicas se ha estudiado fundamentalmente siguiendo la metodología de BREMNER (FLAIG, 1973; JANSSON, 1975; SOCHTIG y SALFELD, 1977).

Según FLAIG et al. (1975) de acuerdo con las condiciones ambientales durante la formación de los ácidos húmicos, el contenido en nitrógeno varía entre 1 y 5 p. 100. El nitrógeno de aminoácidos representa del 20 al 40 p. 100 del total; el nitrógeno como  $\text{NH}_3$  del 10 al 25 p. 100, y el de aminoazúcares de 1 a 5 p. 100, el 50 p. 100, aproximadamente del nitrógeno total permanece en el residuo.

La evolución del nitrógeno durante la humificación de materia vegetal ha sido indicada anteriormente en el sentido de que el contenido de  $\alpha$ -amino nitrógeno hidrolizable de las fracciones ligninas decrece durante la humificación, si bien el porcentaje total aumenta. Según FLAIG (1973) esto puede explicarse de dos modos. El nitrógeno de aminoácidos o péptidos continúa condensándose con las fracciones de lignina durante la humificación, o las cadenas de péptidos son crecientemente descompuestas por los microorganismos. Sin embargo, existe la posibilidad de que ambos procesos ocurran simultáneamente.

Los productos de degradación de lignina con sustitución metoxilica, como los ácidos ferúlico y vainillico, polimerizan en presencia de fenoloxidasas de microorganismos y aminoácidos y forman polímeros libres de nitrógeno. Esto es, en el caso de compuestos aromáticos metoxi-hidroxilados no tiene lugar adición nucleofílica de aminoácidos. Estos polímeros pueden ser utilizados por los microorganismos como fuente de carbono, siendo degradados, por ejemplo, por el hongo *Pleurotus ostreatus*, que separa más carbono de grupos carboxílicos y metoxílicos que de carbonos 2 y 3 de la cadena lateral del ácido ferúlico (HAIDER et al. 1962; 1964, FLAIG, 1973; FLAIG et al. 1975).

En contraste con la polimerización oxidativa anteriormente citada para el ácido ferúlico y vainillico, los ácidos di-hidroxi-fenil carboxílicos, como el protocatéquico y el cafeico, en presencia también de fenol oxidasas evolucionan con formación de polímeros que contienen nitrógeno, por tener lugar una adición nucleofílica de aminoácidos, encontrándose al mismo tiempo que la cantidad de  $\text{CO}_2$  marcado que se desprende es mayor que en el caso de los ácidos con grupos hidroxí-metoxílicos. El dióxido de carbono procede tanto del grupo carboxílico correspondiente como de los aminoácidos por

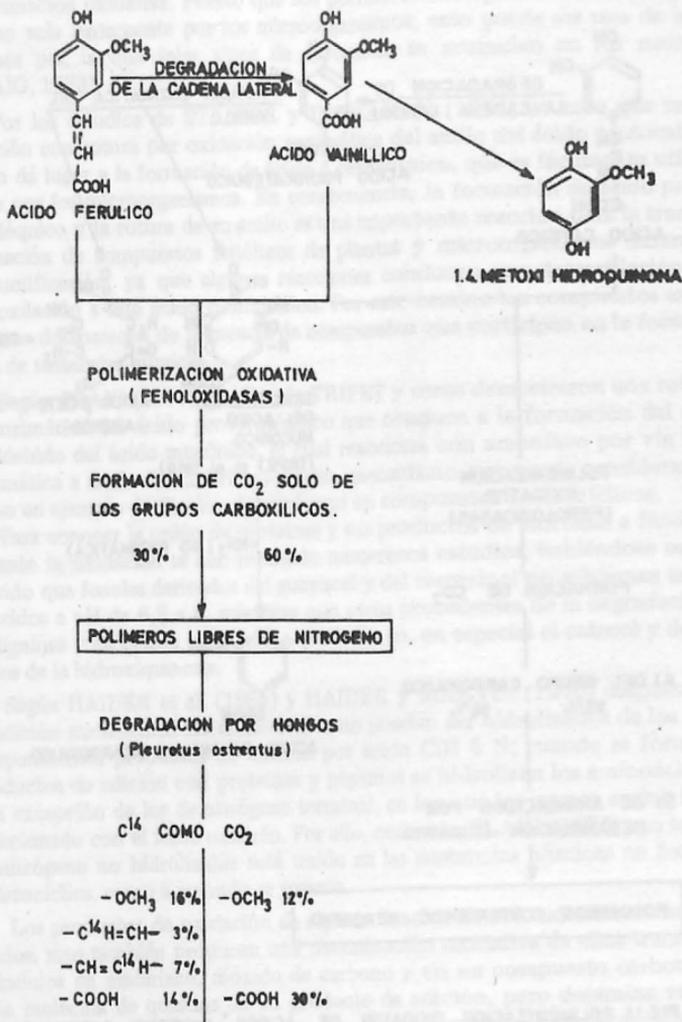


FIG.10. POLIMERIZACION OXIDATIVA DE ACIDOS CARBOXI-FENOLICOS METOXIL SUSTITUIDOS. (FLAIG, 1973)

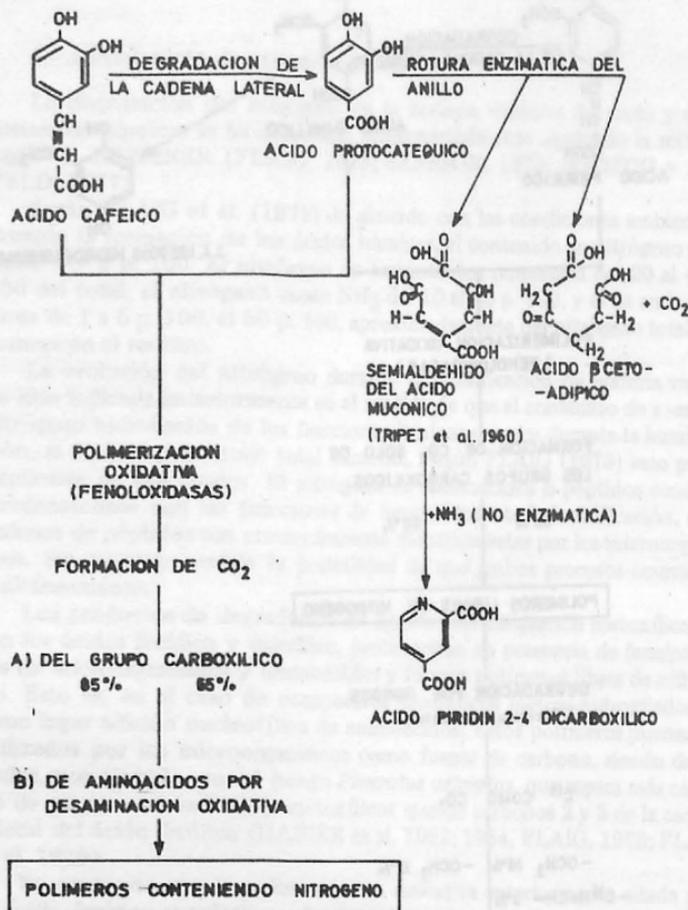


FIG.11. POLIMERIZACION OXIDATIVA DE ACIDOS O-DIFENOL CARBOXILICOS Y SU REACCION CON COMPUESTOS NITROGENADOS. (FLAIG, 1973)

desaminación oxidativa. Puesto que los polímeros nitrogenados se degradan mucho más lentamente por los microorganismos, esto puede ser una de las razones por la que tales tipos de sustancias se acumulan en los suelos (FLAIG, 1973).

Por los estudios de STANIER y INGRAHAN (1954) se sabe que una reacción con rotura por oxidación enzimática del anillo del ácido protocatéuico dá lugar a la formación de ácido  $\beta$  cetoalópico, que es fácilmente utilizable por los microorganismos. En consecuencia, la formación de ácido protocatéuico y la rotura de su anillo es una importante reacción para la transformación de compuestos fenólicos de plantas y microorganismos durante la humificación, ya que algunas reacciones conducen por desmetilación e hidroxilación a este ácido o-difenólico. Por este camino los compuestos aromáticos desaparecen de la mezcla de compuestos que participan en la formación de sustancias húmicas.

Según FLAIG (1973) estudios de TRIPET y otros demostraron una rotura enzimática del ácido protocatéuico que conduce a la formación del semialdehído del ácido mucónico, el cual reacciona con amoníaco por vía no enzimática a ácido 2,4 dicarboxi-piridin, mecanismo que puede considerarse como un ejemplo de fijación de nitrógeno en compuestos heterocíclicos.

Para conocer la unión de proteínas y sus productos de hidrólisis a fenoles durante la oxidación se han realizado numerosos estudios, habiéndose establecido que fenoles derivados del guayacol y del resorcinol no adicionan aminoácidos a pH de 6,5 a 8, mientras que otros procedentes de la degradación de ligninas y de origen microbiano sí adicionan, en especial el catecol y derivados de la hidroxiquinona.

Según HAIDER et al. (1965) y HAIDER y MARTIN (1970) después de la adición nucleofílica los aminoácidos no pueden ser hidrolizados de los correspondientes productos de adición por ácido ClH 6 N; cuando se forman productos de adición con proteínas y péptidos se hidrolizan los aminoácidos con excepción de los de nitrógeno terminal, en los que los grupos amino han reaccionado con el fenol oxidado. Por ello, comenta FLAIG (1973), no todo el nitrógeno no hidrolizable está unido en las sustancias húmicas en forma heterocíclica, como a menudo se supone.

Los productos de oxidación de algunos fenoles no solo adicionan aminoácidos, sino también producen una desaminación oxidativa de ellos transformándolos en amoníaco, dióxido de carbono y en un compuesto carbonilo. Una molécula de quinona da un producto de adición, pero desamina varias moles de aminoácidos. El mecanismo de la reacción de adición de glicina a 2 hidroxi 5 metil 1,4 benzoquinona y la desaminación oxidativa, según FLAIG (1.973), se muestra en el esquema siguiente.

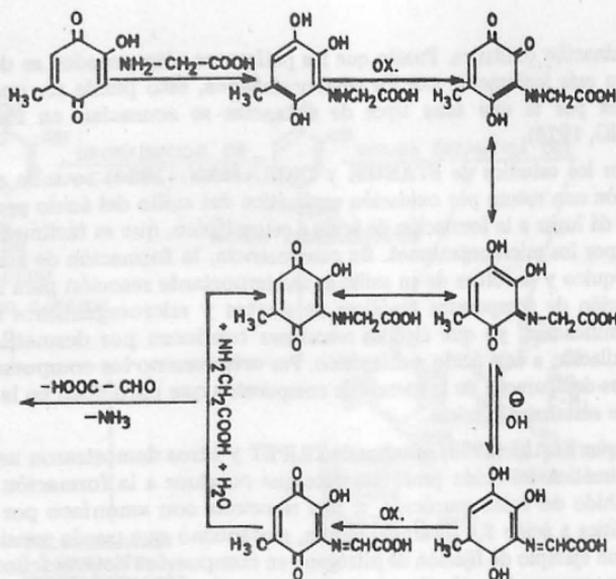


FIG.12. MECANISMO DE LA DESAMINACION OXIDATIVA DE GLICINA POR 2. HIDROXI.1.4. BENZOQUINONA. (FLAIG. 1973)

El efecto catalítico de quinonas con estructura molecular diferente sobre la adición nucleofílica y sobre la desaminación oxidativa puede ser interesante no solo para la formación de sustancias húmicas, sino también en conexión con el efecto fisiológico de fenoles o quinonas sobre el metabolismo vegetal (FLAIG, 1975).

BONDIETTI et al. (1972), MARTIN et al. (1975) han realizado experiencias con glucosamina marcada o *chitosan* (poliglucosamina) y demuestran que estos aminoazúcares se estabilizan por adición nucleofílica sobre fenoles en medio oxidante.

A valores de pH superiores a 8, derivados de fenoles con al menos dos grupos hidroxílicos en posición *orto* o *para* reaccionan con amoníaco a primeros nitrogenados de color oscuro. En ausencia de aire y en presencia de amoníaco un grupo hidroxílico puede ser reemplazado en la hidroxi hidroquinona por un grupo amino, formándose un aminoresorcinol que reacciona en presencia de oxígeno con otra hidroxi hidroquinona para producir 7 hidroxi fenoxazona.

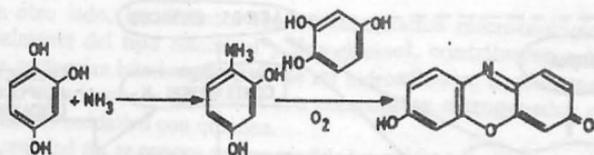


FIG.13. FORMACION DE DERIVADO DE LA FENOXAZONA.

Una posibilidad de formación de sustancias húmicas de color oscuro es a partir de aminoácidos aromáticos de las proteínas de los microorganismos. La polimerización propuesta de tirosina a melanina puede ser usada para la explicación de la formación de ácidos húmicos, aunque este proceso es mucho más complicado, ya que diversos componentes fenólicos y varios compuestos nitrogenados toman parte en la formación de los polímeros. Así mismo, la formación de sustancias coloreadas de oscuro en tejidos de plantas intactas al comienzo de la humificación puede ser explicada de manera similar (FLAIG, 1973).

#### 4. Resumen.

El esquema de la fig. 14 muestra un resumen de algunos problemas seleccionados de la formación de sustancias húmicas por FLAIG (1973, 1975), y no intenta -según el autor- abarcar todos los procesos de la humificación.

Como en distintas ocasiones se ha indicado, el esquema muestra también que hay dos fuentes esenciales de fenoles para la formación de sustancias húmicas en la naturaleza.

La formación de fenoles de lignina tiene lugar principalmente por degradación microbiana, mediante la cual se rompen uniones C-C y uniones éter de la estructura de la molécula compleja de lignina. Se forman distintos productos de degradación que contribuyen a la formación de sustancias húmicas de color pardo por reacción, según algunos de los mecanismos citados, con compuestos nitrogenados, derivados de proteínas -vegetales y animales- y de sus productos de degradación, según los distintos estadios bien establecidos para su evolución. En la fijación de nitrógeno, las roturas en las uniones éteres metílicos y el incremento del contenido en oxígeno desempeñan un importante papel.

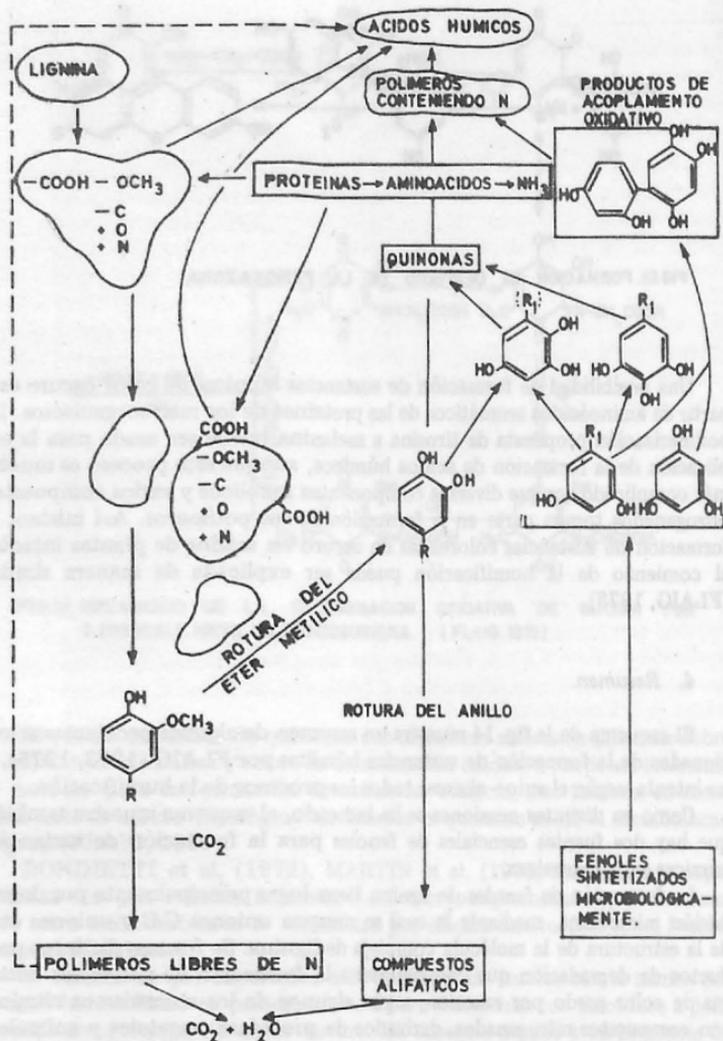


FIG.14. CONTRIBUCION DE UNIDADES ESTRUCTURALES FENOLICAS Y NITROGENADAS A LA COMPOSICION QUIMICA DE SUSTANCIAS HUMICAS. (W. FLAIG, 1973)

Por otro lado, los distintos fenoles sintetizados microbiológicamente, principalmente del tipo resorcinol y floroglucinol, contribuyen a la formación de sustancias húmicas después de ser hidroxilados, transformados por oxidación a quinonas y reaccionar con compuestos nitrogenados o por un acoplamiento oxidativo con quinona.

En realidad no se conoce en que medida los polímeros libre de nitrógeno que resultan de la degradación de lignina participan en la formación de sustancias húmicas, si bien son fuentes de carbono disponible para los microorganismos. Algunos compuestos fenólicos derivados de la lignina o sintetizados por los microorganismos desaparecen de la mezcla de compuestos; por rotura del anillo aromático se forman compuestos alifáticos que pueden ser usados como fuentes de carbono, y participar indirectamente en la síntesis de sustancias húmicas.

Según FLAIG, el esquema muestra las distintas reacciones posibles y tipos de sustancias que intervienen en el sistema húmico como un todo. Quedan sin embargo, muchas cuestiones pendientes de ser aclaradas, tales como estabilidad en el suelo de los distintos productos de condensación, naturaleza y génesis de los polímeros nitrogenados, etc. Finalmente, FLAIG apunta una cuestión que alcanza gran importancia práctica, la disponibilidad en las sustancias húmicas de nitrógeno orgánicamente unido, cuestión del mayor interés en la productividad del suelo.

### *III. EXTRACCION, FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACION DE SUSTANCIAS HUMICAS*

Como ya se ha expuesto en varias ocasiones, aunque fuera de modo indirecto la mayoría de las veces, la materia orgánica total de los suelos, -y también la contenida en algunos sedimentos de la biosfera y en otros materiales diversos sujetos a la influencia de esta en la actualidad y/o en tiempos sub-actuales o muy antiguos-, contiene un amplio espectro de compuestos que presentan, en general, propiedades químicas y físicas muy variables. Pero al mismo tiempo, cierto paralelismo genético y evolutivo de la materia orgánica abiótica ambiental determina que muchos de los compuestos que se forman de restos de plantas y animales más o menos profundamente humificados tengan propiedades químicas y físicas al menos similares. Por ello, todo intento que persiga la extracción de sustancias totalmente definidas por una composición y estructura es tarea harto difícil, en especial si se tiene presente que en la mayoría de los casos aquellas sustancias están unidas entre sí y con otros componentes minerales del medio formando complejos del mayor interés para la configuración, a diversos niveles, del ambiente donde la vida se desarrolla en las condiciones generales más favorables, esto es en la biosfera.

En un intento de simplificar al máximo una posible clasificación de todos los componentes de la materia orgánica del suelo, puede aceptarse, al menos porque tiene un indudable interés genético, de composición y analítico, la división en dos grandes grupos: sustancias húmicas y no húmicas. Como es bien sabido, en estas últimas se incluyen aquellos compuestos de procedencia biológica y sus derivados que poseen estructura química definida, fundamentalmente carbohidratos, proteínas y lípidos. Las sustancias no húmicas, en general, se alteran fácilmente por los microorganismos y tienen un rápido "turnover" (PIERCE y FELBECK, 1975).

Las sustancias húmicas, de las cuales se han dado numerosas definiciones, son -en opinión de los autores antes citados-, macromoléculas amorfas, de color oscuro, sintetizadas en el suelo como resultado de procesos químicos y físicos, biológicos y abiológicos, llamados de humificación. Estas sustancias son relativamente resistentes al ataque microbiano, y por lo general representan del 50 al 80 p. 100 de la materia orgánica total del suelo.

Por muy diversas circunstancias, en los estudios científicos de la materia orgánica de los suelos las sustancias húmicas han recibido el mayor interés. Algunos de los principales aspectos de la formación de estas sustancias se han expuesto en apartados anteriores. La total cuantificación y caracterización de las mismas exige, casi siempre, su separación y extracción seguida de un fraccionamiento, de las restantes sustancias no húmicas.

Como ya se ha apuntado, una dificultad en la extracción y fraccionamiento de las sustancias húmicas radica en el hecho de que, por lo general, en el suelo se encuentran unidas por cationes bivalentes y trivalentes, y posiblemente por uniones de puente de hidrógeno de grupos hidroxílicos alifáticos o fenólicos y también por grupos aminos con minerales de la arcilla y otros componentes minerales. Por estos motivos, la eficacia de los métodos ó procedimientos de extracción de sustancias húmicas está la mayoría de las veces relacionada con la capacidad de conseguir incrementar la solubilidad específica de uno o varios grupos de tales sustancias frente a distintos reactivos o solventes.

Los métodos que suelen emplearse están dirigidos a extraer por solución las sustancias húmicas, y aunque son muy numerosos los solventes empleados, desde el uso por ACHARD en 1786 de una disolución de hidróxido sódico, las soluciones alcalinas son las más frecuentes y las que mayor porcentaje de extracción presentan.

Las extracciones alcalinas conllevan, sin embargo, una serie de dificultades ó inconvenientes que han de tenerse presentes: disuelven parte de la materia orgánica de restos vegetales poco descompuestos, como hemicelulosa y lignina; producen hidrólisis de sustancias complejas presentes en los suelos; favorecen ciertas reacciones de condensación; disuelven compuestos silíceos y facilitan la oxidación por el aire de sustancias extraídas (KUNINOVICH, 1966; DUCHAUFOR et al. 1963; FLAIG et al 1975; DUCHAUFOR, 1975).

El primer esquema de extracción y fraccionamiento de sustancias húmicas con aceptación general fue el de ODEN (1919), basado en el empleo de una solución acuosa de NaOH; la nomenclatura de las fracciones obtenidas fue modificada por PAGE y DUTOIT, en 1930, y ha sido el esquema de extracción más ampliamente usado en análisis de materia húmica del suelo (PIERCE y FELBECK, 1975).

Diversas modificaciones al procedimiento de extracción con solución de NaOH han sido propuestas en orden a aumentar el rendimiento y disminuir la extensión de la alteración. En este sentido se ha generalizado el uso del  $P_2O_7Na_4$  0,1 M (BREMNER et al. 1946; BREMNER et al. 1949) como agente complejante, con o sin adición de una sal neutra de sodio, seguido de una extracción con solución acuosa diluida de NaOH (DUCHAUFOR y JACQUIN, 1963; KONONOVA, 1966; GONZALEZ VILA, 1974; DUCHAUFOR, 1975; FLAIG et al. 1975).

A pesar de ello, y tal como se ha indicado más arriba, el tipo convencional del análisis de la materia orgánica hace uso de la sosa como agente extractor de las sustancias húmicas, que combinado con la precipitación por ácido y extracción con etanol permite clasificar la materia orgánica humificada en *humina* (residuo insoluble en sosa), *ácidos fúlvicos* (que se extraen con sosa y no precipitan con ácido), *ácidos húmicos* (solubles en sosa e insolubles en ácidos) y *ácido himatomeánico* (fracción soluble en etanol de los ácidos húmicos).

Sin embargo, puesto que el estudio de la materia orgánica del suelo no puede considerarse completo sin la caracterización de todos los grupos presentes, algunos autores se preocupan también de la cantidad y naturaleza de la materia orgánica no húmica, la mayoría de las veces -como lo demuestran estudios químicos, físicos y microscópicos-, asociada de algún modo con sustancias húmicas (FLAIG, 1971 y 1973; KONONOVA, 1966; BAL, 1973; DUCHAUFOR y JACQUIN, 1963; DUCHAUFOR, 1975; FLAIG et al. 1975; PIERCE y FELBECK, 1975). Y puesto que las sustancias orgánicas que constituyen la fracción no húmica tienen una composición y estructura química definida, su extracción, fraccionamiento e identificación se lleva a cabo por procedimientos especiales, entre los que PIERCE y FELBECK (1975) citan los de ROBINSON; BREMNER; LYNCH et al.; y FARR'NGTON y QUIN para querocenos, aminoácidos, carbohidratos y ácidos grasos, respectivamente. Mc LAREN y PETERSON (1967) y GIESEKING (1975), incluyen diversos trabajos en los que se indican métodos para aislar y caracterizar sustancias orgánicas no húmicas del suelo o de las fracciones húmicas.

En resumen, los métodos de investigación de la materia orgánica del suelo se basan en gran medida en la separación de sustancias húmicas y no húmicas, seguida de la caracterización de grupos de sustancias en cada uno de ellas de acuerdo con la metodología en muchos casos un tanto arbitraria y en otros con bien fundamentados criterios analíticos, dependiendo de la complejidad de las mismas y de los objetivos perseguidos. Con fines de caracte-

rizar las sustancias húmicas de los suelos se han propuesto, siguiendo la mencionada línea general, algunos métodos que han tenido general aceptación, como el de TYURIN (KONONOVA, 1966) modificado posteriormente por algunos autores (DUCHAUFOR et al. 1963).

Un método rápido de determinar la composición del humus en suelos fue desarrollado en 1961 por KONONOVA y BEL'CHIKOVA (KONONOVA, 1966) que nosotros hemos utilizado con algunos modificaciones para estudiar, conjuntamente con otros parámetros, la materia orgánica de suelos de Sierra Morena y de la Sierra del Pinar (BELLINFANTE et al. 1977,a; 1977 b; CORRAL, 1978).

No cabe la menor duda que los resultados que se obtienen en la extracción de las sustancias húmicas dependen en gran medida del método seguido, como ya se ha indicado, por lo que con fines comparativos se hace necesario seguir siempre meticulosamente una metodología bien establecida. POVOLEDO (1975) ha hecho unas consideraciones profundas acerca de este crucial problema que representan los métodos de análisis de la materia orgánica abiótica ambiental.

Las sustancias húmicas separadas o extraídas de los suelos o sedimentos metabólicamente activos, constituyen un conjunto o agrupamiento, por lo general poco o mal definido, de sustancias amorfas que deben ser posteriormente fraccionadas según diversos procedimientos, tales como precipitación fraccionada, cambio iónico, cromatografía por gel, cromatografía por adsorción, electroenfoque, etc. (KONONOVA, 1966; GONZALEZ VILA, 1975; PIERCE y FELBECK, 1975; SERRA y FELBECK, 1975; SCHNITZER, 1975; FLAIG, 1973; FLAIG et al. 1975).

La separación y caracterización de las fracciones puede llevarse a cabo por procedimientos rápidos y simples, como por ejemplo basado en solubilidades y determinación del carbono en cada una de ellas, o bien teniendo en cuenta las solubilidades y análisis elemental (KONONOVA, 1966; PIERCE y FELBECK, 1975; SCHNITZER, 1975).

Por otro lado, un problema de especial interés es la purificación de las sustancias húmicas extraídas y fraccionadas, que pueden contener cantidades importantes de ceniza, compuestos nitrogenados, polisacáridos, fenoles y otros materiales. En general, para remover estas sustancias se suele realizar una hidrólisis con CH<sub>6</sub>N (SCHNITZER, 1975); otros métodos, relativamente más suaves se basan en el empleo de resinas de cambio iónico, cationes polivalentes, precipitación con bases de amonio cuaternario, cromatografía en columna sobre celulosa, etc. (FLAIG, et al. 1975; SERRA y FELBECK, 1975).

El grado en el cual puede caracterizarse la materia orgánica varía desde procedimientos o esquemas muy simples, por ejemplo basado en solubilidades y determinación del carbono en cada extracto, o bien teniendo en cuenta las solubilidades y el análisis elemental de cada fracción, hasta la más completa caracterización posible por procedimientos químicos y físi-

cos (KONONOVA, 1966; FLAIG, 1973; GONZALEZ VILA, 1974; FLAIG et al. 1975; PIERCE y FELBECK, 1975; SCHNITZER, 1975).

El análisis elemental de las sustancias húmicas se puede realizar con rapidez y seguridad con analizadores automáticos que proporcionan los contenidos en carbono, hidrógeno y nitrógeno. El oxígeno se determina bien por métodos directos, bien por diferencia; los resultados conviene referirlos a muestra seca y libre de cenizas (SCHNITZER, 1975).

A modo de orientación puede indicarse que el contenido en carbono de los ácidos húmicos varía entre 50 a 60 p. 100 y el de oxígeno entre 30-40 p. 100; en los ácidos fúlvicos estos dos elementos son también los mayoritarios, si bien el carbono se encuentra en proporción algo menor (40-50 p. 100) y el oxígeno en cantidad ligeramente superior que en los ácidos húmicos (44-50 p. 100). El hidrógeno representa del 4 al 6 p. 100 y el azufre entre 0 y 2 p. 100 en ambos grupos de sustancias. Por lo que respecta a nitrógeno, los ácidos húmicos contienen 2-6 p. 100 y los fúlvicos cantidades inferiores, 1-3 p. 100 (SCHNITZER, 1975).

Por lo general, el análisis de grupos funcionales en sustancias húmicas incluye las siguientes determinaciones: acidez total, grupos  $\text{CO}_2\text{H}$ , total de grupos OH, grupos OH fenólicos, grupos OH alcohólicos, total de grupos  $\text{C}=\text{O}$ , grupos quinónicos y grupos cetónicos (SCHNITZER, 1975; KONONOVA, 1966; FLAIG et al. 1975; GONZALEZ VILA, 1974).

Valores medios para grupos funcionales en distintas sustancias húmicas muestran que los ácidos fúlvicos contienen por unidad de peso una cantidad considerablemente mayor de  $\text{CO}_2\text{H}$  (8,1 meq/g. y grupos OH alcohólicos (4,0 meq/g.) que los ácidos húmicos (4,4 y 1,9 meq/g. respectivamente); la humina contiene más grupos  $\text{C}=\text{O}$  (3,1 meq/g.) que los ácidos fúlvicos y húmicos (1,4 y 1,2), y en los tres grupos de sustancias el contenido en  $\text{OCH}_3$  metoxilos es bajo (0,3-0,4 meq/g.) (SCHNITZER, 1975).

La absorción de las sustancias húmicas en solución en región visible y ultravioleta del espectro electromagnético de la luz, proporciona espectros no característicos, según SCHNITZER (1975). Sin embargo, la cuestión del color de las sustancias húmicas ha recibido distinta atención e interés por parte de investigadores americanos y europeos, así como el concepto de la composición química del humus y la metodología correspondiente para su extracción, fraccionamiento y análisis (SALFELD, 1975).

Es evidente que, en contraste con muchas sustancias de peso molecular más alto, el espectro de absorción de las fracciones húmicas no muestra máximos claros (FLAIG, 1973). A este respecto no hay que olvidar la multitud de constituyentes moleculares de las sustancias húmicas que absorben en el rango ultravioleta y visible, como son compuestos fenólicos, aminoácidos, productos de oxidación de los primeros y productos de condensación de fenoles con compuestos nitrogenados, etc. La presencia de estos compuestos determinan espectros de mezclas, que no presentan diferencias fuer-

temente marcadas en las propiedades de absorción cuando se comparan por ejemplo diferentes tipos de ácidos húmicos.

A pesar de ello, los investigadores alemanes han introducido una serie de números clave para caracterizar por comparación el valor del color de los ácidos húmicos, como por ejemplo la absorción a 619 nm. de la muestra dividida por la absorción a 619 nm. de ácidos húmicos estandar (Acido Húmico Merck, por ejemplo); el factor de color  $E_{463}/E_{619}$ ; el cociente de color  $E_{470}/E_{664}$ , y otros valores (POSPISIL et al. 1967; FLAIG et al. 1975). Por otro lado, los trabajos de KUMADA, en 1965, permitieron clasificar los extractos de los ácidos húmicos de diferentes suelos en tres tipos, A, B y  $R_p$  (FLAIG et al. 1975).

SALFELD (1974, 1975) y SALFELD y SOCHTIG (1975, 1977), entre otros, discuten recientemente la posibilidad de utilizar los espectros de absorción en las regiones del visible y ultravioleta de la luz para caracterizar sistemas húmicos, según se comentará más adelante.

El uso de la espectroscopía de I.R. permite obtener información acerca de la presencia de agrupamientos atómicos y grupos funcionales en las sustancias húmicas de diferentes suelos con fines comparativos, si bien la asignación de bandas de absorciones específicas se encuentra grandemente limitada por el hecho de que las preparaciones de aquellas representan por lo general mezclas de diversos compuestos con diferentes tipos de uniones y grupos funcionales (KONONOVA, 1966; FLAIG et al. 1975).

Según SCHNITZER (1975) los espectros de infrarrojo de las sustancias húmicas muestran bandas a diferentes frecuencias más o menos características de algunas deformaciones de uniones atómicas y presencia de grupos funcionales e impurezas; las bandas son amplias, posiblemente a causa del extensivo solapado de absorciones individuales; los espectros en general, reflejan la preponderancia de grupos funcionales que contienen oxígeno,  $CO_2H$ ,  $OH$  y  $C=O$ . Es posible estudiar la relación entre grupos funcionales y peso molecular de ácidos húmicos fraccionados en columnas con gel Sephadex (SKLODOWSKI, 1973).

El método proporciona información de modificaciones de las sustancias húmicas por tratamientos químicos (metilación, acetilación, esterificación, etc.), permite detectar cambios en la estructura química del material que se estudia por oxidación, pirolisis y formación de complejos metálicos y comparar la composición de diversas sustancias húmicas relacionadas (THENG et al. 1967; OGNER, 1969; STEVESON et al., 1972; FLAIG, 1973; FILIP et al. 1974).

Una evaluación crítica de la eficacia de los métodos ópticos en los rangos del ultravioleta, visible e infrarrojo en la caracterización de las sustancias húmicas permite a FLAIG (1973) exponer las siguientes conclusiones: Estos métodos no permiten una exacta determinación de la estructura química; sin embargo, pueden mostrar diferencias apreciables en las sustancias húmicas de diferentes suelos cuando se aíslan de igual modo siguiendo un mismo

método convencional. Algunas bandas del espectro de infrarrojo pueden ser asignadas a grupos especiales en las moléculas de ácidos húmicos. Las diferencias en absorción en el ultravioleta y visible son suficientemente grandes como para determinar características de sistemas húmicos por métodos estadísticos.

Como se ha indicado en varias ocasiones, la materia orgánica del suelo contiene un número muy grande de compuestos orgánicos, los cuales están sometidos constantemente a transformaciones químicas y biológicas. No resulta, pues, extraño que muchas de las reacciones que ocurren den lugar a la producción de radicales, algunos de los cuales pueden ser radicales libres orgánicos, de gran interés en el campo de la bioquímica del suelo (STEELINK y TOLLIN, 1967).

Por espectrometría de resonancia paramagnética del electrón fue posible a REX, en 1960, demostrar la existencia de radicales en la materia orgánica del suelo. Posteriormente, STEELINK y TOLLIN, en 1962, y STEELINK, en 1964, demostraron que los ácidos húmicos contienen radicales, del tipo de semiquinona (STEELINK y TOLLIN, 1967; FLAIG, 1975; SCHNITZER, 1975). Asimismo, los ácidos húmicos de algunos sedimentos marinos y de lagos contienen radicales libres similares a los de los ácidos húmicos y fúlvicos del suelo (ISHIWATARI, 1975).

La espectrometría de resonancia magnética nuclear de fracciones húmicas previamente metiladas ha puesto de manifiesto la ausencia de protones aromáticos y olefinicos, debido probablemente al hecho de que el "núcleo" aromático de las sustancias húmicas está totalmente sustituido por átomos distintos al hidrógeno, o bien que los efectos de relajamiento de los spins de los electrones desapareados interfieren con las medidas de r.m.n. (SCHNITZER, 1975). Los espectros de r.m.n. de fracciones húmicas de sedimentos marinos y de lagos tampoco proporcionan picos representativos de protones aromáticos (ISHIWATARI, 1975).

En investigaciones estructurales de sustancias húmicas, así como en el estudio de complejos organo-minerales, en especial complejos húmico-arcillosos (THOMPSON, et al. 1970; KODAMA et al. 1969) se han utilizado diversos métodos térmicos (TG; TGD; ATD; etc.). Respecto al estudio térmico de las sustancias húmicas, en 1964 SCHNITZER y HOFFMAN mostraron las principales reacciones que tienen lugar en la pirolisis de ácidos húmicos y fúlvicos: deshidrogenación a unos 200°C; descarboxilación y deshidratación conjuntamente entre 200 y 250°C y deshidratación a temperaturas superiores a 250°C (SCHNITZER, 1975).

Diferencias estructurales entre ácidos húmicos de chernozems y suelos podsólicos, y modificaciones en las estructuras de sustancias húmicas con la profundidad del perfil en chernozems, suelos pardos y suelos pardos forestales han sido estudiados por pirolisis y análisis térmico diferencia por ORLOV et al. (1968). Características termogravimétricas y parámetros cinéticos de la destrucción térmica de ácidos húmicos de suelos de Moldavia

fueron estudiadas por DUBIN (1970).

El efecto del grado de neutralización de un compuesto húmico sobre su comportamiento térmico fue estudiado por JUSTE y DELA (1969), quienes encontraron que preparaciones de ácidos húmicos de un podsol, en distintas condiciones de pH, con y sin adición de  $\text{Cl}_3\text{Fe}$ , cuando se descomponen por calentamiento hasta  $250^\circ\text{C}$  experimentan descarboxilación y deshidratación, y en el caso de preparaciones a pH 1, además, formación entre 150 y  $200^\circ\text{C}$  de anhídridos ácidos muy insolubles. Por encima de  $250^\circ\text{C}$  se producen cetonas aromáticas estables en las preparaciones a pH 7, mientras que las ácidas (pH = 1) se descomponen completamente.

En sustancias húmicas de chernozem y suelo podsólico, estudiadas por análisis TG y ATD, espectro de infrarrojo y datos analíticos SHURYGINA et al. 1971 encuentran que estructuras aromáticas predominan en las fracciones de ácidos húmicos, en particular en las de chernozem y que estructuras alifáticas predominan en las fracciones de ácidos fúlvicos, sobre todo en los de suelo podsólico. Otras características estructurales y térmicas diferenciales de fracciones húmicas en diversos suelos han sido estudiadas por CHERNIKOV et al. (1973), NANITASHVILI et al. (1975), CHEBAYEVSKIY et al. (1976), PLICHTA (1975), KONCHITZ et al. (1977).

#### IV. DINAMICA DE LA MATERIA ORGANICA DEL SUELO

Los métodos anteriormente mencionados para extraer, fraccionar y caracterizar sustancias húmicas del suelo y otros procedimientos más sofisticados que la actual tecnología instrumental permite para estudiar sus estructuras y propiedades, son útiles para determinados objetivos relacionados con numerosos problemas de índole teórica y algunos pocos de carácter más práctico que presentan las fracciones humificadas de la materia orgánica de los suelos.

El estudio de la dinámica de la materia orgánica puede ser abordado con una metodología diferente cuando se intenta conocer más en concreto el estado y la evolución de aquella en relación con circunstancias que definen los distintos tipos de suelos y permiten diferentes usos de las tierras, en especial para diversos cultivos.

Respecto a la primera cuestión, la ecología de los suelos ha puesto especial énfasis en los llamados tipos de humus, mientras que en lo que atañe al uso de los suelos las investigaciones químicoagrícolas están más interesadas en contribuir a resolver el importantísimo problema que representa la nutrición de la población mundial. A este fin se requiere disponer de suelos con un estado de productividad óptima, y uno de los requisitos fundamentales para ello es armonizar el uso de los fertilizantes minerales con el correcto manejo de la materia orgánica del suelo.

FLAIG (1975) ha resumido recientemente la influencia del humus y de los constituyentes inorgánicos del suelo en la capacidad de producción de estos bajo condiciones climáticas constantes, indicando que un suelo franco limoso con humus suficiente presenta la composición más favorable para incrementar los rendimientos de cereales y cultivos como patatas, remolachas y similares. De acuerdo con los rendimientos obtenidos y con los datos sobre composición de los suelos, es evidente que la productividad de estos aumenta en función del contenido en humus, tanto en condiciones climáticas favorables como desfavorables. Sin embargo, no está claro todavía en que extensión la cantidad de humus o fracciones particulares del humus, o bien la calidad de ciertos constituyentes del mismo causan el aumento de cosechas. A este respecto, FLAIG (1975) menciona algunas investigaciones realizadas en los últimos años y se refiere a los efectos indirectos y directos de las sustancias orgánicas del suelo en conexión con la nutrición mineral de las plantas, retención de contaminantes y otras cuestiones del mayor interés, entre las que se puede destacar la participación de ácidos fenol carboxílicos de la materia orgánica del suelo como sustancias fisiológicamente activas (KONONOVA, 1966; STEVENSON, 1967; CARPENA, 1969).

SALFELD y SOCHTIG (1975, 1977) se han ocupado últimamente de la caracterización global de la materia orgánica del suelo por una vía que resulta útil para conocer su dinámica y contribuir al esclarecimiento de procesos que ocurren en los suelos durante la evolución de los mismos. En última instancia, un procedimiento de caracterización de la materia orgánica total debe ser instrumento útil para el correcto manejo de los suelos en orden a aumentar su productividad y prevenir el riesgo o disminuir la posible depresión en las cosechas por influencia de factores desfavorables, por ejemplo, climáticos, biológicos, etc.

Según los citados investigadores alemanes la dinámica del sistema de materia orgánica del suelo puede considerarse de dos tipos: dinámica en una dirección (tiempo largo) y dinámica cíclica (tiempo corto). La primera, bajo condiciones casi constantes de vegetación y clima camina en una dirección a un equilibrio; cambios en las condiciones durante la evolución conducen a un nuevo equilibrio. La segunda debe entenderse como dinámica sobrepuesta a la de tiempo largo, durante la fase del desarrollo de la vegetación, y depende de las condiciones climáticas del año. Traducidas estas dinámicas en términos de la evolución de los suelos, según criterios apuntados por KUBIENA (1944), la primera representaría una convergencia del sistema de la materia orgánica hacia un estadio de equilibrio representado por un tipo de humus; la segunda no sería más que ciertos cambios fenológicos o estacionales del sistema de la materia orgánica reflejados en algunos parámetros sensibles a las condiciones climáticas de un año particular.

SALFELD y SOCHTIG (1975), teniendo presente que la fase más interesante del metabolismo de la materia orgánica para la producción vegetal es la composición de la materia orgánica relacionada con la mineralización del ni-

trógeno, así como la importancia económica que tiene la inmovilización de éste por síntesis de sustancias orgánicas, establecen las condiciones óptimas del sistema de materia orgánica del suelo en relación con la producción vegetal del modo siguiente:

1°. La materia orgánica del suelo debe descomponerse y mineralizarse sólo cuando las plantas necesitan nitrógeno. 2°. El nitrógeno mineral aplicado al suelo debe combinarse con la materia orgánica si la planta no lo requiere. 3°. El nitrógeno debe combinarse con la materia orgánica sólo en una forma fácilmente mineralizable.

Estas condiciones dependen de equilibrios biológicos que pueden ser considerablemente influenciados por adición de materiales orgánicos o nitrógeno mineral en las representaciones adecuadas si se dispone del suficiente conocimiento del sistema de materia orgánica del suelo. Para estudiar la dependencia de estos equilibrios de las condiciones edafológicas, climáticas y de cultivo, los cambios en la composición química del sistema pueden ser usados como un indicador. Para ello, SALFELD y SOCHTIG (1975) desarrollan un esquema metodológico que amplía el propuesto por KONONOVA y BEL'CHIKOVA (1961) y en el que venían trabajando desde años anteriores (SALFELD, 1974; SOCHTIG y SALFELD, 1974; SALFELD, 1975).

El método lo aplican los autores recientemente con fines concretos y en orden a una evaluación general del mismo (SOCHTIG y SALFELD, 1977; SLAFELD y SOCHTIG, 1977). En la discusión de los resultados de una investigación de suelos de Rumanía indican de nuevo que el llamado sistema de materia orgánica del suelo (SMOS) implica o comprende el complejo total de materiales orgánicos de un suelo; como dinámica del sistema de materia orgánica del suelo debe entenderse el metabolismo del SMOS. Consideran, como ya se ha expuesto, dos tipos de dinámica, una a plazo largo -humificación-, y otra a plazo corto (dinámica cíclica). Los citados investigadores utilizan tres términos para describir la humificación: grado, tipo y tasa de humificación, y siguen un método de estudio de relaciones funcionales entre los parámetros analíticos y una interpretación de ellos en base a un modelo de la dinámica del humus. Los parámetros analíticos determinados dependen de los dos tipos de dinámica, si bien algunos están más directamente afectados por la de largo o corto plazo.

Para establecer el modelo del sistema y su evolución los autores asumen algunos criterios que son de interés tener presentes cuando se trata de interpretar los datos respecto de la dinámica en un sentido o hacia un equilibrio (plazo largo). Así, las diferencias en la composición de los sistemas de materia orgánica de suelos pueden estar motivadas por la naturaleza de los materiales de partida y también por diferencias en los estados de humificación. El estado de humificación depende de la tasa y tipo de humificación, y el modelo simple de dinámica presupone que existe siempre, para un suelo dado, el mismo aporte anual y la misma composición de material orgánico. De este modo resulta que el contenido en carbono orgánico de un suelo depen-

de de la tasa de degradación o humificación, y cuando se alcanza un equilibrio es independiente del tiempo. Con estos supuestos el contenido en carbono de un suelo debe ser una función inversa de la tasa y grado de humificación.

La extinción específica del extracto  $P_2O_7Na_4 + NaOH$  puede considerarse como una medida del grado de humificación, existiendo una relativamente rígida relación exponencial entre el contenido de carbono total del suelo y la extinción específica del mencionado extracto; cuando decrece el contenido en carbono la extinción específica aumenta. Otros parámetros aumentan con una humificación progresiva, y por ello pueden usarse también como medida para el grado de humificación. En resumen, los parámetros que aumentan con una humificación progresiva son los siguientes (SALFELD y SOCHTIG, 1977):

- A. *Extinción específica* del extracto pirofosfato sódico-hidróxido sódico (PNE).  $E_{500}/mg\ C$  por 10 ml.
- B. Relación carbono del extracto a carbono no extractado: *Extractabilidad*.  $C_{NPE}/(C_T - C_{NPE})$ .
- C. Relación de la fracción ácido húmico y fúlvico del extracto.  $C_{HNP}/(C_{NPE} - C_{HNP})$ .
- D. Relación Nitrógeno no hidrolizado-Nitrógeno hidrolizado. *Hidrolisabilidad del N*.  $(N_T - N_{HT}) / N_{HT}$ . Según SALFELD y SOCHTIG (1977), si la humificación es un proceso unívoco, estos parámetros deberían ser proporcionales unos a otros y mostrar por pares una correlación altamente significativa.

Los datos obtenidos al aplicar el método a suelos de Rumanía han sido discutidos en base a un modelo de dinámica del humus que permite visualizar un complejo grande de fenómenos concernientes a la materia orgánica en la naturaleza, y que demuestra la macroestructura del SMOS. Para problemas especiales, como por ejemplo la participación de la dinámica del humus en la producción vegetal, se requiere conocimiento acerca de la microestructura de este sistema, que permita refinar y diferenciar el modelo.

## V. MORFOLOGIA Y BIOLOGIA DEL HUMUS

En capítulos anteriores se ha mostrado en líneas generales aspectos fundamentalmente químicos de la formación, estructura y propiedades de las sustancias húmicas y se han mencionado algunas de sus funciones. A pesar del enfoque y contenido dados a los capítulos precedentes se ha tenido ocasión de indicar la extraordinaria importancia que la biología del suelo ejerce en el proceso global de la humificación, tanto en la descomposición de restos orgánicos (*mineralización*) como en la síntesis de sustancias húmicas (*humificación*).

El sistema de materia orgánica del suelo posee, como se ha expuesto, un metabolismo constante que implica cambios continuos de descomposición y nueva formación de constituyentes. Aunque la naturaleza de los procesos que tienen lugar es muy diversa, en último término son procesos biológicos y abiológicos con la particularidad de estar íntimamente conectados entre sí, por lo que es muy difícil la separación de unos y otros.

Conviene sin embargo tener presente que si bien son extraordinariamente complejos los sistemas de materia orgánica de los suelos y los metabolismos correspondientes, unos y otros forman parte, en la mayoría de los casos, de organizaciones que en sus formas, constituyentes y dinámica total son más complejas aún. Estas organizaciones están representadas por perfiles de los distintos tipos de suelos que constituyen el *continuum* del paisaje.

Los suelos forman parte esencial de la biosfera y se manifiestan con una gran multiplicidad de formas y gran variabilidad en su biología y dinámica. A pesar de ello es posible una sistemática natural en la que siguiendo criterios morfológicos y biológicos se establezcan tipos de suelos que representen unidades con todos sus componentes estrechamente relacionados. Se configuran así totalidades que no pueden comprenderse, desde el punto de vista de las Ciencias Naturales, por mera suma de todas sus partes y funciones. Hace años KUBIENA (1944), inspirado en el concepto de *tipovergencia* del biólogo Schultz, pensaba que el *tipo de suelo* representa también una forma viviente con actividad propia y autoconservación.

El estudio de los suelos como formaciones naturales comienza hace aproximadamente un siglo, cuando la investigación de la morfología de los perfiles en el campo recibe una especial atención. En esta línea hay que destacar los trabajos de DOKUCHAEV, SIBIRTSEV, HILGAR, RAMANN y otros, que permitieron el desarrollo de la Edafología como ciencia independiente.

Sin embargo, los principios morfológicos aplicados al estudio de los suelos no van muchos más allá de su empleo en el reconocimiento de la morfología de los perfiles hasta que KUBIENA (1938; 1944; 1953; 1964) hace uso de ellos en la investigación microscópica de las formaciones edáficas, teniendo presente, como GOETHE (1807) había indicado en sus escritos científicos, que morfología es la ciencia de las formas y de las formaciones naturales en general, incluyendo las causas y las leyes de su génesis.

En el caso concreto de los horizontes humíferos era de esperar que el principio de la no perturbación y el de la investigación funcional dieran resultados satisfactorios en la doctrina morfológica del humus, iniciada de manera afortunada por MULLER (1887) y ampliamente desarrollada por KUBIENA (1953).

El humus se presenta bien definido sobre todo en los suelos no modificados por el hombre. Su clasificación se basa ante todo en la morfología de los horizontes humíferos, que como indica DUCHAFOUR (1975) resulta de los dos procesos fundamentales (mineralización y humificación) de la evolución de la materia orgánica. La naturaleza de los productos formados y su grado

o modo de unión con la materia mineral, que condiciona la macro y microestructura, son también elementos importantes en esta clasificación.

A la actividad microbiológica como base general de los dos procesos mencionados de la evolución de los restos orgánicos, hay que añadir la no menos importante actividad animal (KUBIENA, 1953, 1964; KUHNELT, 1957; BACHELIER, 1973) y la influencia muchas veces decisiva de otros factores del medio, tales como condiciones microclimáticas de la evolución, en especial las de aireación y humedad. La naturaleza de los materiales de partida, y en general la acción conjunta de todos los factores, conduce a la diferenciación de tipo ó formas de humus bien definidos morfológica y biológicamente. La caracterización completa de los tipos de humus presenta un interés científico y práctico extraordinario en numerosos aspectos de programas biológicos y agrícolas.

Desde el punto de vista morfológico las formaciones húmicas terrestres fueron clasificadas por MULLER (1887) en tres formas o tipos de humus, posteriormente denominadas por KUBIENA (1953) mull, moder y humus bruto (mor). Otras formas de humus subacuáticas y semiterrestres, primeramente descritas por VON POST en 1862, fueron estudiadas también por KUBIENA desde el punto de vista micromorfológico (BABEL, 1975).

Para KUBIENA (1953) la "designación de forma de humus se refiere siempre a la formación húmica como un todo, es decir, no solo determinadas características químicas o físicas, sino todo un determinado perfil, con todos sus horizontes, su textura íntima así como la totalidad de vida en él existente".

En una simplificación de la morfología de los horizontes humíferos, estos se pueden reducir a:  $A_0$ , horizonte orgánico superpuesto al suelo mineral, con restos vegetales incompletamente descompuestos y que conservan estructura aún organizadas; y  $A_1$ , horizonte al mismo tiempo mineral y orgánico, de aspecto distinto según los tipos de humus y que resulta de la llamada "incorporación" de la materia mineral a la materia orgánica transformada por la actividad biológica (DUCHAUFOR, 1975).

Sin embargo, la nomenclatura y designación de horizontes humíferos, así como los conceptos de forma de humus, tipo de humus, perfil húmico y otros, aparecen con cierta confusión en la bibliografía de la materia orgánica del suelo (BAL, 1973; BABEL, 1975; DUCHAUFOR, 1975; IWGSM, 1978). En general, la capa u horizonte de humus pobre en minerales, superpuesta al suelo mineral, con delimitación clara o nítida y con escasa descomposición y humificación se llama horizonte  $A_0$ , como más arriba se ha expuesto. Este horizonte no debe confundirse con el horizonte de hojarasca (Föma) de los perfiles forestales, que según la nomenclatura de la escuela alemana es un horizonte  $A_{00}$  (KUBIENA, 1953).

Las formas de humus pueden tener horizontes o capas distintas, en especial el perfil húmico de ciertos humus terrestres (humus bruto y moder). Los horizontes de estos perfiles húmicos reflejan las distintas fases ó estadios de

la transformación de los restos orgánicos, que pueden seguirse con relativa facilidad mediante la investigación microscópica, sobre todo en las formas de humus terrestres de acumulación superficial. En estas el análisis de los constituyentes revela cambios importantes cuando aumenta la profundidad. En los residuos vegetales se forman primeramente cantidades crecientes de sustancias pardas de neoformación, al mismo tiempo que ciertas estructuras se transforman y se pierden gradualmente por el proceso conjunto de biodegradación y humificación (KUBIENA, 1944; KONONOVA, 1966; BABEL, 1975).

Cuando el horizonte  $A_0$  es relativamente espeso y está bien diferenciado pueden reconocerse en el perfil de humus al menos tres capas u horizontes, descritas por HESSELMANN (KUBIENA, 1953; BABEL, 1975). Estas capas se denominan: *Capa L* (Förna; ingles, *litter*; frances, *litière*), que en realidad es hojarasca y restos de plantas superiores que forman depósito más o menos suelto sobre el suelo y que todavía no están modificados morfológicamente o que presentan solo pequeños cambios. *Capa F* (del sueco *Förmultningsskiktet*, o capa de fermentación, *fermentation layer*), en la que se aprecian residuos vegetales más o menos desintegrados por desmenuzamiento, descomposición y humificación de los restos orgánicos, con lo que resulta un incremento considerable de sustancias orgánicas finas. A continuación se encuentra la *Capa H* (sueco *humusomneskiktet*, o capa de sustancias húmicas), zona de mayor descomposición y humificación en la que quedan pocos restos vegetales reconocibles y predominan las sustancias húmicas más o menos mezcladas o combinadas con compuestos minerales del suelo. Debajo de esta capa se encuentra un horizonte mineral y orgánico, el horizonte Ah o  $A_1$  anteriormente mencionado (KUBIENA, 1953; BABEL, 1975).

BABEL (1971; 1972) ha propuesto en base a la relación residuos vegetales/sustancias finas las siguientes subdivisiones en el perfil húmico: *Ln* (n = nueva); *Lv* (v = *verändert*, alterada); *Fr* (r = residuo vegetal); *Fm* (m = relación media residuos vegetales/sustancias finas); *Hf* (f = sustancias finas); *Ahh* (rico en humus); *Ahu* (parte de Ah debajo de Ahh).

Algunas características o criterios morfológicos fundamentales de los principales tipos de humus terrestres y de anaerobiosis se pueden resumir del modo siguiente (DUCHAUFOR, 1975):

*Mor.* Incorporación nula o muy pequeña de la materia orgánica a la materia mineral;  $A_0$  muy nítido y espeso. Transformación muy débil de restos vegetales efectuada sobre todo por hongos, especialmente mixomicetos.

*Moder.* Incorporación incompleta de la materia orgánica y mineral; separación poco clara entre  $A_0$  y Ah, sin formación de complejos arcillo-húmicos. Transformación biológica fuerte bajo la influencia de artrópodos asociados a hongos y bacterias.

*Mull.* Incorporación total con formación de complejos arcillo-húmicos; ausencia de  $A_0$ . Transformación biológica intensa bajo la influencia de lombrices asociadas con bacterias.

*Turba*. Estructura fibrosa; incorporación nula o muy pequeña de materia orgánica y mineral. Débil transformación bioquímica.

*Anmoor*. Estructura masiva; incorporación efectiva en los 10-20 cm. superiores de la materia orgánica y mineral. Transformación bioquímica y humificación fuerte por la acción alterna de organismos aerobios y anaerobios.

Una mayor caracterización de estos tipos de humus, así como la de diversos subtipos y variedades descritos en la bibliografía, exige el uso de diversos parámetros o valores físicos, químicos, fisicoquímicos, biológicos, etc. Finalmente, formas o tipos de humus subacuáticas, como *Dy*, *Gyttja* y *Sapropel* recibieron especial atención en estudio de VAN POST, KUBIENA y otros (KUBIENA, 1953; BABEL, 1975). En la actualidad, la investigación de sustancias húmicas en ambientes acuáticos son objeto de estudios especiales (CHAU y LUM-SHU-CHAN, 1975; HAAN, 1975; PENNANEN, 1975; PRAKASH, et.al. 1975; y otros artículos en POVOLEDO y GOLTERMAN, 1975).

Si bien el estudio macromorfológico de los horizontes humíferos tiene una gran importancia para el reconocimiento de los suelos, la investigación de secciones delgadas y el estudio en campo de la biología microscópica de aquellos permiten, según KUBIENA (1964), un análisis mucho más detallado y una más exacta distinción y determinación de las formas de humus que los métodos convencionales iniciados con los estudios de MULLER.

La investigación del humus ha recibido una serie de nuevos y decisivos impulsos con los estudios micromorfológicos, que siguen el criterio de selección de *características esenciales* y que presentan estas con particular énfasis frente a la abundancia o frecuencia de otras. Estas características se encuentran por investigaciones continuas comparativas de una multiplicidad de suelos, siguiendo el principio de la *diagnosis diferencial* (KUBIENA, 1944; 1964).

Los análisis micromorfológicos han establecido que en todas las formas de humus biológicamente activas la fauna del suelo representa no solo el acompañante sino el *agente decisivo* de la descomposición y humificación. Es casi siempre fácil de distinguir micromorfológicamente humus coprógeno y no coprógeno. En general el reconocimiento de las formas de deyecciones permite mostrar el papel de determinados grupos de animales en la descomposición de residuos de organismos. Con mucho, en la parte coprógena del humus domina una mejor descomposición y humificación de los restos orgánicos; hasta tal punto es así que no se conciben formas de humus precisas sin la peculiar participación de la fauna del suelo en su génesis. Así mismo, la fauna del suelo es enteramente responsable de la mezcla e incorporación de las sustancias orgánicas con los componentes inorgánicos. Por otro lado, los estudios microscópicos permiten mostrar con detalle el papel de la fauna del suelo en la formación del humus, pudiéndose establecer la sucesión de

diferentes animales y sus efectos en la descomposición, sobre todo cuando se combinan los estudios *in situ* y en vivo con los de secciones delgadas de los horizontes superiores. También el método micromorfológico permite conocer la biología y efectividad de los hongos y actinomicetos del suelo. Un detalle interesante a tener presente es que las preparaciones microscópicas de restos y las secciones delgadas permiten la investigación directa de los productos de descomposición y de las sustancias húmicas en las formas de humus sin la extracción y aplicación de solventes, haciendo uso para ciertas determinaciones de reacciones de tinción, tests microquímicos o métodos microópticos, etc. Puesto que existe una conexión entre las estructuras y composiciones conservadas u originales y las sucesivas etapas de degradación, las investigaciones continuas comparativas permiten conocer el origen de los productos de la descomposición y seguir la secuencia genética de aquellas transformaciones. Por último, un aspecto interesante de las investigaciones micromorfológicas es que han puesto de manifiesto no sólo la importancia de la fauna del suelo en la humificación sino también su papel en la formación de estructuras de agregados y en la formación de espacios, huecos o cavidades (KUBIENA, 1944; 1953; 1964).

Recientemente BABEL (1975) ha expuesto las características micromorfológicas de las formaciones de humus más importantes, tanto subacuáticas como semiterrestres y terrestres, cuyos tipos principales se han mencionado con anterioridad.

Con respecto a las formaciones terrestres conviene tener presente que en la literatura inglesa y americana tanto el humus bruto como el moder se agrupan en la formación de humus mor, fundamentalmente porque desde el punto de vista macromorfológico ambas formaciones (humus bruto y moder) muestran la secuencia característica de horizontes *L*, *F* y *H*. No obstante, el desarrollo relativo de estas capas y algunos aspectos cuantitativos y cualitativos de la biología del perfil húmico permiten diferenciar bien ambas formas de humus (KUBIENA, 1953; BABEL, 1975), en un plano eminentemente morfológico.

Como propiedades comunes a las capas típicas del humus bruto y moder pueden resaltarse, siguiendo a BABEL (1975), las siguientes: la capa *L* está formada por una acumulación de restos vegetales, fundamentalmente hojas o acículas que muestran a simple vista pequeños cambios morfológicos, apreciándose, no obstante, como característica general cierto empardecimiento. A nivel microscópico se observa que los tejidos parenquimatosos están empardecidos y que los restantes prácticamente no muestran modificación. En las superficies de las hojas son comunes ciertas acumulaciones o depósitos de color oscuro a opaco con *low transmittance* que son *frass* corresponden a deyecciones de colembolos y enquitreidos, sobre todo en la parte inferior de la capa *L*.

La capa *F*, de descomposición o fermentación, además de contener restos de hojas o acículas en distintos estados de alteración, presentan también

residuos de raíces muy finas; se pueden reconocer microscópicamente en la parte superior de esta capa algunos tejidos, aunque en general las estructuras se encuentran muy modificadas, tanto la de los parenquimatosos como la de tejidos lignificados. Sin duda alguna estos son indicios de actividad microbológica y de la fauna del suelo en la degradación de los restos orgánicos. Como "huellas" de los animalitos activos quedan deyecciones de enquitreidos en humus bruto y de muchos otros animales en el caso de moder. Así mismo, en esta capa se encuentran hifas de hongos de paredes recias y color pardo oscuro, que crecen frecuentemente en la superficie de los restos de hojas, pero que también pueden encontrarse en forma de pequeños fragmentos o bien constituyendo una capa oscura de micorriza, en la que casi todas las raicillas han desaparecido. Deyecciones y residuos de deyecciones aumentan hacia la parte baja de esta capa de descomposición, si no son utilizadas por otros animales.

La *capa H*, de humus, de color pardo muy oscuro a casi negro solo presenta con carácter muy aislado algunos restos vegetales, sobre todo de raicillas muy finas, con fuertes señales de melanización y antraconización. Las sustancias finas, más oscuras que en el horizonte F, no son homogéneas cuando se examinan con fuertes aumentos y muestran fragmentos de paredes celulares incluidos en la masa. En algunos casos, abundantes restos de esclerocios de hongos constituyen una parte importante de los elementos de la contextura (fase esclerocial). El horizonte Ah es de color gris o pardo muy oscuro; los constituyentes orgánicos son muy similares a los del horizonte H en el caso de suelos de textura arenosa.

En cuanto a la contextura de estas capas u horizontes, aparte de la que obviamente presenta la *capa L*, la de F está formada por restos vegetales que constituyen los granos del esqueleto orgánico, mientras que las sustancias finas forman la masa basal, dispuesta según los casos como agregados pequeños más o menos sueltos, o en masas más o menos sueltas o densas entre los granos del esqueleto. Por lo general en H la contextura es más o menos densa, con grietas o fisuras, formada por sustancias finas; en otros casos es una contextura de deyecciones. Por último, el horizonte Ah mineral orgánico tiene casi siempre contextura aglomerada (BABEL, 1975).

Desde el punto de vista morfológico una diferencia importante entre humus bruto y moder es el gran espesor del horizonte F en el primero, con predominio de la parte superior. En F<sub>1</sub> las raíces finas y sus productos de alteración, así como materiales procedentes de la *capa H* de una vegetación pobre en nitrógeno y en bases desempeñan un papel importante junto con la actividad más o menos intensa de hongos descomponedores de tejidos vegetales, que se ponen de manifiesto por la presencia común de hifas de color pardo en la sustancia fina (BABEL, 1975).

Según KUBIENA (1953), la formación de humus bruto se produce en gran medida por el desarrollo de plantas ricas en fibras brutas, que no son utilizadas directamente por animales pequeños del suelo y que además con-

tienen casi siempre sustancias que entorpecen la descomposición por microorganismos vegetales. Dichas plantas son poco exigentes y su gran crecimiento elimina otras plantas superiores; entre ellas las más características de este tipo de formación húmica son *Calluna vulgaris*, especies de *Erica*, *Rhododendron ferrugineum*, *Empetrum nigrum* y árboles con hojas aciculares, como *Pinus silvestris*, *Picea excelsa*, *Pinus montana* y cembros.

Característica de esta formación húmica es la escasa proporción de deyecciones en general, excepto en el horizonte H de la variedad denominada por VATER, en 1909, Auflagetorf. En este caso el humus se compone de un fieltro denso de restos vegetales, compacto y fácilmente cortable; los restos vegetales están poco descompuestos y entre ellos aparecen masas húmicas coprógenas, más o menos conservadas, que proporcionan solidez a la formación (KUBIENA, 1953).

Según KUHNELT (1957), en el caso de humus bruto la descomposición de la hojarasca sigue un camino particular; se favorece el desarrollo de hongos y la fauna del suelo no consigue dominar los restos vegetales, bien porque las condiciones no sean favorables, bien porque el aporte de restos es excesivo.

Ciertos colembolos, como *Neelus minutus* y algunos esmintúridos aparecen en grandes cantidades cuando las condiciones son favorables. En las partes profundas de la capa L los ratones del bosque (*Apodemus silvaticus* y *flavicollis*) cavan galerías -que favorecen la aireación y desecación de las hojas-, en cuyas paredes crecen muchos hongos. Con el desarrollo de estos decrece el número de ácaros, en especial oribátidos (KUHNELT, 1957), predominando entre los microanimales los colémbolos.

La disminución de la fauna edáfica normal determina que los restos descompuestos no pasen al suelo; las sustancias húmicas (agros filtrantes pardas) se lavan por las lluvias e intervienen muy efectivamente en la descomposición y arrastre de sustancias minerales peptizadas y en la formación de un horizonte blanquecino, integrado fundamentalmente por granos minerales limpios (KUBIENA, 1953; KUHNELT, 1957; BABEL, 1975).

En el moder típico (moder de silicato), según KUBIENA (1953) las tres capas, L, F y H, presentan aproximadamente el mismo espesor. Como resultado de una dinámica particular, tiene lugar una humificación amplia, aunque no completa, de los restos orgánicos; se forma un humus que se diferencia claramente tanto del humus bruto como del mull. No obstante, a menudo las capas L y F disminuyen marcadamente respecto a la capa H (BABEL, 1975).

El moder se diferencia también del humus bruto porque en este solo se encuentran una pequeña cantidad de excrementos de animalitos, en especial de ácaros, mientras que en el moder los elementos coprógenos constituyen la parte esencial; proceden no solo de ácaros e insectos, sino de un número elevado de pequeños animales del suelo, sobre todo de oribátidos y colembolos (KUBIENA, 1953), y también de enquitreidos, pequeñas lombrices de

tierra, (como *Lumbricus rubellus*) y larvas de insectos que mezclan íntimamente materia orgánica y mineral (BABEL, 1975).

Respecto a la frecuencia de esta formación húmica, puede indicarse que es mucho más común que el humus bruto. Por otro lado es interesante mencionar que existe un gran número de variedades de moder de silicatos (BABEL, 1975; IWGSM, 1978), las formaciones húmicas más representativas de los bosques de regiones templadas.

KUBIENA (1953) concede gran importancia para el diagnóstico del suelo a la diferenciación de moder grueso y moder fino como subformas. El primero contiene muchos restos vegetales, los constituyentes gruesos entran en mayor proporción y se aproxima al humus bruto; en el moder fino, por el contrario, predomina la parte coprógena, e incluso puede constituir la parte esencial.

Si bien, como se ha indicado con anterioridad, ha sido posible establecer, fundamentalmente por métodos micromorfológicos, numerosas formas y variedades de humus, de entre las terrestres el mull es sin duda una de las más importantes, ya que caracteriza a los suelos ricos en nutrientes con una alta actividad biológica.

En efecto, el mull sólo se forma en los lugares más favorables, con clima del suelo templado hasta caliente, sobre sustratos ricos en materias nutritivas y en arcillas, con una humedad y aireamiento equilibrados, y bajo una cubierta de plantas que proporcionan un residuo valioso fácilmente descomponible (KUBIENA, 1953).

Bajo bosque la formación de mull presenta a veces una delgada capa F debajo de la L; sin embargo, siempre falta una capa H (BABEL, 1975).

En general, la apariencia más frecuente del humus mull es la de un suelo mineral coloreado por sustancias húmicas muy finas, de color gris, gris-oscuro, gris-parduzco hasta negruzco, con buenos grumos y buena plasticidad (KUBIENA, 1953).

La textura del horizonte mineral orgánico es de esponja en las formaciones ecológicamente más favorables; es muy suelta en la superficie y presenta agregados grumosos, unidos unos con otros, determinando secciones con contornos amamillados. En las partes más profundas del horizonte A<sub>1</sub> (horizonte A<sub>1</sub>) puede aparecer una textura coherente, más o menos dividida por fisuras (BABEL, 1975). KUHNEL (1957) ha descrito con cierto detalle la participación de la biología del suelo en la formación del mull, referida a los yacimientos de bosques centroeuropeos de hayas o roble-ojaraño. Las hojas secas recién caídas en otoño pueden utilizarlas pocos animales; de vez en cuando se encuentran cochinillas (*Armadillium*), dipópodos (*Glomeris*), orugas (*Syntomis phegea*) y curculionidos (*Rhynchaenus fagi*) mordisqueando las hojas recién caídas.

Las lluvias otoñales forman una delgada capa o película de agua entre las hojas, que se ablandan más en los sitios previamente mordisqueados. A continuación numerosos microorganismos enquistados salen de su letargo y co-

mienzan una vida activa; también se desarrolla una extensa vida bacteriana, y de algas azules y verdes. En las láminas de agua que se forman se encuentran flagelados incoloros (*Bodo*, *Monas*) amebas desnudas, Ciliados holótricos e hipótricos, nematodos (*Plectus*, *Dorilaimus*) y rotíferos. Esta especial "fauna acuática de las hojas caídas" se desarrolla mucho donde las babosas (*Amalia marginata*, *Arion subfuscus*) depositan sus deyecciones.

A pesar de ello, dice KUHNELT, la influencia de las biocenosis citadas en la descomposición de la hojarasca es escasa y se interrumpe muchas veces por desecación; los citados organismos se aletargan con las heladas y con el deshielo recobran su actividad.

La fusión de la nieve determina un nuevo humedecimiento de los restos vegetales al mismo tiempo que obliga a los animales que invernán en las capas más profundas a aparecer en la superficie, como es el caso de ácaros y colémbolos. Muchos de estos animales son capaces de atacar directamente las hojas caídas. Algunas especies de oribátidos (*Pelops*), con sus quelíferos extraordinariamente largos, provistos de una pequeña pinza final, cortan las epidermis foliar inferior a lo largo de los nervios y sacan el parénquima foliar. Los *Liacarus xylariae* se comen incluso los pelitos de la superficie de la hoja y la epidermis foliar. Muchos Ptiracáridos hacen agujeros redondos del tamaño de su cuerpo en las hojas y en las agujas. Entre los *Trombidiformes*, los eritreídos pueden atacar la hoja seca haciendo agujeros como alfilerazos. Por el contrario los *Troctes silvarum*, que aparecen muy a menudo en depósitos de hojarasca y de hojas aciculares secas, parece que toman principalmente restos de algas y líquenes. Los colémbolos (*Tomacerus plumbeus*, *Sira platani* y especies de *Entomobrya* y *Orchesella*) toman parte en la descomposición de hojas secas.

De los animales del suelo un poco mayores KUHNELT cita isópodos, Polidésidos, Julidos y numerosas orugas y larvas de escarabajo.

En el verano, con la sequía de la hojarasca disminuye la actividad de los animales, que se ven obligados a migraciones verticales periódicas, interrumpidas casi totalmente en días muy húmedos. Con estos desplazamientos y otros laterales en busca de sitios más húmedos, las deyecciones se esparcen entre las capas de hojas, o son transportadas al interior de las galerías y cavidades del suelo.

Cuando la capa de hojarasca se humedece por la lluvia, en las deyecciones de los primeros transformadores que están entre las hojas se desarrolla una intensa vida de microorganismos, entre los que predominan bacterias que no forman esporas y a las que se añaden actinomicetos y tecamebas. Las hojas fuertemente humedecidas y reblandecidas pueden ser tomadas por otros animales distintos a los primeros transformadores, lo cual viene a ocurrir un año después de la caída de la hoja (KUHNELT, 1957).

Entre la capa de hojas más o menos alteradas se desplazan algunas especies de lombrices (*Lumbricus rubellus* y *Dendrobaena octaedra*) acompañadas de enchitreídos y larvas de dípteros, como Sciaridos y Bibiónidos, que

desarrollan una transformación importante.

Las deyecciones de los primeros descomponedores, que contienen materia orgánica relativamente poco transformada, sirven a su vez de sustrato para otros animales y microorganismos. En un proceso de humificación más intenso intervienen algunos enchytreidos y lombrices que se alimentan de material ya descompuesto, por ejemplo *Allobophora caliginosa*, *Eisenia rosea*, *Octolasion cyaneum* y larvas de tipúlidos y de escarabajos. En las deyecciones de microanimales se encuentran colémbolos (*Onychiuridae*, *Hypogastrura*, *Friesea* (KUHNELT, 1957).

De este modo, la materia orgánica vuelve a ser ingerida por otros organismos vivos, se mezcla con otro material y vuelve a ser depuesta. Por otro lado, se ha podido comprobar que la actividad de las bacterias aumenta extraordinariamente al pasar por el intestino de los animales. En todo este proceso se añaden constantemente sustancias nitrogenadas, productos de los microanimales muertos que de esta manera vuelven rápidamente al suelo, y participan también en la formación de sustancias húmicas (BACHELIER, 1973).

Es bien sabido que numerosos animales del suelo están íntimamente asociados con bacterias, que viven simbiosis en el tracto digestivo. En el intestino de larvas de *Potosia cuprea* existen bacterias celulolíticas; la larva de *Penthetria holosericea* (díptero) tiene bacterias.

En cambio, es muy interesante destacar que los hongos apenas toman parte en la forma de descomposición descrita, aunque existen en abundancia y aparecen ya en la primera fase de descomposición de hojas en incubación. Parece estar demostrado que los animales inhiben constantemente los hongos e impiden la formación de gonidios. El mecanismo puede ser que los microanimales toman los productos de desintegración producidos por la actividad bacteriana (en especial el azúcar procedente de la hidrólisis de la celulosa) y eliminan de esta manera el alimento a los hongos. Otro mecanismo directo es la destrucción de las hifas de hongos en la alimentación de los animalitos. Kühnelt indica que se ha podido observar directamente que muchos colémbolos (*Isotómidos*, *Onychiuridos*) se alimentan de los céspedes de hongos, y algunos oribátidos, como *Liacurus xylariae*, se comen las hojas surcadas de hifas y hasta las hifas mismas de los hongos.

Con la labor conjunta de todos estos fungívoros, que existen en número relativamente elevado en los medios biológicamente activos, la descomposición se dirige hacia la formación de mull. Es indispensable, dice KUHNELT (1957), que especialmente los colémbolos detengan el desarrollo de los hongos.

Es evidente, pues, que la materia orgánica del suelo no puede ser bien conocida si su estudio se limita a aspectos exclusivamente químicos o morfológicos y biológicos. KUBIENA resumía constantemente su posición ante este problema admitiendo que la investigación completa del humus ha de referirse a sustancias y formas.

He dicho.

## REFERENCIAS

Este trabajo se realizó en el marco de un convenio de colaboración entre el Instituto de Investigaciones Científicas y Tecnológicas y el Departamento de Física de la Universidad de Chile, con el apoyo de la Comisión Nacional de Investigación Científica y Tecnológica.

- ALLISON, F.E., 1973.- Soil organic matter and its role in crop production. Elsevier. Amsterdam.
- BABEL, U., 1971.- Gliederung und Beschreibung des Humusprofils in mitteleuropäischen Wäldern. *Geoderma*, 5, 297-324.
- BABEL, U., 1972.- Moderprofile in Wäldern. Morphologie und Umsetzungsprozesse. *Hohenheimer Arbeiten*. 60. Stuttgart.
- BABEL, U., 1975.- Micromorphology of Soil Organic Matter. En: *Soil Components*. Vol. 1. Organic components. J.E. Gieseking (ed). Springer-Verlag.
- BACHELIER, G., 1973.- Etude expérimentale de l'action des animaux sur l'humification des matériaux végétaux. L. *Trav. et Doc. O.R.S.T.O.M.* n° 30. París.
- BAL, L., 1973.- Micromorphological Analysis of soil. *Tesis Doctoral*. State Univ. Utrecht.
- BEIJERINCK, M.W., 1900.- *Zentralblatt für Bakteriologie*, II, 6, 2.
- BELLINFANTE, M.; FERNANDEZ, P. y PANEQUE, G., 1977, a.- Micromorfología de la materia orgánica de suelos de Sierra Morena (España). Comunicaciones. *The Fifth Int. W. M. Soil Microm.* Granada.
- BELLINFANTE, N.; CORRAL, L.; MARQUEZ, M. y PANEQUE, G., 1977, b.- Estudio micromorfológico de suelos de la Sierra del Pinar (Cádiz). Comunicaciones. *The Fifth Int. W. M. Soil Microm.* Granada.
- BONDIETTI, E.; MARTIN, J.P. y HAIDER, K., 1972.- Stabilization of amino sugar units in humic-type polymers. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.* 36, 311-315.
- BOUSSINGAULT, J., 1841.- *Ann. Phys.*, (3) 1, 203.
- BREMNER, J.M.; MANN, P.J.G.; HEINTZE, S.G. y LEES, H., 1946.- Metallo-organic complexes in soil. *Nature*, 158, 790-791.
- BREMNER, J.M. y LEES, H., 1949.- Studies on soil organic matter. Part 2. The extraction of organic carbon and nitrogen from soil. *J. Agric. Sci.* 39, 274-282.
- CARPENA, O., 1969.- Estado actual de la química de las sustancias húmicas. *Publ. Univ. Murcia*. 1-43.

- CHAU, Y. K. y LUM-CHUE-CHAN, K., 1975.- Measurement of complexing capacity of lake waters; extended abstract. 11-12. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman (Edits). Pudoc. Wageningen.
- CHEBAYEVSKIY, A. I.; TYEV, N.A., 1976.- Isothermal destrucción of humic acids, *Soviet Soil Science*, 8 (1), 35-41.
- CHERNIKOV, V.A. y KONCHITS, V.A., 1973.- Thermoanalytical data for the fulvic compounds of some soil types. *Izvestiya Timiryazevski Sel'skokhozyaistvennoi Akad.* N° 1, 101-103.
- CORRAL, L., 1978.- Estudio Edafológico de la Sierra del Pinar (Grazalema, Cádiz). *Tesis Doct.* F. de Ciencias. Córdoba.
- DUBIN, V.N., 1970.- Thermo-gravimetric characteristics and kinetic parameters of the thermal destruction of humus acids of the main soil types of Moldavia. *Pochvovedenie* N° 9, 70-86.
- DUCHAUFOR, Ph., 1975.- Manual de Edafología. Toray-Masson, S.A. Barcelona.
- DUCHAUFOR, Ph., y JACQUIN, F., 1963.- Recherche d'une méthode d'extraction et de fractionnement des composés humiques contrôlée par l'électrophorèse. *Ann. Agrom.* 14 (6), 885-918.
- FILIP, Z.; HAIDER, K.; BEUTELSPACHER, H.; MARTIN, J.P., 1974.- Comparisons of IR-spectra from melanins of microscopic soil fungi, humic acids and model phenol polymers. *Geoderm.* 11 (1), 37-52.
- FISCHER, F., y SCHRADER, H., 1921.- Über die Entstehung und die chemische Structur der Kohle. *Brennstoffchem.* 2, 37.
- FISCHER, F. y SCHRADER, H., 1932.- Neue Beiträge zur Entstehung und chemischen Structur der Kohle. *Brennstoffchem.* 3, 65-72.
- FLAIG, W., 1971.- Organic compounds in soil. *Soil Sci.* 111 (1), 19-33.
- FLAIG, W., 1973.- Contributions of soil organic matter to production potential of soils and some proposals for practical application. *Vorträge New Dehli* (Cicl.).
- FLAIG, W., 1975.- An introductory review on humic substances: aspects of research on their genesis, their physical and chemical properties, and their effect on organisms. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman. (Edts). 19-42. Pudoc. Wageningen.

- FLAIG, W.; BEUTELSPACHER, H., y RIETZ, E., 1975.- Chemical Composition and Physical Properties of Humic Substances. En: *Soil Components*. Vol. 1. Organic components. J.E. Giesecking (Ed). 1-211. Springer-Verlag.
- GIESEKING, J.E., 1975.- *Soil Components*. Vol. 1. Organic Components. Springer-Verlag.
- GOETHE, J.W., 1807.- Einleitung zur "Metamorphose der Pflanzen", Jena.
- GONZALEZ VILA, F.J., 1974.- Estudio comparativo de ácidos húmicos de vertisol extraídos con dos agentes alcalinos. *Tesis Doct.* F. de Ciencias. Univ. Sevilla.
- HAAN, J., 1975.- On the determination of soluble humic substances in fresh water; discussion. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman (Edts). Pudoc. Wageningen.
- HAIDER, K.; LIM, S. y FLAIG, W., 1962.- *Landw.Forschung* 15, 3/4, 1-9.
- HAIDER, K.; LIM, S. y FLAIG, W.; 1964.- *Holzforsch.* 18, 81-88.
- HAIDER, K.; FREDERICK, L.R. y FLAIG, W., 1965.- Reactions between amino acid compounds and phenols during oxidation. *Plant and Soil*, XXII, 49-64.
- HAIDER, K. y MARTIN, J.P., 1967.- Synthesis and transformation of phenolic compounds by *Epicoccum nigrum* in relation to humic acid formation. *Proc. Soil Sci. Soc. Am.* 31 (6), 766-772.
- HAIDER, K. y MARTIN, J.P., 1970.- Humic acid-type phenolic polymers from *Aspergillus sydowi* culture medium. *Soil Biol. Biochem.* 2, 145-156.
- HAIDER, K.; MARTIN, J.P.; FILIP, Z. y FUSTEC-MATHON, E., 1975.- Contribution of soil microbes to the formation of humic compounds. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman (Edts). 71-85. Pudoc. Wageningen.
- ISHIWATARI, R., 1975.- Chemical nature of sedimentary humic acids. En: *Humic Substances*. 87-107. D. Povoledo y H.L. Golterman. (Edts). Pudoc. Wageningen.

- I.W.G.S.M., 1978.- I. Working Group on Soil Micromorphology, I. S.S.S. *Glossary of Micromorphological terms*. (En prensa). A. Jongerijs (Edt). Wageningen.
- JANSSON, S.L., 1975.- Role of humus formation and decomposition in the terrestrial nitrogen cycles. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman (Edts). 123-135. Pudoc. Wageningen.
- JENKINSON, D.S., 1966.- The turnover of organic matter in soil. En: Report of the FAO/IAEA Tech. Meet.: *The use of isotopes in soil organic matter studies*. 187-197. Pergamon Press.
- JENKINSON, D.S., 1975.- The turnover of organic matter in agricultural soils. *Report. Welsh Soils Disc. Gr.* 16, 91-105.
- JENKINSON, D.S. y RAYNER, J.H., 1977.- The turnover of soil organic matter in some of the Rothamsted classical experiments. *Soil Science* (1977) 123 (5) 298-305.
- JUSTE, C.; DELAS, J., 1969.- Effect of degree of neutralization of humic compound on its thermal behaviour. *Annls. Agron.* 20, 145-159.
- KODAMA, M., SCHNITZER, M., 1969.- Thermal analysis of a fulvic acid-montmorillonite complex. *Proc. 3<sup>rd</sup> int clay Conf.* 1, 765-774.
- KONCHITZ, V.A.; CHERNIKOV, V.A., 1977.- Differential thermogravimetric analysis of humic acids isolated by various methods. *Soils and Fert.* 40, n° 8 (4136), 412.
- KONONOVA, M.M., 1966.- Soil Organic Matter. Pergamon.
- KONONOVA, M.M. y BEL'CHIKOVA, N.P., 1961.- Rapid methods of determining the humus composition of mineral soils. *Pochvovedenie* 10, 75.
- KUBIENA, W.L., 1938.- Micropedology. Ames.
- KUBIENA, W.L., 1944.- Suelo y formación del suelo desde el punto de vista biológico. *C.S.I.C.* Madrid.
- KUBIENA, W.L., 1953.- Claves Sistemáticas de Suelos. *C.S.I.C.* Madrid.

- KUBIENA, W.L., 1964.- The role and mission of micromorphology and microscopic biology in modern soil science. En: Jongerius (Ed), *Soil Micromorphology*. Elsevier.
- KUHNELT, W., 1957.- Biología del Suelo. C.S.I.C. Madrid.
- LIEBIG, J. von, 1840.- Die Chemie in ihrer Anwendung auf Agrikultur und Physiologie. Braunschweig.
- MAILLARD, L.C., 1916.- Synthèse des matières humiques par action des acides aminés sur les sucres réducteurs. *Ann. Chim. Phys.* 9, 5, 258.
- MARTIN, J.P. y HAIDER, K., 1971.- Microbial activity in relation to soil humus formation. *Soil Science* 111, n° 1, 54-63.
- MARTIN, J.P.; HAIDER, K. y BONDIETTI, E., 1975.- Properties of model humic acids synthesized by phenoloxidase and autoxidation of phenols and other compounds formed by soil fungi. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman (Edts). 171-186. Pudoc. Wageningen.
- McLAREN, A.D. y PETERSON, G.H., 1967.- Soil Biochemistry. M. Dekker.
- MULDER, G.J., 1861.- Die Chemie der Ackerkrume. Berlin.
- MULLER, P.E. 1887.- Studien über die natürlichen Humusformen. Berlin. Springer.
- MUNTER, F. y KRAINSKY, A., 1914.- *Zentralblatt für Bacteriologie*, II, 41, 649.
- NANITASHVILI, A.P.; KONCHITS, V.A.; CHERNIKOV, V.A., 1975.- Thermographic characteristics of the humus acids of cinnamonic soils of Georgia. *Izvestiya Timiryazevskoi Sel'skokhozy.*
- ODEN, S., 1919.- Die Huminsäuren. *Kolloidchem. Beihefte*, 11, 75-260.
- OGNER, G., 1969.- Studies on the ether-extract from a raw-humus. *Acta chem. scand.* 23, 3217-3223.
- ORLOV, D.S.; DUBIN, U.N.; y EL'KINA, D.M., 1968.- Pyrolysis and differential thermal analysis of humus substances of soil. *Agrokimiya*, N° 1, 68-77.

- PENNANEN, V., 1975.- Humus fractions and their distribution in some lakes in Finland; discussion. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H. L. Golterman (Edts). 207-215. Pudoc. Wageningen.
- PIERCE, Jr R.H. y FELBECK, Jr G.T., 1975.- A comparison of three methods of extracting organic matter from soils and marine sediments. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman (Edts). 217-232. Pudoc. Wageningen.
- PLICHTA, W., 1975.- Energy characterization of forest soil humus by differential thermal analysis (DTA). *Polish Journal of Soil Science*, 8. (2), 137-146.
- POSPISIL, F.; DROZDOVA, D., 1967.- The optical characteristics of humic acids. *Ved. Pr. rusk. Ust. rastl. Vyrobi Praze-Ruzyni*, 11, 9-18.
- POVOLEDO, D., 1975.- Closing addres. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman (Edts). 361-368. Pudoc. Wageningen.
- POVOLEDO, D. y GOLTERMAN, H.L., 1975.- *Humic Substances*. Their structure and function in the biosphere. Pudoc. Wageningen.
- PRAKASH, A.; JENSEN, A. y RASHID, M.A., 1975.- Humic Substances and aquatic productivity; discussion. En: *HUMic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman. 259-268. Pudoc. Wageningen.
- RUSSELL, W., 1968.- Condiciones del suelo y crecimiento de las plantas. Aguilar.
- SALFELD, J. Chr., 1974.- Automatisierung chemisch-analytischer Bestimmungen an Huminstoffsystemen und ihre statistische Auswertung. *TELMA*. 4, 5. 235-254. Hannover.
- SALFELD, J. Chr., 1975.- Ultraviolet and visible absorption spectra of humic systems. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman. Pudoc. 269-280. Wageningen.
- SALFELD, J. Chr y SOCHTIG, H., 1975.- Proposals for the characterization of soil organic matter as an approach to understand its dynamics. *FAO Soils Bull. Ann.* 27, 71-81.
- SALFELD, J. Chr y SOCHTIG, H., 1977.- Composition of the soil organic matter system depending on soil type and land use. *I.A.E.A.S.M.* 211/24, 227-235. Vienna.

- SCHNITZER, M., 1975.- Chemical, spectroscopic, and thermal methods for the classification and characterization of humic substances. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman (Edts). 293-310. Pudoc. Wageningen.
- SCHREINER, O. y SHOREY, E.C., 1910.- Chemical nature of soil organic matter. U.S.D.A. *B Soils. Bull.* 74. 5-48.
- SERRA, J.M. y FELBECK Jr. G.T., 1975.- Fractionation and partial analysis of the "bound" lipid fraction of muck soil organic matter. En: *Humic Substances*. D. Povoledo y H.L. Golterman. 311-319. Pudoc. Wageningen.
- SHURYGINA, E.A.; LARINA, N.K.; CHUBAROVA, M.A., 1971.- Differential thermal analysis (DTA) and thermogravimetry (TG) of soil humus substance. *Geoderma*, 6 (3), 169-177.
- SKLODOWSKI, P., 1973.- Characteristics of absorption spectra in the infrared of humic acids separated from podzolic soils. *Polish Journal of Soil Science*, 6 (2) 117-123.
- SPRENGEL, C., 1837.- Die Bodenkunde oder die Lehre vom Boden. Leipzig.
- STANIER, R.Y. y INGRAHAN, J.L., 1954.- Protocatechuic oxidase. *J. Biol. Chem.* 210, 799-808.
- STEELINK, C. y TOLLIN, G., 1967.- Free Radicals in Soil. *Soil Biochemistry*. A.D. McLaren y G.H. Peterson (Edts). 147-169. M. DEKKER, N. Y.
- STEVENSON, F.J., 1967.- Organic Acids in Soil. 119-142. En: *Soil Biochemistry* A.D. McLaren y G.H. Peterson (Edts). DEKKER.
- STEVENSON, F.J. y GOH, K.M., 1972.- Infrared spectra of humic and fulvic acids and their methylated derivatives: evidence for non specificity of analytical methods for oxygen containing functional groups. *Soil Science*, 113, (5), 334-345.
- THENG, B.K.G.; POSNER, A.M., 1967.- Nature of the carbonyl groups in soil humic acid. *Soil Sci.* 104, 191-201.
- THOMPSON, S.O. y CHESTERS, G., 1970.- Infrared spectra and differential thermograms of lignin and soil humic materials saturated with different cations. *J. Soil Sci.* 21, 265-272.

## INDICE

I. INTRODUCCION	págs.
1. Principales etapas históricas de la Química del humus.....	3
2. Balance de la materia orgánica del suelo .....	7
II. BIOSINTESIS DE SUSTANCIAS HUMICAS	
1. Degradación y evolución de ligninas .....	8
2. Síntesis y transformación de fenoles por microorganismos .....	14
3. Participación de sustancias nitrogenadas .....	20
4. Resumen .....	25
III. EXTRACCION, FRACCIONAMIENTO Y CARACTERIZACION DE SUSTANCIAS HUMICAS	27
IV. DINAMICA DE LA MATERIA ORGANICA DEL SUELO	34
V. MORFOLOGIA Y BIOLOGIA DEL HUMUS	37
REFERENCIAS	49