

EXAMINACIONES	
Nº	AÑO
1	1963

INFORMES EFECTUADOS POR EL PERSONAL DEL SERVICIO DE LABORATORIOS

- KRONEGOLD DE BRODTKORB, MILKA (1961): *Informe mineralógico de muestras del yacimiento "Huemul"*. Para remitir a la firma Blaw-Knok.
- KRONEGOLD DE BRODTKORB, MILKA, y CHAAR, EDMUNDO (1959): *Estudio sobre los sedimentos del yacimiento "Rodolfo", Cosquín, provincia de Córdoba.*
- LATORRE, CARLOS O. (1957): *Algunas recomendaciones para la búsqueda de minerales de uranio.* Proyecto de folleto ilustrativo.
- LATORRE, CARLOS O. (1960): *Informe preliminar sobre las condiciones geológicas y mineralógicas de las manifestaciones cuprouraníferas de Rahue-có, departamento de Norquín, provincia de Neuquén.*
- LINARES, ENRIQUE (1957): *Contribución al conocimiento del yacimiento uranífero "La Estela", Villa Larca, departamento Chacabuco, San Luis.*
- LINARES, ENRIQUE (1956): *El yacimiento "Cerro Huemul", Malargüe, provincia de Mendoza.*
- LINARES, ENRIQUE, y TOUBES, ROBERTO O. (1960): *Tablas para la determinación de minerales de uranio y torio por medio de rayos X.* Compilación.
- PANDOLFI, C. L. DE; ABELEDO, M. E. J., y BENYACAR, M. A. R.: *Sobre un nuevo mineral de uranio.*
- PANDOLFI, CAROLINA E. DE (1957): *Informe sobre clasificación rocas zona de Rangel, Salta.*
- POLJAK, ROBERTO J. (1957): *Estudio de muestras del yacimiento de Rangel, Salta.*
- TIMONIERI, AMÉRICO J., y LINARES, ENRIQUE (1960): *Informe preliminar geológico-minero sobre el yacimiento "Rodolfo", sector sur, Cosquín, provincia de Córdoba.*
- TOUBES, ROBERTO O. (1959): *Estudio mineralógico y petrográfico sobre muestras coleccionadas en la zona de sierra Cuadrada, provincia de Chubut.*
- VALVANO, JORGE AURELIO (1959): *Información sobre el estudio microscópico de una muestra del yacimiento "Huemul".*
- VILLAR FABRE, JORGE; SANTOMERO, ANGEL M. O. y LUCERO, HUGO NÉSTOR (1958): *Los minerales de torio en la Argentina.*

EL USO DE RADIOISOTOPOS E ISOTOPOS ESTABLES EN MICROBIOLOGIA DE SUELOS

por el Ing. Agt. ANÍBAL H. MERZARI

Como bien lo establece A. G. NORMAN¹, la ciencia del suelo, que enraiza con la geología, es también una ciencia microbiológica por la intervención que les cabe a los microorganismos en la mayoría de los procesos que se estudian en la misma.

A título de ejemplo diremos que procesos microbiológicos influyen en la formación de los suelos, sobre la estructura de los mismos, la transformación de la materia orgánica y como parte principalísima intervienen en los ciclos de elementos que, como el carbono, el nitrógeno, el fósforo y el azufre, son de importancia primordial para el desarrollo del vegetal.

Desde el punto de vista agronómico, el suelo agrícola nos interesa fundamentalmente como sustrato que permita el desarrollo conveniente de los cultivos, proporcionándoles los elementos nutricios que posibiliten el mejor rendimiento. A ello debemos agregar que esta utilización del sustrato suelo debe hacerse de tal manera que no se vea afectada su fertilidad, para lo cual es necesario el conocimiento preciso de sus propiedades físico-químicas y biológicas. En base a ese conocimiento es como el agricultor podrá elegir las técnicas más convenientes para el manejo del suelo, que, a la par que posibiliten los mejores rendimientos, eviten la degradación y posterior erosión de los suelos agrícolas.



Determinación del Valor "L" mediante la técnica del Azotobacter (preparación de las cajas)

Siendo lo expuesto anteriormente norma fundamental sobre la que gira la ciencia agronómica, debe ser en nuestro país la base donde ha de asentarse nuestro poderío económico y el desarrollo de una industria estable y poderosa.

Si además recordamos, coincidiendo con J. C. BUGHER², director de la División Biología y Medicina de la Comisión de Energía Atómica de los EE. UU. de Norteamérica, que "no puede haber progreso en la salubridad pública, en el mejoramiento del standard de vida y en aquellos muchos caracteres distintivos que nosotros consideramos como parte esencial de la civilización, a menos que ellos estén basados sobre un provechoso incremento de la productividad agrícola", a lo que nosotros agregaríamos con un criterio conservacionista del suelo, debemos estar contestes en que el estudio permanente de los procesos que en el suelo se desarrollan y el conocimiento cada vez más profundo de cada uno de ellos es la única posibilidad efectiva de alcanzar una mayor producción.

En materia de microbiología de suelo suele confundirse el estudio particular de un microorganismo telúrico con la citada rama de las ciencias biológicas. En muchos casos ellos no son sino el elemento utilizado para estudios que deben ser incluidos en microbiología general.

A los fines agronómicos, el microbiólogo de suelos debe subordinar el interés puramente microbiológico a la investigación de problemas relacionados con la nutrición vegetal y el manejo de los suelos.

Es por ello que la actual concepción de la microbiología de suelos parte de la importancia de los grupos fisiológicos más que del estudio particular de un microorganismo dado.

Coincidentes con este enfoque del problema, trataremos en esta breve reseña de concretar con ejemplos la aplicación de radioisótopos e isótopos estables en microbiología de suelos. Dejaremos de lado muchas experiencias que, si bien parten de organismos telúricos y utilizan radioisótopos, caen dentro del campo de la microbiología general, sin tener en cuenta el aspecto de aplicación agronómica.

La fijación de nitrógeno atmosférico por los organismos del suelo

Si partimos del hecho de que la gran reserva de nitrógeno con que cuenta el mundo está constituida por el nitrógeno atmosférico, y conociendo que hay una serie de microorganismos capaces de fijar dicho nitrógeno y sintetizar con él su material proteico, y si, como es sabido, dicho elemento es fundamental para el desarrollo del vegetal y en último grado para la formación de las proteínas animales, el conocimiento amplio de los procesos que permiten dicha fijación es fundamental.

Como dato ilustrativo de la importancia económica de la fijación biológica del nitrógeno, diremos que J. C. LIPMAN y A. B. CONYBEARE³ consideran que un 60 % de los 16,45 millones de toneladas que recibe por año la superficie total cultivada de los EE. UU. pertenece a nitrógeno fijado por los microorganismos, o sea, 9,83 millones de toneladas, de los cuales 5,46 corresponden al *Rhizobium*, el microorganismo que vive en simbiosis con las leguminosas. Es digno de destacar que los abonos orgánicos utilizados son del orden de 2,57 millones de toneladas.

Antes del advenimiento del uso de radioisótopos e isótopos estables, los métodos utilizados permitieron aclarar en mucho el problema. Es indudable, sin embargo, que el mismo quedó circunscripto en muchos aspectos, y especialmente muchas opiniones y experiencias que sostenían la existencia de un mayor número de fijadores que los usualmente reconocidos, eran controvertidas como resultado de la carencia de métodos claros y definitorios que demostraran lo aseverado. Otro tanto ocurría con las teorías esbozadas con respecto al problema de los intermediarios en el mecanismo del proceso de fijación.

La utilización del isótopo estable del nitrógeno, $^{15}\text{N}^{4,5}$, fue hecha primeramente en animales, y el halagüeño resultado de las mismas facilitó la adaptación de dicho isótopo estable al estudio de la fijación biológica del nitrógeno atmosférico.

Los resultados positivos obtenidos durante los últimos 15 años han permitido aclarar muchos aspectos que hubiera sido imposible encarar sin el uso del trazador N^{15} .

Trataremos de resumir los principales problemas estudiados, aclarando que la reseña en ningún modo será completa.

El primer punto digno de considerar es la verificación de la existencia de una reacción de intercambio isotópico, porque de ello dependerá principalmente su utilidad como trazador en el estudio de la fijación. Es decir que la determinación del isótopo no indicaría necesariamente una fijación de nitrógeno si lo que se produce es un intercambio entre el nitrógeno preexistente en el microorganismo y el de la atmósfera enriquecida con N^{15} .

Un experimento en este sentido fue realizado utilizando, como agente fijador, el *Azotobacter agilis*, un fijador de nitrógeno no simbiótico y aerobio. concluyéndose, como resultado de las experiencias, que no se producen reacciones de intercambio isotópico mensurables durante el proceso de fijación.

Con este punto de partida, cuya no observancia, en otros casos, ha dado lugar a gruesos errores, la consideración de otros aspectos podría ser encarada.

Es así que mediante el N^{15} es factible demostrar la capacidad de un determinado organismo, de fijar nitrógeno atmosférico. Se contó en esta emergencia con una herramienta de trabajo que posibilitó la afirmación segura, y mediante ella otros nombres pudieron ser agregados, ya sin discusión, a la lista de los fijadores conocidos. Además, la nueva técnica proveyó de un elemento mucho más sensible, especialmente cuando se trabaja con materiales de un contenido inicial de nitrógeno alto y en los cuales, mediante el método de Kjeldahl, no se pueden determinar pequeños aumentos por fijación.

Se pudo destruir así la afirmación de mucha gente en el sentido de que plantas leguminosas eran capaces de efectuar el proceso de fijación sin las bacterias simbióticas específicas, como asimismo la aseveración de que dicha fijación podía hacerse por plantas no leguminosas.

A través del uso del N^{15} ha podido comprobarse fehacientemente que un microorganismo fotosintético, *Rhodospirillum rubrum*, es capaz de fijar nitrógeno, y en las algas similar demostración se ha hecho en cuanto a los géneros *Nostoc* y *Calothrix*.

El isótopo estable N^{15} ha hecho también posible demostrar que el nódulo de las leguminosas es capaz de fijar nitrógeno aun separado de la planta, lo cual facilita una gran variedad de experiencias sobre el proceso de fijación simbiótica de nitrógeno.

Finalmente, una serie de experiencias competitivas usando como fuentes de nitrógeno atmósfera enriquecida con N^{15} , amoníaco y nitrato marcados con N^{15} , han aportado una serie de datos que sugieren que el amoníaco es un intermediario entre el nitrógeno atmosférico y el nitrógeno orgánico sintetizado por los microorganismos fijadores.

Entre otras variantes consideradas, se ha podido demostrar, contra lo aseverado anteriormente, que si bien los fijadores pueden emplear fuentes de nitrógeno del suelo, ello no es absoluto, salvo en el caso de la provisión de amoníaco. Cuando se les facilita nitratos hay, pese a su utilización, fijación del nitrógeno de la atmósfera. Ello ha sido interpretado como derivado de la preexistencia en el microorganismo fijador de un complejo enzimático que actúa sobre el amoníaco. No existirían enzimas para actuar sobre los nitratos, y ello es un dato que abona la teoría del amoníaco como intermediario en el proceso de fijación.

La utilización de microorganismos del suelo y radioisótopos en técnicas de trabajos de laboratorio de interés agrícola

Los métodos químicos tradicionales han sufrido modificaciones como resultado de la adaptación de elementos radiactivos a las prácticas analíticas.

La utilización de microorganismos para la determinación cuali y cuantitativa de elementos en el suelo es ampliamente conocida, y la combinación de microorganismos y radioisótopos permite sumar a la sensibilidad biológica la que faculta el uso de trazadores.

Tanto el agrónomo como el microbiólogo de suelos tienen necesidad de técnicas simples y rápidas que faciliten sus estudios.

LAURA R. TEIXEIRA DE VASCONCELOS ⁶ ha utilizado *Aspergillus niger* y K^{42} para la determinación de potasio lábil en suelos, aprovechando el rápido desarrollo de dicho microorganismo y teniendo en cuenta el corto periodo del K^{42} , lo que impide su utilización en métodos que parten del cultivo de plantas superiores.

Con este antecedente, A. H. MERZARI, R. A. GHELFI y E. O. BRENZONI⁷ desarrollaron, en el Laboratorio de Aplicaciones Agrícolas de la Comisión Nacional de Energía Atómica, una nueva técnica para la determinación de fósforo lábil en suelos (valor "L") utilizando *Azotobacter* en cultivo espontáneo. Consiguieron de esta manera una menor duración de la experiencia en relación al método conocido usando plantas superiores, como asimismo la eliminación de varios factores de error, entre los cuales merece destacarse la del análisis del fósforo de las semillas. Además, la nueva técnica posibilita el incremento del número de repeticiones.

Con posterioridad, y trabajando en el mismo laboratorio, A. H. MERZARI, S. FLORES SUÁREZ y ALICIA GODOY⁸ han concretado una nueva técnica de análisis de la cantidad de fósforo solubilizado por acción bacteriana partiendo de fosfato tricálcico marcado con P^{32} .

Ello ha sido el resultado de la necesidad de resolver el problema que implicaba el análisis químico tradicional, ya sea por gravimetría o fotocolorimetría, en el estudio de microorganismos capaces de solubilizar fósforo insoluble en el suelo y ponerlo de esa manera en condiciones de ser asimilado por las plantas superiores.

Problema de gran interés, la solubilización biológica del fósforo puede ser más simplemente estudiada contando con el auxilio de esta técnica radioisotópica basada en el concepto de actividad específica.

Muchos otros aspectos podrían ser considerados en cuanto al uso de radioisótopos e isótopos estables en microbiología de suelos, pero creemos que los ejemplos presentados dan una pauta del amplio panorama que se abre en este campo de las ciencias y de las aplicaciones agronómicas que de estos estudios se derivan.

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

1. NORMAN, A. G. (1955): *The Place of Microbiology in Soil Science*. Advances in Agronomy, vol. VII.
2. BUGHER, JOHN C. (1953): *Agricultural Radiobiology and the National Welfare*. TID-5115, pág. 11.
3. LIPMAN, J. C., y CONYBEARE, A. B. (1936): *Bull. N. J. Agric. Exp. Sta.*, n° 607.
4. BURRIS, R. H. (1953): *Studies of biological nitrogen fixation with ^{15}N* . TID-5098, pág. 68.
5. (1956): *Nitrogen Fixation*. TID-7512, pág. 361.
6. TEIXEIRA DE VASCONCELOS, LAURA R.: Tesis inédita.
7. MERZARI, A. H.; GHELFI, R. A., y BRENZONI, E. O. (1962): *Radioisotopes in Soil Plant Nutrition Studies*. Internat. Atomic Energy Agency, Viena, Austria.
8. MERZARI, A. H.; FLORES SUÁREZ, S., y GODOY, ALICIA (1963): *Méthode rapide pour la détermination quantitative de la solubilisation du phosphate tricalcique par B. subtilis et B. megatherium utilisant P^{32}* . Inédito. Trabajo presentado al Coloquio de Microbiología del Suelo de la Sociedad Francesa de Microbiología, 7-II-1963.