

BOLETIN



*de
la* Compañía Administradora del Guano

BOLETIN

De la Compañía

Administradora

DEL GUANO

DIRECTOR:

Ing° Jefe General del Departamento Técnico

COMITE DE REDACCION:

Personal de Ingenieros del Departamento Técnico

Volumen XXXI

Setiembre 1955

N° 9

S U M A R I O :

PORTADA:

Punta San Juan mostrando el comienzo del muro de aislamiento. (Foto: Ing° J. Costañeda).

EDITORIAL: SIGNIFICACION E IMPORTANCIA DE LA COMPAÑIA ADMINISTRADORA DEL GUANO.

ACONDICIONADORES DE SUELOS HECHOS HUMUS EN EL CAMPO.

Por F. Evans Farwell. — Del "Boletín Azucarero Mexicano". — Mayo 1955.

VENTAJAS DE LA EXPLOTACION AGRICOLA EN BASE A COMPOST.

De "Abonos Orgánicos" por J. I. Rodale.

LA SUCESION DE CULTIVOS, LOS FERTILIZANTES Y RESIDUOS VEGETALES.

Del "El uso eficaz de los fertilizantes" de la FAO.

ENSAYO SOBRE LA COMPOSICION MICROBIOLOGICA DEL GUANO DE ISLAS DEL PERU

Por el Ing° Agr° Miguel Carmen Cuba. ✓

BALANCE AL 30 DE SETIEMBRE DE 1955.

PROMEDIOS MENSUALES DE LOS PRINCIPALES ELEMENTOS METEOROLOGICOS CORRESPONDIENTES AL MES DE AGOSTO DE 1955.

Este BOLETIN se publica MENSUALMENTE.

Su objeto principal es **DIFUNDIR Y VULGARIZAR LOS PRINCIPIOS QUE DEBEN REGIR EN EL MEJOR CONOCIMIENTO DEL SUELO** así como el **ABONAMIENTO REQUERIDO** y todo lo que sea de interés para el agricultor del país.

Su distribución es **GRATUITA** entre todos los **AGRICULTORES**. — Teléfono 72510. Zárata 455 — Casilla 2147, LIMA.

Ensayo sobre la Composición Microbiológica del Guano de Islas del Perú

Ing^o Agr. Miguel Carmen Cuba

INTRODUCCION

En el momento actual los suelos peruanos encuentran en el guano de Islas el principal restituidor de los elementos nutritivos, que les son extraídos por los diferentes cultivos.

Además del aporte mineral y orgánico del Guano de Islas, existe indudablemente su aporte microbiano; la suerte que sigue esta flora en el suelo nos es desconocida, al igual que su influencia sobre la flora autóctona. Es de nuestro dominio que son esencialmente los microbios los que condicionan los procesos de síntesis orgánicas y de la mineralización, de la solubilización e insolubilización de los elementos minerales, es decir que el rol de ellos es fundamental para la fertilidad de los suelos y con ello de una manera directa sobre la Agricultura.

Con carácter exploratorio y con miras a estudiar posteriormente la influencia del Guano de Islas en la vida microbiana de los suelos peruanos y de conocer al mismo tiempo los grupos microbianos que intervienen en su evolución, se ha realizado el presente ensayo.

El estudio ha sido realizado en el laboratorio de Microbiología del suelo del "Instituto Pasteur" de París.

El material de estudio estuvo constituido por muestras de guano rico, que formaban parte de un conjunto de muestras de guano rico, pobre y turba que fueron enviadas a su solicitud al autor del presente ensayo.

Las muestras fueron colocadas en tubos de prueba previamente esterilizados, tapados luego con algodón y enviadas a París por vía aérea.

Según los datos proporcionados por la Compañía Administradora del Guano, las muestras fueron tomadas del Guano destinado a la venta y pertenecían a las siguientes islas: Pescadores 558|4939, Chao 565|946, Punta Coles Lote A-8-46, 551|4932, Asia 556|4937, Santa Rosa B-2-46, 553|4934, Mazorca 570|4934.

El análisis químico realizado dió: Nitrógeno total 13%, Carbono orgánico 12% y dio se ha realizado en el presente trabajo. pH 6.5. Al final del estudio se incluye un análisis químico completo del guano rico proporcionado por la Compañía Administradora del Guano.

El autor, del personal técnico de la Estación Experimental Agrícola de "La Molina", se encontraba en París, en uso de una beca del Gobierno francés. Desea expresar sus agradecimientos al Dr. Jacques Pochon, jefe del Servicio de Microbiología del Suelo del Instituto Pasteur y a la señorita H. de Barjac, asistente, por su orientación para la realización del presente trabajo.

De igual modo a la Dra. Cándida Gonzales por su colaboración prestada.

A la Compañía Administradora del Guano por las muestras enviadas y cuyo estudio se ha realizado el presente trabajo.

ESTUDIO DE LA MICROFLORA

Para el estudio de la microflora se han

utilizado las técnicas que en el momento actual son empleadas para el conocimiento de la microflora del suelo, las mismas que se utilizarán posteriormente para el estudio de la interrelación del suelo y del Guano de Islas desde el punto de vista microbiológico.

El estudio ha sido orientado a obtener una idea general de los grupos microbiológicos presentes en el Guano de Islas, de esta manera se ha estudiado los gérmenes fijadores del nitrógeno atmosférico, proteolíticos, Amonificantes, Nitrificadores, Denitrificadores, Celulolíticos, Hemicelulolíticos, Amilolíticos, Reductores de Sulfatos, Oxidantes del azufre y del azufre reducido, Algas y Hongos. El estudio aislado de gérmenes, puede efectuarse posteriormente para el estudio profundo de los fenómenos que sea de interés investigar.

A continuación se describen las técnicas y los resultados obtenidos en el estudio de los diferentes grupos microbiológicos.

GRUPO DE FIJADORES DEL NITROGENO ATMOSFERICO

La fijación del nitrógeno atmosférico es un fenómeno biológico en el que intervienen microorganismos aerobios y anaerobios, entre los primeros encontramos las azotobacterias y entre los segundos el Clostridium.

Fijadores Aerobios.

En su estudio se ha utilizado la técnica de Winogradsky, o sea el empleo del silicogel; además se ha hecho un estudio de Azobacterias.

Solución standard de Winogradsky.

Fosfato bi-potásico	5	gr.
Sulfato de Magnesio	2.5	gr.
Cloruro de Sodio	2.5	gr.
Sulfato férrico	0.05	gr.
Sulfato de Manganeso	0.05	gr.
Agua	1000.00	gr.

El pH. de la solución debe ser de 7.2, en medio líquido.

1.—*Estudio sobre Silico-Gel.*

Técnica Operatoria.—Impregnación del silico-gel con la solución salina Standard

de Winogradsky conteniendo 0.5% de Carbonato de Calcio y con Piruvato de Sodio a razón de 0,25 gr. por caja de Petri. Las caja de Petri se ha sembrado con 25 granos de guano cada una e incubado a la estufa a 28°C.

Resultados.—Se ha podido constatar la presencia de colonias de Azotobacterias alrededor de los granos de guano, habiéndose obtenido al doceavo día de cultivo un 12% de granos fértiles.

El rol que ellas pueden desempeñar en el guano sería interesante estudiarlo ya que siendo el guano un producto rico en Nitrógeno, el papel que ellas desempeñan en el suelo de fijadoras del Nitrógeno atmosférico, es posible que no sea realizadas por ellas en el seno de este abono; tal vez sería posible que actúen como denitrificantes.

2.—*Estudio de Azotobacterias en medio líquido.*

Técnica Operatoria.—Siembra de diluciones de guano sobre un medio líquido constituido por la solución Standard y glucosa.

Resultados.—El resultado obtenido de la presencia de Azotobacterias sobre silico-gel, ha sido corroborado con el empleo de medio líquido. Las Azotobacterias al desarrollarse en los medios de cultivo tienen la particularidad de formar un velo en la superficie, en nuestros medios de cultivo la presencia de este velo solo ha sido posible constatarla en las diluciones más concentradas; sin embargo en las otras diluciones se ha determinado su presencia, por medio de preparaciones microscópicas.

(*) *Solución Standard de Winogradsky.*

FIJADORES ANAEROBIOS

Técnica Operatoria.—Se ha empleado como en el caso del estudio de los fijadores Anaerobios el silicogel, pero reemplazando la glucosa por el piruvato de sodio. Las placas sembradas con la misma técnica que en el caso de los aerobios, han sido colocadas en un medio anaerobio, y el conjunto incubado a la temperatura de 28°C.

Resultados.—Al final del período de incubación no ha sido posible constatar la presencia de Clostridium en los cultivos efectuados.

GRUPO DE AMONIFICADORES

Los microorganismos responsables del fenómeno de la Amonificación son muy variados y aquellos que son activos en el suelo, poco identificados hasta el presente. El Amoniaco liberado por estos microorganismos puede ser utilizado por otros microorganismos para sus síntesis celulares, una parte es oxidada por los gérmenes de la nitrificación y finalmente la parte no utilizada liberada a la atmósfera.

TECNICA OPERATORIA.—Se ha utilizado la técnica de la Tirosina por medio de la cual se trata de estudiar la desaparición del substrato azotado (la tirosina) en un medio líquido. Se ha sembrado diluciones de tierra sobre un medio compuesto por la Solución Standard de Winogradsky diluida al 1|20 y Tirosina en la proporción de 0,5 o|oo. Durante un período de 21 días se ha determinado la presencia o ausencia de la Tirosina al mismo tiempo que se verificaba correlativamente la presencia de Amoniaco.

Resultados: El ataque de la tirosina se ha manifestado lento y solo se ha podido observar el 10º día su ataque en las diluciones mas concentradas en estudio, sin embargo el 16º día del ensayo, el ataque había aumentado de una manera considerable alcanzando hasta la dilución 10⁻⁴, de las ocho diluciones en estudio.

GRUPO DE PROTEOLITICOS

La molécula protéica en el suelo es desintegrada bajo la intervención de numerosos microorganismos, los que la someten a una descomposición progresiva, en cadena, transformándola de mas en mas simple.

TECNICA OPERATORIA.—Se ha sembrado diluciones de la muestra de guano, sobre un medio constituido por el suero normal de caballo, manteniéndose a la incubación durante un período de 6 días.

Resultados: Las lecturas efectuadas después del 3º y 6º día han mostrado una gran riqueza de colonias en las placas de cultivo, lo que señala al guano como un producto rico en gérmenes proteolíticos.

GRUPO DE NITRITIFICADORES

Los gérmenes nitrosos (Nitrosomonas), actuando sobre las formas amoniacales por

oxidación las conducen al estado de nitritos, los que pueden sufrir posteriormente la acción de los fermentos nítricos y alcanzar la forma nítrica; este fenómeno se desarrolla normalmente en los suelos y está bajo la acción de un cierto número de factores.

Para el estudio de este fenómeno microbiano se han realizado cultivos sobre placas de Silico-gel y se ha realizado al mismo tiempo una valorización del poder nitrificador por medio de cultivos en medio líquido.

1.—CULTIVO EN PLACAS DE SILICO-GEL

TECNICA OPERATORIA.—Tratándose de estudiar tanto los gérmenes nitrosos como los nítricos, el medio de cultivo empleado se ha hecho selectivo variando la composición de la sustancia de impregnación de las placas de Silico-gel; así, en el caso del estudio de los gérmenes nitrosos hemos empleado el sulfato de Amonio y en el de los nítricos el nitrito de sodio; esterilizando los medios de cultivo por medio de rayos ultravioleta, con la finalidad de impedir la interferencia de otros microorganismos.

Resultados: No ha sido posible llegar a constatar la presencia de gérmenes nitrificadores en los cultores efectuados.

2.—VALORIZACION DEL PODER NITRIFICADOR EN MEDIO LIQUIDO

TECNICA OPERATORIA.—Al igual que sobre las placas de silicogel, se ha estudiado tanto los gérmenes nitrosos como los nítricos. El medio de cultivo ha estado constituido por la solución salina Standard de Winogradsky, a la que se le ha agregado carbonato de Calcio y según el caso de gérmenes nitrosos o nítricos, Sulfato de amonio o Nitrito de sodio.

Resultados: Por medio de test químicos se ha tratado de identificar la presencia de nitritos o nitratos en los cultivos efectuados, sin llegar a un resultado positivo, esto corrobora de un cierto modo al resultado obtenido por medio del cultivo sobre placas de silico-gel, en los cuales no se pudo constatar la presencia de gérmenes nitrificadores.

GRUPO DE DENITRIFICADORES

En la Naturaleza los nitratos pueden sufrir la acción de ciertos microorganismos, que sometiéndolos a fenómenos de reducción los pueden llevar a la forma amoniacal, pasando de una manera fugaz por la forma nitrosa; pudiéndose llegar aun a la forma de Nitrógeno molecular; tanto la forma de nitrógeno amoniacal como la de Nitrógeno molecular constituyen los términos normales de este fenómeno de reducción y la presencia de uno u otro estado se encuentra directamente influenciado por la actividad de la flora microbiana. Este fenómeno de reducción de los nitratos puede realizarse en el suelo tanto sobre las formas nitrogenadas formadas por vía biológica, como sobre aquellas que son incorporada a él, bajo la forma de fertilizantes.

En el estudio se ha tratado de observar la evolución de las formas nitrogenadas presentes en el guano de islas valiéndonos de test indicadores de la presencia de una u otra forma nitrogenada.

TECNICA OPERATORIA.—Se han efectuado sembríos de diluciones de guano sobre un medio líquido salino conteniendo una fuente de carbono orgánico y de nitratos. Todos los días durante un periodo de 12 días, se efectuaron tests químicos destinados a determinar la presencia de nitratos, nitritos y amoniaco en los cultivos. Todos los datos obtenidos han sido resumidos en el cuadro 2, y han servido así mismo para construir el gráfico 2. Para la construcción de este gráfico los datos han sido tomados del modo siguiente:

- para los Nitratos, el último tubo que lo contiene;
- para los Nitritos, el primero y el último tubo que lo contiene;
- para el Amoniaco, el primero y el último tubo que lo contiene.

Debido a que en el Guano de Islas la forma amoniacal, nitrosa y nítrica se encuentran presentes, lo cual podría interferir en la apreciación de los resultados ha sido necesario utilizar un testigo, en el cual, el sembrío de la dilución de guano se ha efectuado sobre agua destilada.

Resultados: Los datos obtenidos sobre la presencia de nitratos nitritos y amoniaco, con la utilización de tests químicos en com-

paración con los obtenidos en el testigo, nos hace ver que se pueden considerar como el reflejo de la actividad de las floras microbianas presente en el guano.

Para facilitar la interpretación de los fenómenos el estudio de las curvas se hará de dos maneras: 1) separadamente, y 2) buscando la inter-relación de ellas.

1.—ESTUDIO AISLADO DE LAS CURVAS

a) *Nitratos.*—El nivel de ellos observado después de un día de incubación disminuye en el curso del tiempo, para alcanzar al final del periodo de observaciones un nivel estable.

En el testigo después de un día de incubación, se pudo constatar su presencia con un tenor muy débil en las diluciones comprendidas entre 10^{-3} a 10^{-8} (inclusive); en los demás días de observación no ha sido posible determinar su presencia por medio de los test químicos utilizados.

b) *Nitritos.*—Observando las curvas se puede apreciar que el nivel de ellos sufre fluctuaciones de aumento y disminución a lo largo del estudio, sin haber alcanzado su nivel inicial y alcanzando al final del periodo de observaciones su nivel más bajo.

Los test realizados sobre el testigo revelan su presencia en todas las diluciones en estudio después de un día de incubación, pero después del segundo día sólo pudo constatar en las diluciones comprendidas entre 10^{-3} y 10^{-8} (inclusive), con un tenor muy débil, permaneciendo estos niveles estables a todo lo largo del experimento.

c) *Amoniaco.*—Después de un día de incubación la presencia de Amoniaco es comprobada por medio de los test químicos en las diluciones más concentradas, al tercer día de estudio desciende bruscamente siendo sólo constatada en la dilución 10^{-1} , a partir de este momento aumenta de una manera constante alcanzando su máximo el 9º día, después del cual disminuye hasta el fin del estudio.

Los resultados obtenidos muestran una activa acción de la flora Amonificante presente en el Guano, la que conduce a las formas nitrogenadas del Guano hacia la forma Amoniacal, la que de no ser utilizada representa una forma fácil de perderse, determinando con ello el empobrecimiento del Guano en N.

La disminución del nivel de Amoníaco observado al final del experimento puede deberse tal vez a una reutilización de él por la flora microbiana.

En el testigo después de un día de incubación se identificó la presencia de Amoníaco en las diluciones más concentradas, manteniéndose después del 2º día hasta el final del experimento un nivel estable comprendido entre las diluciones 10^{-1} a 10^3 .

Los test químicos realizados sobre el testigo con el propósito de estudiar las modificaciones que puedan sufrir los compuestos Amoniacales, los Nitritos y los Nitratos en el curso de la experiencia, muestran que ellos no han sufrido los fenómenos de evolución a que han estado sometidos los mismos en los medios de cultivo empleados para su estudio (Cuadro Nº 1).

2.—ESTUDIO COMPARATIVO DE LAS CURVAS

El estudio en conjunto de las curvas nos revela una clara evolución de las formas nitrogenadas del Guano, con intervención de la flora microbiana.

Se puede observar en el gráfico que mientras los Nitratos disminuyen y alcanzan al final del estudio un nivel estable, los Nitritos y el Amoníaco aumentan progresivamente, alcanzando su máximo el 9º día para luego disminuir, esta disminución como ya lo hemos indicado anteriormente tal vez pueda ser debido a una reutilización microbiana de estos productos.

GRUPO DE CELULOLITICOS

La celulosa de los vegetales es metabolizada en el suelo con la intervención de diferentes hongos y bacterias, que actúan unos en aerobiosis y otros en anaerobiosis. En aerobiosis actúan especialmente los hongos y las bacterias, mientras que en anaerobiosis actúan especialmente las bacterias esporuladas, entre las cuales algunas son termófilas.

Nuestro estudio ha estado destinado a in-

vestigiar la presencia en el guano de estos gérmenes celulolíticos, para cuyo efecto se han realizado cultivos tanto aerobios como anaerobios.

CELULOLITICOS AEROBIOS

Técnica operatoria.—El medio de cultivo ha estado constituido por el Silico-gel impregnado por la solución Salina Standard de Winogradsky, adicionada de 1% de Nitrato de Amonio. Como fuente de celulosa ha sido utilizado el papel filtro Durieux III exento de cenizas), el que después de ser convenientemente esterilizado fué sembrado con granos de la muestra estudiada.

Resultados.—Las lecturas han sido realizadas diariamente a partir del tercer día de sembrío, habiéndose prolongado las observaciones durante un periodo de 15 días, sin haber llegado a observar el desarrollo de colonias de celulolíticos en las placas de cultivo.

CELULOLITICOS ANAEROBIOS

Técnica Operatoria.—Se ha sembrado con un peso conocido de guano un medio salino compuesto por la Solución Standard de Winogradsky, Nitrato de Amonio y Peptona péptica, conteniendo a su vez como test para medir el fenómeno una banda de papel filtro.

Después de haber realizado el sembrío se han estrado los tubos conteniendo los cultivos, eliminando el aire de ellas al vacío y colocándolos a la estufa, una parte a 33°C. y otra a 60°C. con el objeto de estudiar tanto los mesófilos como los termófilos.

Resultados.—El estudio ha sido conducido por un periodo de 12 días, sin haberse podido observar el ataque de la celulosa empleada como test en el estudio de los gérmenes celulolíticos. De esta manera en nuestro estudio no se ha podido revelar la presencia de gérmenes celulolíticos, tanto aerobios como anaerobios en la muestra estudiada.

(CONTINUARA)