

# HUMIFICATION STUDY BY CHEMICAL AND MICROMORPHOLOGICAL METHODS

by

Dorado, E., Benayas, J. & Polo, A. (1)

## Introducción

Existen métodos para fraccionar los diversos componentes del humus pero dada la complejidad de su formación, es difícil establecer con precisión una escala de humificación.

Duchaufour et Jacquin (1.966) han dado un paso decisivo al considerar la humina en el porcentaje de la humificación; para ello separan la materia ligera con la mezcla bromoformo-alcohol ( $d=1,8$ ) y el residuo lo someten a extracciones sucesivas con  $P_2O_7 Na_2$  y  $NaOH$ . El O. R. S. T. O. M. (Dabin, 1.971) simplifica el método utilizando  $PO_4 H_3 2M$  para la separación de los ligeros. Ponomavera (1.961) y posteriormente Kozakiewick (1.962) determinan el grado de humificación introduciendo el coeficiente  $C/N$  hallado en las muestras y en los extractos húmicos. Casi todas estas publicaciones se refieren al valor cuantitativo de la biodegradación de la materia orgánica. Hargitai (1.974) trata de caracterizar y valorar la calidad del humus por espectrofotometría.

En nuestro trabajo, por una parte se determina cuantitativa y cualitativamente la humificación así como los factores fisico-químicos que más influyen en este proceso, y por otra parte se estudian las características microscópicas de la materia orgánica.

El material de estudio seleccionado son formas de materia orgánica de naturaleza muy diversa, comprendidas entre el humus mull y las sustancias húmicas de los lignitos.

Pretendemos en este trabajo investigar el grado de precisión de los métodos empleados y correlacionar, en

(1) Instituto de Edafología y Biología Vegetal. C. S. I. C.  
MADRID

## HUMIFICATION STUDY

lo posible, las características bioquímicas de la humificación con las micromorfológicas, aunque se sabe las limitaciones que tiene (Bullock, 1.974; Babel, 1.975).

Se han querido aplicar los métodos bioquímicos y microscópicos indicados en el estudio de la humificación a suelos de cultivo aunque el laboreo y uso de fertilizantes no haga los resultados comparables con los suelos vírgenes.

### Técnicas

#### Extracción de la materia orgánica, porcentaje y grado de humificación.

El contenido de las diversas fracciones húmicas y el porcentaje de humificación (Duchaufour, 1.975), se llevo a cabo por el método seguido por el O.R.S.T.O.M. el grado de humificación (Kozakiewiéz, 1.962) con la fórmula  $\frac{Ch}{A:B}$  siendo el numerador el carbono orgánico del extracto y el denominar la relación existente entre A y B que son respectivamente el coeficiente C/N de la muestra y el extracto húmico respectivamente. El coeficiente de estabilidad del humus, K, (Hargitai, 1.974) según la ecuación:

$$K = \frac{E \text{ Na F}}{E \text{ Na OH}} \cdot \frac{1}{Ch}$$

De cada muestra se obtienen independientemente dos extractos húmicos: uno con FNa 1% y otro con NaOH 0,5N y en ambos se determinan sus respectivos coeficientes de extinción (E) según técnicas de Kononova (1.966).

Se ha utilizado la filtración a través de gel para estudiar la posible correlación entre los valores de los coeficientes de estabilidad y los tamaños moleculares de las sustancias húmicas.

Se han seguido las técnicas descritas por Dorado et al. (1.972) obteniendo las curvas de volumen de elución.

frente a % de transmitancia ( $\lambda = 450m$ ); los porcentajes de las fracciones excluidas y retenidas por Sephadex G-50 se expresan en la tabla III.

Solo se han comparado las curvas correspondientes de los ácidos húmicos del extracto con F Na por considerar que este extractante, gracias a su pH bajo, evita las posibles neoformaciones y solubilizaciones a costa de la humina.

### Micromorfología

Las muestras se han impregnado utilizando Cronolita 1.108 y las laminas delgadas de suelo se han preparado segun el método usual (Higueras, 1.967) con algunas variaciones.

La nomenclatura relativa a las sustancias minerales es segun Brewer (1.964) y en la investigacion micromorfologica del humus utilizamos las terminologias de Kubiena (1.938, 1.952) y Babel (1.965). El porcentaje en volumen de los constituyentes se obtiene empleando el ocular integr. Kpl 8x (Zeiss) sobre la lamina delgada. Para el color se ha utilizado soil color chart (Oyama & Takehara, 1.967).

### Material

- Suelo pardo calizo forestal sobre calizas (Mapa de suelos de España, 1.968). Localizacion: Km. 21 de la carretera de Salcedo a Pedraza (Segovia), Vegetacion de Juniperus thurifera, Cistus ladaniferus y abundantes musgos y gramineas. Hors. Ao + A1 de 0,1- 4 cm. Textura franca y gramosidad buena.
- Suelo rendziniforme sobre calizas pontienses (Mapa de suelos de España, 1.968). Localizacion: Km 82 de la carretera Madrid-Zaragoza (Guadalajara). Vegeta-

## HUMIFICATION STUDY

- ción de Quercus ilex, Cistus laurifolius, Juniperus communis y gramíneas. Hor. A1 de 2- 17 cm. (2-6 cm. toma de muestra). Textura franco-arcillosa.
- Tierra parda meridional sobre granito (Mapa de suelos, 1.968). Localización: Km. 4 de la carretera de Hoyo de Manzanares (Madrid) a Colmenar Viejo. Vegetación de Quercus ilex, Cistus ladaniferus y Daphne gnidium Hors. Ao † A1 de 0,2 - 9 cm. ( 0,2-4,2 cm. toma de muestra). Textura franco arenosa.
  - Ranker de tangel sobre granito y neis (Kubierna, 1.952). Localización : Navacerrada (Madrid). Vegetación de Sarothamnus purgans y Juniperus communis con abundantes gramíneas. Hor. A1 de 12-60 cm. (12-16 cm. toma de muestra). Textura franco arenosa, muy suelta sin grumos.
  - Suelo cultivado. Suelo rendziniiforme sobre margas miocenas (Mapa de suelos de España, 1.968). Localización : Km. 12 de la carretera Martos-Monte Lope Álvarez . Olivar de secano en régimen de monocultivo. Hor. Ap, 0-35 cm. (12-16 cm. toma de muestra); textura franco arcillosa.
  - Turbas. Hemos elegido las muestras de dos turberas de génesis diferente; por un lado la procedente de Buyo (La Coruña) que es una turbera alta (0-2 m. toma de muestra; mientras la de Padul (Granada) se incluye en las turberas bajas o planas (15-21 cm. toma de muestra).
  - Lignito. Localización : Yacimiento de San Andres de Meirema (La Coruña). Toma de muestra 1-8 , 60 m.
  - Restos coprogenos de Eophyla morelli (Rosa). acuática. Localización : Casa de Campo (Madrid), junto a un charco.

## Resultados y Discusion

En el estudio de la biodegradación de la materia orgánica

nica debemos diferenciar por su diverso comportamiento, los suelos naturales y los productos de gran contenido en humus como son las turbas y los lignitos.

Si ordenáramos los suelos (Vease tabla I) en orden de creciente de la actividad biológica (coeficiente C/N de menor a mayor), resultaría en este orden:

Restos coprógenos lumbricidos (C/N = 9,76) -- Ran - ker de tangel -- Suelo rendziniforme -- T. parda meri + dional -- Suelo pardo calizo (C/N = 18,8). El porcentaje de humificación aparece también en ese mismo orden (ver - tabla II) en estas cinco muestras:

Restos coprógenos lumbricidos (98,9 humificación) el primero y suelo pardo calizo (91,0 humificación) el último lo que quiere decir que existe, como es natural una corre - lación entre la actividad biológica y el % de humificación.

Asimismo al comparar en esta misma tabla (II) el grado de humificación según Kozakiewicz con el coeficiente de estabilidad del humus de Hargitai, se comprueba una cla - ra correlación; ambos valores están ordenados en la ta - bla de mayor a menor. Aquellos valores más altos corres - ponden a una buena calidad del humus.

En los depósitos de humus: turbas y lignitos, no se puede hablar de una correspondencia entre estos coefi - cientes, lo único que debemos resaltar es que en el humus de las turbas y de una manera particular en el lignito cu - yo valor de humificación es el máximo (100 %), corres - ponde a una calidad de humificación muy mala (0,016%). El humus de los restos coprógenos de lumbricidos tiene sin embargo un coeficiente de calidad = 1,47.

Este lignito ha sido estudiado por nosotros (Dorado et al. en prensa) comprobándose que se trata de un material muy rico en materia orgánica (%) pero con un coeficiente de C/N muy elevado por lo cual se puede considerar co - mo un "humus inerte".

En relación con la filtración a través de gel existe

## HUMIFICATION STUDY

también una marcada diferencia entre los suelos naturales y las turbas y lignitos siendo estos últimos los que tienen pesos moleculares mas bajos (vease tabla III). Tenemos que destacar también a este respecto que el humus de los excrementos de lombrícidos, con el coeficiente mayor de calidad de humificación, tiene sin embargo acidos humicos de pesos moleculares bajos.

### Estudio microscopico

En la tabla IV se pueden ver algunas de las propiedades micromorfológicas de los suelos investigados.

#### - Excrementos de lombrícidos

Contextura aséptica aglomeroplasmica. El plasma es pardo (7.5 YR 5/8). Los granos del esqueleto son cuarzo y feldspatos en su mayor parte; la meteorización química escasa. Todo el material forma agregados.

Humus mull (Kubiena, 1.952) de contextura esponjosa muy suelta (kubiena, 1.938) con muy escasos restos vegetales ligeramente humificados.

#### - Muestra de suelo pardo calizo

Contextura aseptica porfirioesquelética con poco plasma. El plasma es pardo amarillento (10 YR 5/8). El esqueleto mineral es muy abundante y esta formado por cuarzo, feldspatos, micas, calcita y caliza secundaria; la meteorización química es escasa. Contiene numerosos microagregados redondeados y angulares de tamaño diferente entre 0,3 mm. el eje mayor y 6 mm. La contextura es muy porosa.

Humus mull de contextura esponjosa muy suelta.

La actividad biológica es intensa; se observan excrementos de lombrices. Escasas hifas de hongos.

#### - Suelo rendziniforme

Contextura aséptica porfirioesquelética; el plasma es pardo (10 YR 4/6). Entre los granos del esqueleto predomina

minan cuarzo y calcita, y hay fragmentos de caliza del material originario; la meteorización química es algo más intensa que en la muestra anterior. Contiene numerosos agregados redondeados y angulares de tamaño comprendido entre 0,20 mm. y 8 mm., que ocasionalmente sobrepasan.

El humus es mull de contextura esponjosa suelta.

La actividad biológica es intensa; se observan excrementos de lombrices. Hay hifas frecuentes y esclerocios.

- Tierra parda meridional

Hay zonas de contextura aséptica porfiroesquelética con muy poco plasma y en otras zonas la contextura es granular; el plasma es pardo (7.5 YR 5/6). El esqueleto mineral está formado por cuarzo, feldespatos, micas y fragmentos de granito y cuarcita; la meteorización química es pequeña. Predominan los agregados redondeados de tamaño entre 0,11 mm. y 1,65 mm. La contextura es porosa y son frecuentes las cavidades interconectadas.

El humus es mull de contextura esponjosa.

Se observan hifas frecuentes y esclerocios (fig. 1A).

- Ranker de Tangel

Hay zonas de contextura aséptica aglomeroplásmica y otras de contextura granular. El plasma es de color pardo (7.5 YR 5/8 - 4/4). El esqueleto mineral está formado por cuarzo, feldespatos, micas y fragmentos de granito; la meteorización química es más acentuada que en las muestras anteriores.

Los agregados están formados por material mineral mezclado con restos de plantas desintegrados, son de 0,05 mm. de tamaño medio cuando están aislados pero se unen con frecuencia (fig. 1B) la M. O. está en parte como pigmento.

Hay cavidades aisladas e interconectadas y escasas grietas de retracción.

El humus es moderadamente mulliforme de contextura aglomerática.

No se observa actividad de lombrices.

## HUMIFICATION STUDY

Fig. 1

- A. - Humus mull. Se observa un esclerocio (S) y parte de un cristal de cuarzo (C). Tierra parda meridional. Corte delgado del hor. A<sub>0</sub> † A<sub>1</sub>.
- B. - Humus tangel. Agregados formados por material mineral y restos de plantas desintegrados. Ranker de Tangel. Corte delgado del hor. A<sub>1</sub>.

### - Horizonte de suelo cultivado

Contextura aséptica porfiriosquelética con plasma calizo-arcilloso abundante de color pardo grisáceo (7.5 YR 6/2). Entre los granos del esqueleto se encuentran en mayor proporción carbonatos, cuarzo, feldespatos y micas junto a fragmentos de caliza.

Hay agregados irregulares y otros subredondeados (fig. 2B), los más pequeños son de 0,14 mm, en general soldados. En los agregados la materia orgánica se encuentra muy descompuesta, como pigmento y en partículas opacas de 3 a 15 el diámetro mayor.

En el horizonte A<sub>p</sub> se observan los cambios usuales en la microestructura debido al labrado.

Humus mull de contextura esponjosa. Se observan esclerocios.

### - Turba y lignito

Las muestras de turba del Padul y lignito son prácticamente orgánicas, sin agregados.

La turba presenta un color variado con predominio del pardo rojizo (2.5 YR 4/8). Humus de turba.

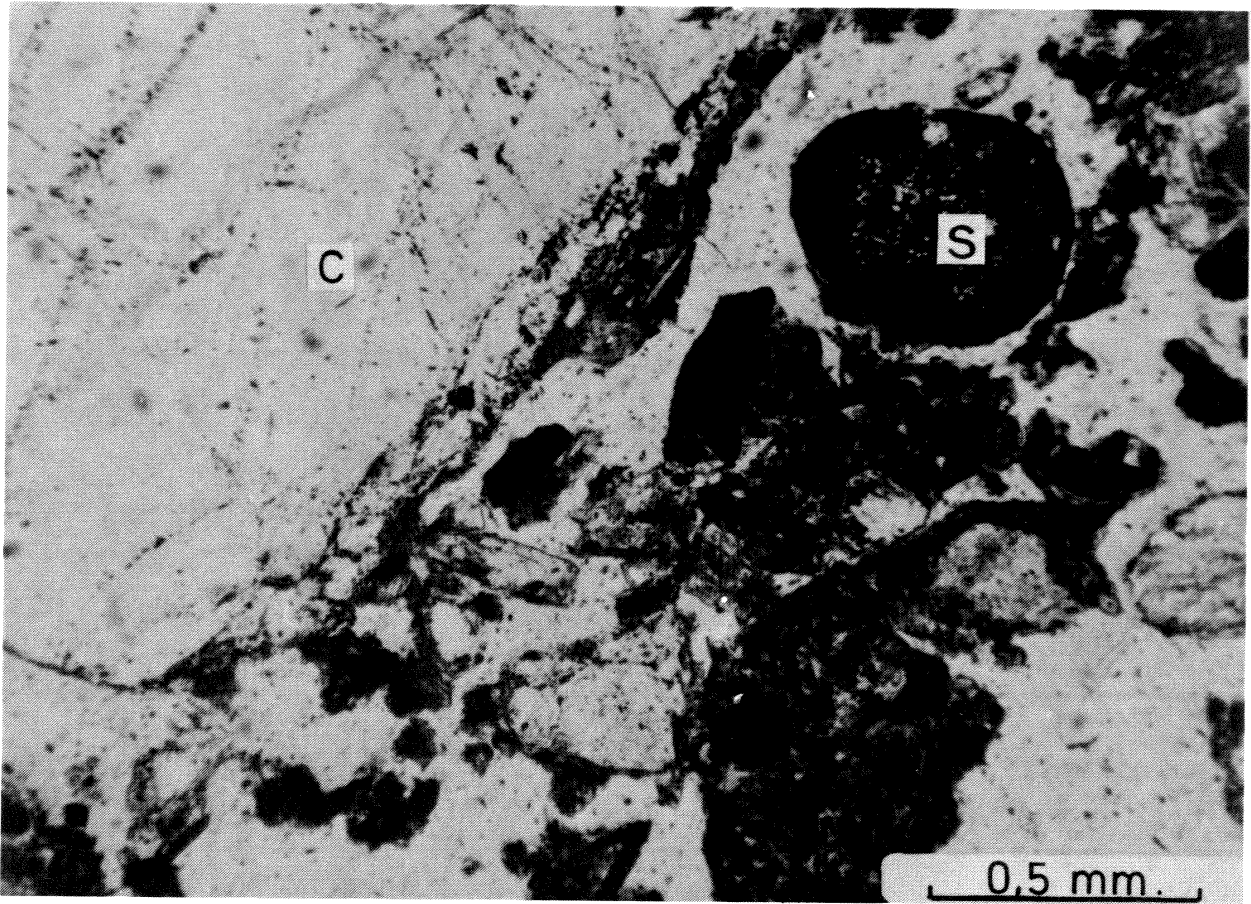
Las grietas de retracción son más abundantes que las cavidades producidas por plantas.

El color varía en el lignito de amarillo anaranjado (7.5 YR 7/8) a pardo rojizo (2.5 YR 4/8).

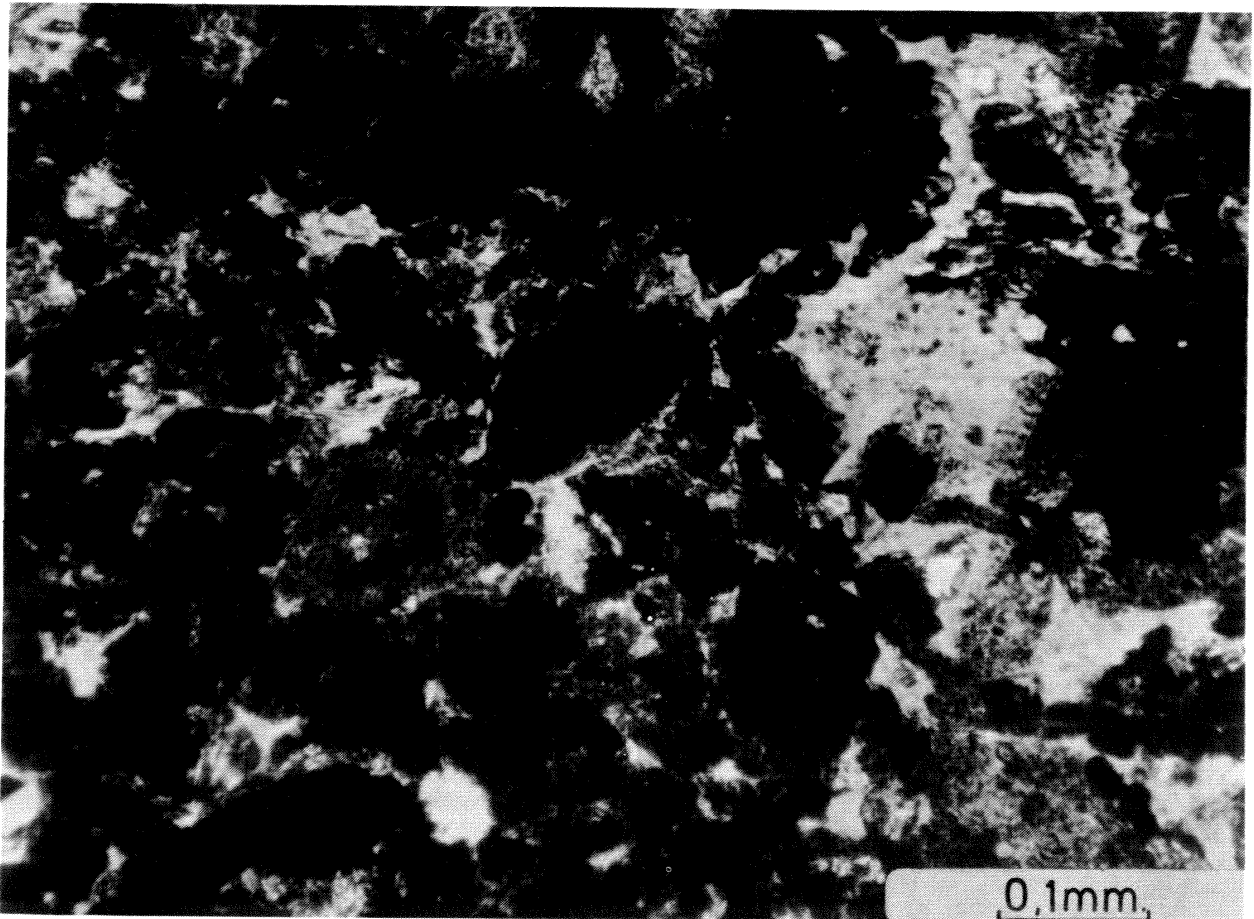
Entre los huecos se encuentran grietas de retracción, algunas con material translocado y cavidades aisladas muy escasas.



Fig. 1



A



B



Tabla I. pH, carbon, C/N y capacidad de cambio ( m.e.q. por 100 g. )

Material	pH	%C	C/N	S	T	%V
Suelo pardo calizo	7,75	10,34	18,8	32	32	100
Suelo rendziniforme	7,6	7,2	16,8	36	39	93
Tierra parda meridional	6,35	3,82	18,14	6,24	16,23	38
Ranker de Tangel	4,45	6,22	15,75	0,96	44	2,15
Suelo cultivado	7,65	1,93	9,65	3,1	31,5	100
Turba de Padul	7	44,6	27,87	12,99	124,67	10,6
Turba de Buyo	4	48	35,5	16,71	134	12,3
Lignito	1	57,1	135,2	40,2	189	22,3
Restos coprógenos Eophyla m.	7,5	5,48	9,76	41,9	41,9	100

HUMIFICATION STUDY

Tabla II. Calidad del humus y grado de humificación

Material	Calidad del humus(Hargitai)		
	$\frac{ENaF}{ENaOH}$	$\frac{\%Ch}{Ex. Humico}$	$K = \frac{ENaF}{ENaOH} \cdot \frac{1}{Ch}$
Restos coprógenos Eophyla m.	3,44	2,44	1,47
Suelo pardo calizo	3,21	2,45	1,31
Suelo rendziniforme	3,06	2,65	1,16
Tierra parda meridional	2,0	1,8	1,10
Banker de tangel	1,14	2,86	0,4
Suelo cultivado	0,15	1,95	0,077
Turba de Padul	0,84	9,92	0,084
Turba de Buyo	0,44	14,5	0,03
Lignito	0,1	61,5	0,016

%A.H.	AH/ AF	Grado de Humificación			
		% Humificación	Kozakiewicz		
			C/N(A)	C/N(B)	$K = \frac{C}{A:B}$
1,45	1,44	98,9	9,76	10,1	5,71
1,53	1,66	91,0	18,8	24,5	3,19
1,76	1,97	95,7	16,8	18,9	2,98
0,75	1,63	91,1	18,4	30,0	2,93
1,94	2,1	97,7	15,75	14,3	2,60
-	-	53,9	9,65	1,9	0,38
5,21	1,0	92,0	27,8	24,8	8,85
9,4	1,8	83,4	35,5	33,0	13,4
55,0	8,4	100	135,2	136,0	62,2

HUMIFICATION STUDY

Tabla III. Fraccionamiento de ácidos húmicos (extraídos con FNA) sobre Sephadex G - 50

Material	% Fracción excluida		
	PM > 10.000; Kav= 0	Kav= 0-0,53	%
Suelo pardo calizo	70,6	0,43	19,1
Rankel de tangel	62,3	-	-
Suelo rendziniforme	42,7	0,44	31,9
Tierra parda meridional	40,6	0,51	31,9
Excrementos lumbrícidos	19,7	0,29	15,6
Turba de Padul	13,4	0,44	22,9
Suelo cultivado	9,8	-	-
Turba de Buyo	7,9	0,53	56,5
Lignito	4,3	-	-



% Fracción retenida

Kav = 0,53-0,90		Kav $\approx$ 1	
	%		%
		1,04	10,3
		1,16	37,7
		0,95	25,4
		1,04	27,5
0,70	21,9	1,04	19,9
0,72	50,5	0,97	36,1
0,7	32,2	1,08	58,0
-	-	1,14	35,6
0,90	42,3	1,08	53,4

HUMIFICATION STUDY

Tabla IV. Algunas propiedades micromorfológicas de los suelo investigados

Material	Suelo			
	Restos veg. ligeram. humificados	Restos veg. humificación avanzada	Granos minerales	Agregados
Excrementos lumbrícidos	0,0	0,0	0,0	100,0
Suelo pardo calizo	5,7	2,6	0,8	56,7
Suelo rendziniforme	1,6	2,0	7,6	50,0
Tierra parda meridional	0,0	2,7	0,4	72,0
Ranker de tangel	5,3	0,9	34,2	49,8
Suelo cultivado	0,5	0,0	0,0	86,2
			<u>Furba de Padul</u>	
Restos veg. ligeram. humificados			2,2	
Restos veg. humificación avanzada			5,8	
Restos veg. muy humificados			62,2	
Huecos			29,8	



Agregados						
Huecos	Restos veg. ligeram. humificados	Restos veg. humificación avanzada	Restos veg. muy humificados	M.O. como pigmento	Granos minerales	Huecos
0,0	0,0	0,65	41,34	21,33	33,34	3,33
34,2	0,7	0,0	24,7	30,7	36,6	7,3
38,8	0,7	4,0	18,0	56,0	21,3	0,0
24,9	0,0	0,0	7,3	16,6	72,7	3,4
9,8	M.O. en parte como pigmento					
13,3	Restos veg. muy humificados y M.O. como pigmento y partículas opacas.					
<hr/>						
<u>Lignito</u>						
0,0						
12,9						
82,7						
4,4						

## HUMIFICATION STUDY

Por métodos micromorfológicos el humus es mull en varias muestras aunque a veces tienen muy escasos restos vegetales ligeramente humificados.

Restos coprógenos de lumbricidos -- Suelo pardo calizo -- Suelo rendzíniforme -- T. parda meridional -- Suelo cultivado.

Este orden es similar a la serie de la calidad de humificación excepto para el suelo cultivado y ranker de Tangel.

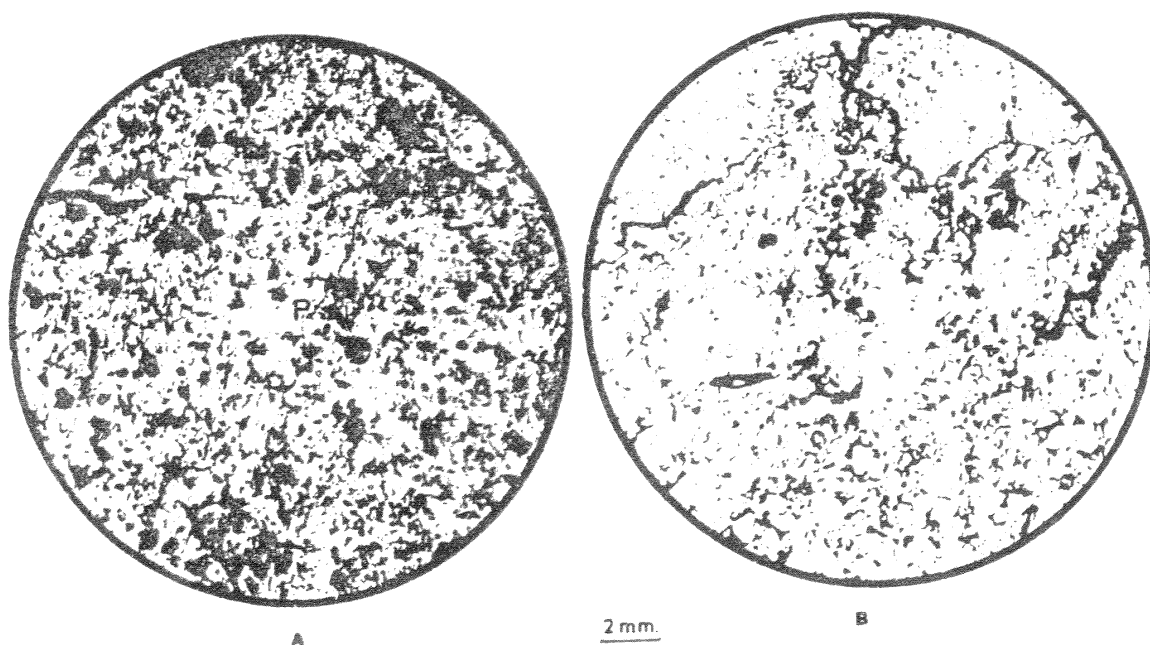


Fig. 2.

Los huecos y minerales están en negro

A. - Se observan grietas de retracción (P) y granos minerales abundantes. Ranker de Tangel. Corte delgado del horizonte A1.

B. - Predominio de cavidades interconectadas y agregados irregulares subredondeados. Suelo cultivado. Corte delgado del horizonte Ap.

El horizonte Ap contiene bloques subangulares y pre

dominio de cavidades interconectadas de 300 - 1.000  $\mu\text{m}$ . El perfil del suelo cultivado muestra una actividad de la edafofauna muy intensa, en el horz. A/C<sub>1</sub> (35 - 75 cm). se encuentran restos coprógenos atribuidos a especies grandes de ácaros oribatidos, microartrópodos y lombrices. En la fig. 2 (A y B) se observan la microestructura del horz. A<sub>1</sub> y del horz. Ap.

El ranker de Tangel contiene más materia orgánica fresca y menos agregados que el suelo cultivado (tabla IV).

De este último no se hace mención en la discusión anterior por creer que la influencia humana es más importante que la biodegradación natural.

A la vista de los resultados creemos que para interpretar y valorar el complejo problema de la biodegradación de la materia orgánica es necesario obtener junto con los porcentajes de humificación, el coeficiente de estabilidad del humus y realizar el estudio micromorfológico. Todos estos análisis se ayudan y complementan.

#### SUMMARY

This work studies the biodegradation process of soil organic substances according to the biological activity, humification percentage (Duchaufour), humification grade (Kozakiewicz) and humus quality in estimating stability coefficient (k) of soil organic substances (Hargitai).

A substantial difference in the biodegradation of organic matter exists between the natural soils and the lignites and peat bog soils.

These soils present an analogy between the biological activity and the humification percentage. The relationship between the humification grade (Kozakiewicz) and the humus quality (Hargitai) is also surprising. Between both peats and lignites no such relationship is existent. Lignites reach their maximum humification but have a lower stability coefficient, such as expected for inert humus.

## HUMIFICATION STUDY

A parallelism exists between the quality of humification (K value) and the micromorphological study in the first four grades of the humification scale : Lumbricidae droppings    Brown calcareous soil    Rendsina-like soil    Meridional Braunerde.

It is difficult to establish a humification scale accurately due to its complex formation.

Therefore to interpret and to evaluate the complex problem of the biodegradation of organic matter it is necessary to establish the humus stability coefficient as well as making the micromorphological study in addition to the humification grade.

### Bibliografía

- Allison, L. E. 1.960. Wet-Combustion Apparatus and Procedure for Organic and Inorganic Carbon in Soil. Soil. Soc. Am. Proc. 24: 36-40.
- Babel, U. 1.965. Die Ansprache von Pflanzenresten im mikroskopischen Präparat von Humusbildungen. Ztschr. Ernähr. Düng. Bodenkunde 109, 1: 17-26.
- Babel, U. 1.975. Micromorphology of Soil Organic Matter. In: Soil Components, 1, Organic Components ed. by J. E. Gieseking. Springer-Verlag. Berlin.
- Brewer, R. 1.964. Fabric and Mineral Analysis of Soils. John Wiley & Sons., Inc. New York, 470 p.
- Bullock, P. 1.974. The micromorphology of soil organic matter - A synthesis of recent research. In: Soil Microscopy ed. by G.K. Rutherford. The Limestone Press. Kingston, Ontario.
- Dabin, B. 1.971. Etude d'une methode d'extraction de la matière humique du sol. Science du sol, 1:47-63.
- Dorado, E. del Rio, J. y Polo, A. 1.973. Acidos húmicos e himatomelánicos de turbas españolas. An. Edaf. Agrobiol., 32: 561-572.

- Dorado, E, Polo, A. ; Arévalo, P. y Villalba, L. Sustancias húmicas y mineralógicas del lignito. Estudios Geológicos (en prensa).
- Duchaufour, Ph. et Jacquin, F. 1.966. Nouvelles recherches sur l'extraction et fractionnement des composés humiques. Bulletin de l'Ecole National Supérieure Agronomique de Nancy, 8. 1: 1-24.
- Duchaufour, Ph. et Jacquin, F. 1.975. Comparaison des processus d'humification dans les principaux types d'humus forestiers. Bulletin de l'Association Française pour l'Etude du Sol, 1: 29-36.
- Hargitai, L. 1.974. A new method for the complex evaluation of the humus quality and the investigations of humification processes. International Congress of Soil Science. I-II, 372-377.
- Higueras, A. 1.967. Methoden und Einrichtungen der Herstellung von Boden-dünnschliffen in der Sektion für Mikromorphologie C. S. I. C., Madrid. In: W. Kubiena. Die mikromorphometrische Bodenanalyse. Ferdinand Enke, Stuttgart, 30-35.
- Jacquin, F. et Mangenot, F. 1.964. Formation de composés de type humique a partir d'extraits aqueux de Melandryum silvestre. C.R.Acad. Sc. Paris, 258, 4607-4610.
- Kononova M.M. , 1.966. Soil organic matter. Oxford. Pergamon.
- Kozakiewicz, A. , 1.962. Charakterystyka substancji organicznej gleb torfowych i torfow torfowisk dolinowych. Roczn. glebozn. XI : 73- 100.
- Kubiena, W.L. 1.938. Micropedology. Collegiate Press , Ames, Iowa, 243 pp.
- Kubiena, W.L. 1.952. Claves sistematicas de suelos. C. S. I. C. Madrid. 388 pp.

## HUMIFICATION STUDY

- Mapa de suelos de España. Escala 1: 1.000.000. Año 1.968. Inst. N. Edaf. Agrobiología. Madrid. 119 pags.
- Ponomavera, V. V. and Nikolayeva, T. A. 1.961. Methods of stuying organic matter in peat-bog soils. Soviet soils Sc. 548-554.
- Revised Standard Soil Color Charts. 1.967. Oyama, M. & Takehara, H.